

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15139

研究課題名(和文) 集団投薬後の伝播再興に着目した不均一なマラリア流行地での伝播ダイナミクスの解明

研究課題名(英文) Analysis of malaria transmission dynamics in heterogeneous transmission settings by focusing on the malaria resurgence after mass drug administration

研究代表者

加賀谷 渉 (KAGAYA, WATARU)

大阪市立大学・大学院医学研究科・病院講師

研究者番号：20782577

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：集団投薬前後の疫学データを用いて現地の地域特性を加味した多変量解析を行い、ヒトの移動に伴った原虫の流入にかかわる危険因子を解析し、年齢、訪問前の出発地が寄与することを明らかにした。また、継続的な現地のマラリア疫学調査からは、2018年からホマベイ郡政府が実施していた室内残留型殺虫剤噴霧(IRS)の一定の効果と、その効果の低い持続性を示唆するデータを得た。IRSが費用、人的リソースを多分に必要とする対策法であることを考えると、IRSの持続可能性は低く、IRS中断後の伝播再興が非常に懸念されるということを示唆するデータである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マラリアは世界三大感染症のひとつとして、その対策が求められている。近年、様々な対策ツールの展開により、世界的にマラリア感染者数の減少が認められ、マラリア撲滅の可能性も議論されるようになってきた。しかしながら地域ごとにこうした対策の効果には差があり、その結果、高度・中度・低度流行地域が混じりあう、不均一なマラリア流行が広がっている。こうした特徴的なマラリア流行の背景因子を理解することは、世界的なマラリア対策をさらに推進させるうえで有益である。また、感染症伝播のひとつのモデルとして、広く感染症対策にも貢献し得る。

研究成果の概要(英文)：Multivariate analysis of epidemiological data before and after mass drug administration, taking into account local regional characteristics, was conducted to analyze the risk factors involved in the influx of malaria parasites associated with human migration, and identified the specific age group and place of departure before the visit as risk factors. Continuous local malaria epidemiological surveys also yielded data suggesting a certain effectiveness of indoor residual insecticide spraying (IRS), which was implemented by the Homa Bay County government starting in 2018, but at the same time a low sustainability of its effectiveness. Given that IRS is a costly and resource-intensive countermeasure, the data suggest that it is not sustainable and that the re-emergence of transmission after IRS interruption is of great concern.

研究分野：寄生虫学

キーワード：マラリア 伝播 分子疫学 ケニア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

不均一なマラリア流行地の伝播様式

マラリアは世界三大感染症のひとつとして、その対策が求められている。近年、薬剤塗布蚊帳や迅速診断法、アルテミシン併用療法といったツールの開発により、世界的にマラリア感染者数の減少が認められ、マラリア撲滅の可能性も議論されるようになってきた。しかしながら地域ごとにこうした対策の効果には差があり、その結果、高度・中度・低度流行地域が混じりあう、不均一なマラリア流行が広がっている。こうした傾向は、長く高度マラリア流行が続いていたサハラ以南アフリカで顕著である。

不均一なマラリア流行地、特に高度流行地と低度流行地が隣り合うような環境では、これまでに一般に想定されてきた均一な流行地とは異なる伝播様式が存在すると考えられる。その一例に、高度流行地がマラリア伝播の“Source(源)”となり、低度流行地はその“Sink(溜まり場)”となるという考え方がある[Ruktanonchai et al. 2016]。こうした環境が存在した場合、低度流行地のマラリア伝播は高度流行地からの原虫流入によって維持されており、流入が途絶するか流入源のマラリア伝播が抑制されれば“Sink”である低度流行地のマラリア伝播も自然に消滅すると考えられ[Churcher et al. 2014]、“Source”を標的とした重点的な対策が波及的效果を生むと予想できる。しかし現時点では概念、数理モデルを用いた仮説の域を出ておらず、複雑な条件が絡むフィールドにおいてどの程度こうしたダイナミクスが働くかは明らかでない。また仮にヒトの移動が盛んであったとしても、マラリア伝播に関与するかどうかは、感染の有無や夜間の行動など様々な要因によって規定される。このように、**不均一なマラリア流行を持つ地域ではユニークなマラリア伝播環が存在すると考えられるものの、そのダイナミクスについてはいまだ明らかでない。**これが本研究課題の核心をなす学術的「問い」となる。

ケニア・ヴィクトリア湖周辺地域の不均一なマラリア伝播

我々の研究チームがフィールドとする、ケニア・ヴィクトリア湖周辺地域は、こうした不均一なマラリア流行を持った地域のひとつである。ヴィクトリア湖はケニアの西側、ウガンダ、タンザニアとの国境に位置する湖であり、周辺地はアフリカの中でも高い流行度をもつ地域とされる。特にケニア側の湖周辺地域は、比較的流行が鈍化してきたケニア内の他地域から際立って高い流行度を持つ。しかしながら、我々の研究グループがこの地域で2012年から2015年に継続して実施した横断的マラリア調査から、高度流行地とされてきた当該地域内にも、湖内の小さい島では低度、大きい島では中程度、内陸部では高度の流行というように、地理的な違いによる流行の不均一性の存在が明らかになった。

