

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2014～2017

課題番号：26257504

研究課題名(和文) ビクトリア湖島嶼マラリア撲滅：プリマキン使用による集団治療とヒト・原虫多様性

研究課題名(英文) Malaria elimination on the islands in Lake Victoria: mass drug administration with primaquine and the diversity of human and parasites

研究代表者

金子 明 (Kaneko, Akira)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：60169563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は研究期間を通じた横断的マラリア調査により、ケニア・ビクトリア湖周辺地域でのマラリア感染の非均一性を明らかにした。さらに感染の多くは無症候性でかつ顕微鏡検出限界以下であることを示した。これは、集団投薬とともに地域特性に基づいた対策の必要性を裏付けるものである。さらにNgodhe島における集団投薬の介入試験から、中～高度流行地に囲まれた低度流行地における持続的なマラリア撲滅のためには、外からの原虫移入および媒介蚊への対策強化による伝播抑制が必要であることを明らかにした。本研究により、不均一に高度マラリア流行地が残存するサハラ以南アフリカでのマラリア対策を進めるうえで鍵となる知見が提示された。

研究成果の概要(英文)：Our malarionometric survey throughout the granted period revealed the heterogeneity of malaria transmission in Lake Victoria basin. Furthermore most of the infection are asymptomatic and submicroscopic, supporting the importance of mass drug administration (MDA) and the strategy based on eco-epidemiological background. The MDA trial on Ngodhe Island showed that management of imported cases and strengthened vector control are necessary for sustainable malaria elimination in low transmission settings surrounded by middle to high transmission settings. This study provides the key information for malaria control program in sub-Saharan Africa where still suffer from high burden of malaria.

研究分野：マラリア学

キーワード：マラリア プリマキン 集団投薬 CYP2D6 ケニア 熱帯熱マラリア G6PD欠損症 マラリア撲滅

1. 研究開始当初の背景

(1) Global malaria eradication: 2000 ~ 2015 年のミレニアム開発目標下においてマラリア対策資金は激増し、世界のマラリア死亡者数は減少に転じた。しかし、依然年間 50 万弱の死亡例があり、その 90% はアフリカ、特に 5 歳以下の小児である [WHO, 2017]。近年対策資金も頭打ちとなり、2015 年から始まった持続可能な開発目標にある「2030 年までのマラリア流行終焉」への道筋は見えていない。

(2) 集団治療による島嶼マラリア撲滅：我々は、1991 年以来、オセアニア・ヴァヌアツのアネイチウム島において 700 人の全人口を対象として、住民のクロロキンとプリマキンを中心とした集団治療 (MDA) と ITN によるマラリア撲滅可能性研究を展開し、住民主導の活動が確保されればマラリア撲滅は可能であり、達成された "malaria freedom" が長期間維持されることを示してきた [1, 2]。我々はこの島嶼マラリア撲滅戦略をケニア・ヴィクトリア湖高度マラリア流行島嶼への応用を本研究において試みる。ケニアにおいては今般のアルテミシニン併用療法 (ACT)、長期残留殺虫剤処理蚊帳 (LLIN)、迅速診断法 (RDT) などの新たな対策法の展開加速が、国レベルでのマラリア感染率低下をもたらした。しかし同様な展開加速にも関わらず、ヴィクトリア湖畔では依然として高度マラリア流行が残存している [Noor et al., 2009]。

(3) 薬剤耐性マラリア原虫の蔓延とアルテミシニンの出現：マラリア化学療法には、これまでクロロキンが使用されてきたが薬剤耐性の出現のために、もはや効果的ではない。薬剤耐性マラリア原虫の蔓延は地球規模のマラリア対策における重大な問題である。ACT はこの状況を打開するための強力なツールとして出現してきた。アルテミシニンはマラリア治療において著しく早い反応性を示す。ヒトにおける重篤な副作用は事実上認められない。近年 Li はアルテミシニンと少量プリマキンの相乗作用をもたらす抗生殖母体効果による伝播阻止を目指した流行地住民の集団治療による迅速マラリア撲滅処方 (FEMSE) を提唱している。本研究においては、Li の提唱する地域のマラリア撲滅を目指した ACT による FEMSE プロトコルを応用する。なお最近カンボジアにおける熱帯熱マラリア治療においてアルテミシニン耐性が示唆されており、有効な耐性株拡散防止策を樹立する必要がある。