ヴィクトリア湖内ンゴデ島における伝播の抑制と再興

我々は、低度流行地であるヴィクトリア湖内ンゴデ島において、2016年1月より600人の全島民を対象に集団投薬(MDA)による介入試験を実施した(論文投稿準備中)。MDAは、アルテミシニン併用療法と低用量プリマキンを治療用量で2日間投与するプロトコルで、35日の間隔で2サイクル実施された。地域住民・医療従事者との協働のもと、重篤な副作用の報告もなく、高い参加率が達成された。マラリア原虫陽性率はMDA直後には顕微鏡検出限界以下まで低下し、短期的なマラリア撲滅の実現可能性が示された。しかしながら半年後にはMDA実施前の水準への再興が認められ、撲滅の維持には至らなかった。

この一度抑制された感染から再び伝播が興り、確立される過程は、当該地域の伝播環の形成過程を模しており、そのダイナミクスを明らかにするうえで非常に有益な現象であるといえる。ンゴデ島が高度流行地に囲まれた低度流行地であることから、この伝播再興には“Source”から

の流入感染者の保有原虫が関与した可能性が考えられる。一方で、MDA 直後にも顕微鏡検出限界以下の感染が 8 例認められたことから、介入対象集団内の MDA によっても死滅しなかった原虫が島内で伝播された可能性も残る。本研究では、介入前から伝播再興、そして確立までの原虫集団を遺伝学的に比較、さらにヒトの移動に関する疫学的データの解析によって、両因子の寄与度を明らかにし、伝播ダイナミクスの理解を目指す。

2. 研究の目的

ンゴデ島での MDA 試験を例に、**原虫集団の遺伝学的解析とヒト移動についての疫学的解析の両面から MDA 後の伝播再興を読み解き、マラリア伝播ダイナミクスの理解を目指す。**

MDA 実施前後の原虫集団を重複感染指数 (Multiplicity of infection; MOI)、集団の多様性といった指標で比較検証し、内部の伝播環と外部からの原虫流入の寄与度を検証する。MDA により原虫集団の大きさが十分に小さくなり、原虫集団が孤立していれば、ボトルネック効果によりマラリア原虫の生存戦略の要ともいえる遺伝的多様性は低くなり、さらなる介入への感受性が高くなると考えられる。あるいは、こうした効果を有意に認めなかった場合には、集団が十分に孤立しておらず、他地域からの感染流入が MDA 後の伝播再興につながった可能性が考えられる。こうした解析は、近年着目される MDA という対策手法の評価にもつながる。MDA の効果を原虫に着目し分子疫学的に解析した研究は驚くほどに少ない。

さらに、ンゴデ島では住民集団によってマラリア移入の定期検査システムが構築されている。これは、MDA 実施の過程でマラリア対策の重要性を理解した地域住民の主導により、島内へ侵入するヒトを対象に、マラリアの迅速診断およびサンプリングを実施し、データを蓄積、必要に応じて治療を実施するというシステムである。本研究ではこうして経時的に得られたデータから、どのような人々がどのような原虫を持ち込んでいるのか、さらに原虫を持ち込む危険因子が存在するか、その解明を試みる。

3. 研究の方法

(1) 分子疫学的解析はこれまでのフィールド調査で得られ、原虫陽性が PCR によって確認された 108 サンプル (MDA 前 = 49 サンプル、MDA 後 = 59 サンプル) を対象として進める。なお、長期的な原虫集団構造変化の観察を目的として、新たに研究期間 1 年目に得られたサンプルについても、原虫陽性が判明し次第検討していく。

重複感染指数の検討

マラリア原虫の感染においては、異なる遺伝子型の原虫が同一の宿主に感染することがある (重複感染)。重複感染は、原虫の多様性を大きくすることに貢献する。また重複感染であった場合には、マイクロサテライトマーカーを組み合わせ、原虫の遺伝子型を決定することが難しくなる。本実験計画では、MDA が重複感染指数 (MOI) に与える影響を検証すると同時に、マイクロサテライト解析に用いる単独感染 (MOI=1) のサンプルを選択することを目的として、*pfmsp1*、*pfmsp2* の遺伝子型を検証する [Snounou et al 1999]。