2. 研究の目的

本研究はヴィクトリア湖島嶼マラリア根絶という対策実施研究を中心課題にして、そこに至る過程として以下にあげる周辺研究課題を様々な専門分野の研究者の協力により明らかにしていく。

1) 島嶼マラリア撲滅：アルテミシニンとプリマキンによる集団治療による伝播阻止の

島嶼住民集団における短期的効果および住民主導の長期的媒介蚊対策およびサーベイランス維持による熱帯アフリカにおける持続的マラリア撲滅可能性の検討

2) アルテミシニンの臨床薬理：無症候性マラリア感染者におけるアルテミシニンとプリマキンによる抗熱帯熱マラリア生殖母体効果。アルテミシニンとピペラキン投与後薬物動態学的研究

3) 分子疫学：ヴィクトリア湖島嶼地域間の人・原虫・媒介蚊集団の移動と遺伝学的多型および集団治療後の動態、原虫集団薬剤耐性マーカーの集団治療後の変動

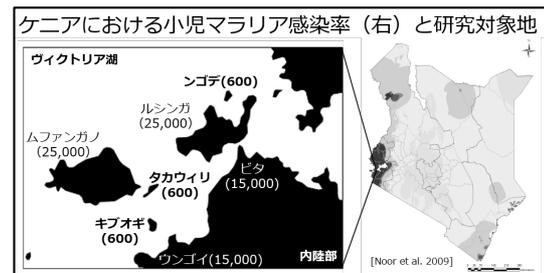
4) 血清疫学：島嶼集団のマラリア原虫抗原に対する年齢群別抗体陽性率と集団治療による変化

6) 赤血球異常症：島嶼集団住民におけるマラリア流行による G6PD 欠損症、タラセミアおよび鎌状赤血球症選択の検討。特に G6PD 欠損症とプリマキン安全性

7) 開発：島嶼におけるマラリア流行・撲滅の社会経済学的背景

3. 研究の方法

本研究は、研究対象ケニア・ヴィクトリア湖高度マラリア流行島嶼モデルにおいて、住民主導による集約的干渉 (短期的集団治療と媒介蚊対策) によりマラリア撲滅が達成しうるか？さらにその状態がサーベイランスと長期的媒介蚊対策により維持しうるか？検証することを目的とする。実際の干渉研究にいたる過程として以下 11 段階で流行地と実験室を結んで日中瑞およびケニアの共同で研究を推進する。



(1) マラリア感染率調査：4 島嶼 (オコデ、タカウリ、キプオギ、およびムファンガン) および内陸湖畔のウンゴイ集落を調査対象とし、それらの住民集団におけるマラリア感染の変動・動態を地理的、年齢群別、季節的、年次的に把握する。これらのデータは干渉研究実施に際しての重要な基礎データとなる。

(2) 原虫薬剤耐性：集団治療実施が熱帯熱マラリア原虫薬剤感受性を変化させるかモニターしていく。

(3) 赤血球異常症：集団治療において伝播阻止のために抗熱帯熱マラリア生殖母体薬として primaquine を使用する。赤血球酵素異常症の G6PD 欠損症者では、primaquine 使用により血管内溶血を起こすことがある一方、マラリア感染に対してある種の抵抗性が

あるため balanced polymorphism が成立している（マラリア仮説）。予備調査では研究対象地域で7-15%のG6PD欠損症が見いだされている。

(4) 血清疫学：熱帯熱マラリア原虫に対する特異的 IgG 抗体の年齢群別陽性率を集団治療の実施の前後で継続的にモニターしていく。

(5) 臨床薬剤投与試験：干渉研究における集団投薬で使用する artemisinin + piperazine + 少量 primaquine (APP) および artemisinin + 少量 primaquine (AP) の組み合わせ投薬についてその抗生殖母体効果および安全性（特に G6PD 欠損症例における）を検討する目的で臨床投薬試験を mosquito membrane feeding と組み合わせて行う。

(6) マラリア伝播モデル：上記疫学的調査・研究より得た研究対象地のデータにより、干渉実施前にマラリア伝播モデルにより集団治療および薬剤処理蚊帳による効果について検討する。

(7) 短期的マラリア撲滅干渉研究：第1段階としてはオコデ島（人口千人）を対象として住民主導による短期集約的集団治療と媒介蚊対策によりマラリア撲滅を目指す。集団治療は中国広州の Prof. Li の提唱する迅速マラリア撲滅処方 (FEMSE) に従う。また人および原虫の島間および島内移動を制御するためのサーベイランス・AP 剤投薬システムを構築する。

(8) 住民主導による長期的マラリア撲滅維持：オコデ島において住民主導の殺虫剤処理蚊帳使用と外来および発熱者サーベイランスによりマラリア撲滅長期的維持システムを構築していく。

(9) 社会経済学的インパクト：上記の過程で、マラリア撲滅の社会経済学的開発に与えるインパクトについて評価していく。

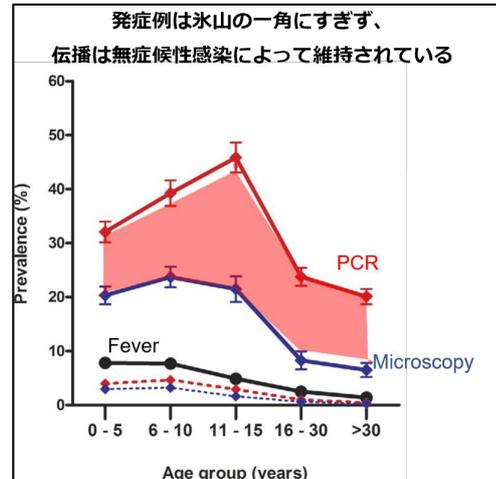
(10) Feasibility study: これらの結果を総括し、島嶼マラリア撲滅戦略を第2段階としてムファンガノ島（人口2万5千人）に応用を試みるための feasibility study を予定する。

(11) 熱帯アフリカマラリア撲滅への提言：究極的に熱帯アフリカ高度マラリア流行地におけるマラリア撲滅モデルを国際社会へ提示し、地球規模マラリア根絶に向けたイニシアチブをとるための国際ワークショップを提言する。

4. 研究成果

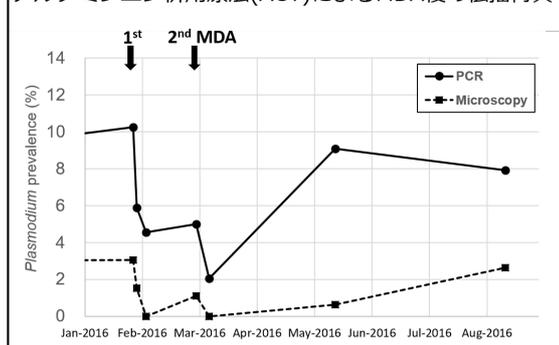
(1) 2012年以來、6回にわたって対象島嶼・地域において実施してきた横断的マラリア調査では、原虫陽性率は11~15歳で最高値を示し、高年齢群ほど低い傾向にあった。また感染の多くは無症候性でかつ顕微鏡検出限界以下であることを示した。これらの感染者は保健医療施設を受診することはなく、全年齢、全住民を対象としたMDAの必要性を裏付けるものである。総じて原虫陽性率は内陸