マイクロサテライトマーカーによる原虫集団の遺伝的多様性の検討

前項の実験において MOI=1 と判定されたサンプルについて、マイクロサテライト解析を行う。解析には [Mulenge et al 2016] において検討された 8 のマイクロサテライトマーカーを用いる。この文献では、ケニア・ヴィクトリア湖周辺地域の異なる島嶼、地域で得られたサンプルを用いて解析を実施しており、本研究においても同一のマーカーを用いることで、ンゴデ島のマラリア原虫集団が近隣のどの島嶼、地域の原虫集団と類似しているかが検証可能になる。

(2) 疫学的解析には、2016 年 1 月の MDA 実施直後から、住民集団によって実施されている

マラリア定期検査のデータ、サンプルセットを用いる。この検査では、島に到着したヒトを無作為に対象として、年齢、性別などの基礎情報、どこから来たか、どのくらいの期間島に滞在する予定か、といった情報、および血液ろ紙サンプルの収集を実施している。この血液サンプルから PCR によってマラリア陽性者を同定し、原虫流入の頻度と原虫を持ち込む危険集団の同定を行う。これまでに我々が当該地域で実施した予備調査では、マラリア感染率の季節変動に加え、ヒト移動度の週内変動が示唆されている。この二つが組み合わさることで、流入頻度の変動がどのようなパターンを示すか明らかにする。さらに、原虫を持ち込む危険集団として、本土の寄宿舍で学び一時帰島する学童や、顕微鏡検出限界以下の感染を持つ漁師などが推定されている。こうした背景情報を基に、島での滞在期間を考慮したうえで年齢、職業、訪問前の出発地といった因子の寄与度を明らかにする。さらに、これらのサンプルについても上記のマイクロサテライト解析を実施することで、その原虫の伝播再興への関与を検討する。

4 . 研究成果

疫学的解析から、ヒトの移動に伴った原虫の流入にかかわる危険因子を解析し、年齢、訪問前の出発地が寄与することを明らかにした。2016 年 1 月の MDA 実施直後から、マラリア流入のモニタリングを目的として、マラリア定期検査が住民集団によって実施されていた。この検査では、島に到着したヒトを無作為に対象として、年齢、性別などの基礎情報、どこから来たか、どのくらいの期間島に滞在する予定か、といった情報、および血液ろ紙サンプルの収集を実施しており、これらのデータ、サンプルセットを用いて、PCR によってマラリア陽性者を同定し、原虫流入の頻度と原虫を持ち込む危険集団の同定を行った。多変量解析によって、学童のなかでも 11-15 歳の年齢群、ならびに隣接する Siaya 郡からの渡航が危険因子として同定された。解析前に現地での観察に基づいた予想していた漁師や、寄宿舍から戻った学童などは有意な危険因子としては見出されなかった。漁師に関しては、夜間にハマダラカの少ない湖上で漁をしているため、感染リスクがかえって低い可能性が考えられた。

Variable		Unadjusted OR	95% CI	P	Adjusted OR	95% CI	p
Gender	Male	1.11	0.65-1.87	0.710			
	Female	1 (ref)					
Age group in years	0-5	5.26	1.59-17.36	0.006	7.63	2.01-28.98	0.003
	6-10	6.37	1.96-20.66	0.002	3.91	0.95-16.13	0.059
	11-15	6.52	2.27-18.74	0.001	9.24	2.72-31.38	<0.001
	16-30	3.41	1.27-9.15	0.015	3.28	1.15-9.35	0.026
	≥31	1 (ref)			1 (ref)		
Resident/Non-resident	Resident	1 (ref)					
	Non-resident	1.45	0.84-2.51	0.182			
Point of departure	Homa Bay	1 (ref)			1 (ref)		
	Siaya	4.35	2.16-8.74	<0.001	4.96	2.36-10.41	<0.001
	Migori	2.83	0.92-8.70	0.069	2.27	0.71-7.30	0.168
	Other counties/nations	2.27	0.58-8.83	0.239	2.92	0.69-12.38	0.145

本研究成果は、集団投薬の経過とともに原著論文にまとめ、査読付き国際誌に投稿、また複数の国際学会において発表した。またこれらの研究成果に基づいて、2020 年日本熱帯医学会研究奨励賞を受賞した。

また、継続的な現地のマラリア疫学調査からは、2018 年からホマベイ郡政府が実施していた

室内残留型殺虫剤噴霧(IRS)の一定の効果と、その効果の低い持続性を示唆するデータを得た。2018年から継続してIRSが実施されていた内陸部では、PCRで50%の感染率が10%程度まで顕著に減少していることが確認された一方、IRSが2018年のみで中断されたMfangano島においては、IRS中断後の明確な伝播再興が確認された。Case-control testとしてのデータのみではあるものの、IRSが費用、人的リソースを多分に必要とする対策法であることを考えると、IRSの持続可能性は低く、IRS中断後の伝播再興が非常に懸念されるということを示唆するデータであるといえる。今後、伝播再興の危険性も見据え、原虫の遺伝子型を比較することで下記の集団投薬によるインパクト同様のモニタリングを検討していく。特にIRSは媒介蚊を標的とし、原虫に直接の作用を及ぼさないことから、集団投薬とは異なる結果が予想される。