部で最も高く、小島では低く、大きな島ではそれらの中間であった。



(2) 2016年1~3月には対象域内に位置する Ngodhe 島において、全住民を対象とした集団投薬 (MDA) による介入試験を開始した。Ngodhe 島において、Round 1 は6日間かけて行われ、計149世帯、579人を登録した。うち84名はRound 1期間中、島外に滞在していた。それらを除いた495名中1名は所在が確認できなかった。また35名は数回の話し合いにもかかわらず服薬を拒否した。残りの459名がMDAに参加し、うち442名は2日間の投薬を完遂した (89.5%)。なおすべての投薬はDOT方式で行われた。副作用としては重篤なものはなかった。追跡調査は、5月 (介入実施約120日後) 8月 (約210日後) 平成29年1月 (1年後) の計3回行った。2016年1月初めに3%程度であった顕微鏡感染率は、2ラウンドのMDAにより0%となった。PCRによる感染率は10%から2%まで低下した。5月の顕微鏡感染率は1%程度であったが、PCRではMDAの実施前と同程度である9.5%まで再上昇がみられた。8月のPCR感染率は8%と横ばいであったが、顕微鏡感染率は2.5%であった。以上によって、中~高度流行地に囲まれた低度流行地においてもMDAによるマラリア撲滅は可能であるが、持続的な撲滅のためには外からの原虫移入、および媒介蚊対策の強化による伝播抑制が必要であることが明らかとなった。

アルテミシニン併用療法 (ACT) によるMDA後の伝播再興



(3) 熱帯熱マラリア原虫アルテミシニン耐

性モニタリング: ケニアのヴィクトリア湖の島々 (Kibuogi, Ngodhe, Takawiri 及び Mfangano 島) 及び湖畔の集落 (Ungoye) で、マラリアの分子疫学調査を 2012-2013 年にかけて展開し、同時期に収集したサンプルを retrospective に解析した。この解析では 539 サンプルの K13-propeller 遺伝子の塩基配列を同定することに成功し、4 種類の非同義置換と 5 種類の同義置換を確認することができた。これらの変異は 5 か所の調査地域で共有されるものは認められなかったが、Mfangano 島で認められた A578S 変異は同地域で半年の時間的解離を認める複数のサンプルで確認できた。

(4) 核酸クロマトグラフィーを用いて二日熱マラリアを含めた 5 種のマラリア原虫診断法を新たに開発した。

(5) 末端保健施設で展開可能な、より簡便なアクリジンオレンジ法の改良によるマラリア診断法を開発した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 20 件)

Kimura M, Teramoto I, Chan CW, Idris ZM, Kongere J, Kagaya W, Kawamoto F, Asada R, Isozumi R, Kaneko A. Improvement of malaria diagnostic system based on acridine orange staining. *Malar J*. 2018 Feb 7;17(1):72-77. doi: 10.1186/s12936-018-2214-8. 査読有

Saito T, Kikuchi A, Kaneko A, Isozumi R, Teramoto I, Kimura M, Hirasawa N, Hiratsuka M. Rapid and sensitive multiplex single-tube nested PCR for the identification of five human *Plasmodium* species. *Parasitol Int*. 2018 Jun;67(3):277-283. Epub 2018 Jan 31. doi.org/10.1016/j.parint.2018.01.005 査読有

Idris Zulkarnain Md, Chan Chim W., Kongere James, Hall Tom, Logedi John, Gitaka Jesse, Drakeley Chris, Kaneko Akira. Naturally acquired antibody response to *Plasmodium falciparum* describes heterogeneity in transmission on islands in Lake Victoria. *Sci Rep*. 2017 Aug 22;7(1):9123-9135. doi: 10.1038/s41598-017-09585-4. 査読有

Idris ZM, Chan CW, Mohammed M, Kalkoa M, Taleo G, Junker K, Arc? Bruno, Drakeley C, Kaneko A. Serological measures to assess the efficacy of malaria control programme on Ambae Island, Vanuatu. *Parasit Vectors*. 2017 Apr 26;10(1):204-215. doi: 10.1186/s13071-017-2139-z. 査読有

Yamar S, Taleo G, Isozumi R, Fukui M, Aoyama F, Pomer A, Dancause KN, Kaneko A. Surveillance for malaria outbreak on malaria-eliminating islands in Tafea Province, Vanuatu after Tropical Cyclone Pam in 2015. *Epidemiol Infect*. 2017 Jan;145(1):41-45. Epub 2016 Sep 9. PMID: 27609054 doi: 10.1017/S0950268816002041. 査読有