分子疫学的解析の面では、ケニア・ヴィクトリア湖内のNgodhe島における集団投薬の前後のフィールドサンプル、および集団投薬中にNgodhe島へ流入したサンプルを対象として、熱帯熱マラリア原虫の多型遺伝子pfmsp1, pfmsp2による遺伝子型判定を実施した。集団投薬前後では、重複感染指数(MOI: multiplicity of infection)には有意な変化は認めず、集団投薬および同時期に実施された殺虫剤処理蚊帳の再配布には、伝播強度抑制の効果はなかったことが示唆された。一方で、pfmsp1の3つのallele family frequencyについては、集団投薬前(K1:MAD20:RO33=44:34:21)と集団投薬後(K1:MAD20:RO33=65:13:22)の比較において有意な変化が認められた($p=0.004$)。さらに、集団投薬中に外部から対象地へ訪れた集団から得られたサンプルでのpfmsp1のallele family frequencyは、集団投薬後のサンプルのallele family frequencyとほぼ同様であった。今後、MOI=1と判定されたサンプルを中心に、マイクロサテライト等の中立的遺伝子マーカーを用いて、集団投薬後の伝播再興に、投薬後の残存原虫に由来する感染拡大と外からの感染流入がどのように寄与しているか検証を続けていく。現在、ロンドン公衆衛生熱帯医学校において共同研究として全ゲノムシーケンス解析を開始しており、得られたデータから別事業においてマイクロサテライト解析を展開していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kagaya Wataru, Gitaka Jesse, Chan Chim W., Kongere James, Md Idris Zulkarnain, Deng Changsheng, Kaneko Akira	4. 巻 9
2. 論文標題 Malaria resurgence after significant reduction by mass drug administration on Ngodhe Island, Kenya	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19060
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-55437-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 岡井孝諭、Chim Chan、加賀谷渉、James Kongere、Jesse Gitaka、金子明
2. 発表標題 集団投薬後のマラリア伝播再興に対する原虫集団の遺伝学的解析
3. 学会等名 第27回分子寄生虫学ワークショップ/ 第17回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wataru Kagaya, Chim W. Chan, Takatsugu Okai, Jesse Gitaka, James Kongere, Akira Kaneko
2. 発表標題 Malaria importation and resurgence after mass drug administration on Ngodhe Island, Kenya
3. 学会等名 Protein Island Matsuyama 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加賀谷渉、Chim Chan、岡井孝諭、James Kongere、Jesse Gitaka、金子明
2. 発表標題 不均一なマラリア流行地における集団投薬の展開可能性
3. 学会等名 第60回日本熱帯医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wataru Kagaya, Aya Konishi, Kyoko Kurihara, Chim Chan, Jesse Gitaka, James Kongere, Kinya Uchihashi, Gordon Okomo, Akira Kaneko
2. 発表標題 The impact of indoor residual spraying for malaria prevalence in Homa Bay County, Kenya: an observational study
3. 学会等名 American Society of Tropical Medicine and Hygiene 68th annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wataru Kagaya, Chim W. Chan, Takatsugu Okai, Jesse Gitaka, James Kongere, Akira Kaneko
2. 発表標題 Genotyping of Plasmodium falciparum msp-1 and msp-2 before and after mass drug administration on Ngodhe Island, Kenya
3. 学会等名 The 50th US Japan parasitology meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Wataru Kagaya, Chim Chan, Jesse Gitaka, James Kongere, Zulkarnain Md Idris, Changsheng Deng, Akira Kaneko
2. 発表標題 Malaria importation and resurgence after elimination by mass drug administration on Ngodhe Island in Lake Victoria, Kenya
3. 学会等名 7th Multilateral Initiative on Malaria Pan African Malaria Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Wataru Kagaya, Chim W. Chan, Takeshi Utsunomiya, Jesse Gitaka, James Kongere, Zulkarnain Md Idris, Changsheng Deng, Akira Kaneko
2. 発表標題 Malaria importation and resurgence after elimination by mass drug administration on Ngodhe Island
3. 学会等名 14th International congress of parasitology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川達、仁田原彩、吉田真未、James Kongere、加賀谷渉、城戸康年、金子明
2. 発表標題 ケニア・ヴィクトリア湖周辺地域におけるマラリア感染率の低下
3. 学会等名 第88回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

2020年日本熱帯医学会研究奨励賞

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
	ケニア	マウントケニア大学	ホマベイ郡政府