加賀谷 涉, 金子 明. 人類はマラリアを根絶できるか - 島嶼からの挑戦 -. *医学のあゆみ*. 2016 256 巻 1229-1240. 査読無し

Mulenge FM, Hunja CW, Magiri E, Culleton R, Kaneko A, Aman RA. Genetic Diversity and Population Structure of *Plasmodium falciparum* in Lake Victoria Islands, A Region of Intense Transmission. *Am J Trop Med Hyg*. 2016 Nov 2;95(5):1077-1085. PMID: 27601522. PMCID: PMC5094220. DOI: 10.4269 Epub 2016 Sep 6. 査読有

Idris ZM, Chan CW, Kongere J, Gitaka J, Logedi J, Omar A, Obonyo C, Machini BK, Isozumi R, Teramoto I, Kimura M, Kaneko A. High and Heterogeneous Prevalence of Asymptomatic and Sub-microscopic Malaria Infections on Islands in Lake Victoria, Kenya. *Sci Rep*. 2016 Nov 14;6:36958. doi: 10.1038/srep36958. 査読有

Gitaka JN, Takeda M, Kimura M, Idris ZM, Chan CW, Kongere J, Yahata K, Muregi FW, Ichinose Y, Kaneko A, Kaneko O. Selections, frameshift mutations, and copy number variation detected on the surf_{4.1} gene in the western Kenyan *Plasmodium falciparum* population. *Malar J*. 2017 Mar 2;16(1):98. doi: 10.1186/s12936-017-1743-x. 査読有

Thriemer K, Kaneko A (49 番目 / 67 人中), et al. Challenges for achieving safe and effective radical cure of *Plasmodium vivax*: a round table discussion of the AP MEN Vivax Working Group. *Malar J*. 2017 Apr 5;16(1):141. doi: 10.1186/s12936-017-1784-1. 査読有

Olszowy KM, Sun C, Silverman H, Pomer A, Dancause KN, Chan CW, Lee G, Tarivonda L, Kaneko A, Weitz C, Koji Lum J, Garruto RM. Secular change in adult stature associated with modernization in Vanuatu. *Am J Hum Biol*. 2017 Sep 10;29(5). doi: 10.1002/ajhb.23008. Epub 2017 Apr 14.

査読有

Idris ZM, Chan CW, Mohammed M, Kalkoa M, Taleo G, Junker K, Arcà B, Drakeley C, Kaneko A. Serological measures to assess the efficacy of malaria control programme on Ambae Island, Vanuatu. *Parasit Vectors*. 2017 Apr 26;10(1):204. doi: 10.1186/s13071-017-2139-z. 査読有

Watanabe N, Kaneko A, Yamar S, Taleo G, Tanihata T, Lum JK, Larson PS, Shearer NBC. A prescription for sustaining community engagement in malaria elimination on Aneityum Island, Vanuatu: an application of Health Empowerment Theory. *Malar J*. 2015 Jul 31;14:291. doi: 10.1186/s12936-015-0779-z. 査読有

Isozumi R, Fukui M, Kaneko A, Chan CW, Kawamoto F, Kimura M. Improved detection of malaria cases in island settings of Vanuatu and Kenya by PCR that targets the Plasmodium mitochondrial cytochrome c oxidase III (cox3) gene. *Parasitol Int*. 2015 Jun;64(3):304-8. doi: 10.1016/j.parint.2014.09.006. Epub 2014 Sep 22. 査読有

Mita T, Culleton R, Takahashi N, Nakamura M, Tsukahara T, Hunja CW, Win ZZ, Htike WW, Marma AS, Dysoley L, Ndounga M, Dzodzomenyo M, Akhwale WS, Kobayashi J, Uemura H, Kaneko A, Hombhanje F, Ferreira MU, Björkman A, Endo H, Ohashi J. Little Polymorphism at the K13 Propeller Locus in Worldwide Plasmodium falciparum Populations Prior to the Introduction of Artemisinin Combination Therapies. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 May 23;60(6):3340-7. doi: 10.1128/AAC.02370-15. Print 2016 Jun. 査読有

Tachibana M, Suwanabun N, Kaneko O, Iriko H, Otsuki H, Sattabongkot J, Kaneko A, Herrera S, Torii M, Tsuboi T. Plasmodium vivax gametocyte proteins, Pvs48/45 and Pvs47, induce transmission-reducing antibodies by DNA immunization. *Vaccine*. 2015 Apr 15;33(16):1901-8. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.03.008. Epub 2015 Mar 10. 査読有

Chan CW, Sakihama N, Tachibana S, Idris ZM, Lum JK, Tanabe K, Kaneko A. Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum at the crossroads of exchange among islands in Vanuatu: implications for malaria

elimination strategies. *PLoS One*. 2015 Mar 20;10(3):e0119475. doi: 10.1371/journal.pone.0119475. eCollection 2015. 査読有

Isozumi R, Uemura H, Kimata I, Ichinose Y, Logedi J, Omar AH, Kaneko A. Novel mutations in K13 propeller gene of artemisinin-resistant Plasmodium falciparum. *Emerg Infect Dis*. 2015 Mar;21(3):490-2. doi: 10.3201/eid2103.140898. 査読有

Watanabe N, Kaneko A, Yamar S, Leodoro H, Taleo G, Tanihata T, Lum JK, Larson PS. Determinants of the use of insecticide-treated bed nets on islands of pre- and post-malaria elimination: an application of the health belief model in Vanuatu. *Malar J*. 2014 Nov 20;13:441. doi: 10.1186/1475-2875-13-441. 査読有

Jovel IT, Ferreira PE, Veiga MI, Malmberg M, Mårtensson A, Kaneko A, Zakeri S, Murillo C, Nosten F, Björkman A, Ursing J. Single nucleotide polymorphisms in Plasmodium falciparum V type H(+) pyrophosphatase gene (pfvp2) and their associations with pfprt and pfmdr1 polymorphisms. *Infect Genet Evol*. 2014 Jun;24:111-5. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.004. Epub 2014 Mar 20. 査読有

〔学会発表〕(計 17 件)

加賀谷 渉. 不均一なマラリア流行地におけるマラリア感染流入に関わる危険集団の同定. 第 87 回日本寄生虫学会大会, 2018 年

金子 明. Age-dependently acquired antibody response to Plasmodium falciparum describes transmission heterogeneity in the Lake Victoria basin, Kenya. 第 87 回日本寄生虫学会大会, 2018 年

金子 明. Overview of Africa Taskforce. 日経アジア感染症会議 2018 年

Kaneko A. Naturally acquired antibody response to Plasmodium falciparum describes heterogeneity in transmission on islands in Lake Victoria. The ASTMH 66th Annual Meeting, 2017 年

Kagaya W. The impact of mass drug administration on submicroscopic malaria infection: A pilot study on Ngodhe island in Lake Victoria, Kenya. The ASTMH 66th Annual Meeting, 2017 年

加賀谷 渉. ケニア・ヴィクトリア湖周

辺地域におけるマラリア対策戦略の開発. 海外学術調査フォーラム, 2017年
Kaneko A. Mass drug administration to eliminate malaria on islands. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP), 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases(EID) in the Pacific Rim(招待講演), 2017年

金子 明. マラリアを根絶できるか - 島嶼からの挑戦 -, 第 57 回日本熱帯医学会大会(招待講演), 2016年

金子 明. ケニア・ビクトリア湖島嶼における高度かつ不均一な無症候性マラリア感染率-撲滅戦略構築への意味合い, 第 72 回日本寄生虫学会西日本支部大会, 2016年

Kagaya W. Mass drug administration to eliminate malaria on Ngodhe Island in Lake Victoria, Kenya: a pilot study. RSTMH Biennial Meeting - Challenges in Disease Elimination, 2016年

Kaneko A. Sustainability of malaria elimination on Aneityum island, Vanuatu, 1991-2015. RSTMH Biennial Meeting - Challenges in Disease Elimination, 2016年

金子 明, Idris ZM, Chan CW, 五十樓理恵, 寺本勲, 木村政継. Mass Drug administration targets high prevalence of asymptomatic and submicroscopic malaria infections in the Lake Victoria region of Kenya. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 2016年
木村政継, 寺本勲, Chan CW, 川本文彦, 朝田良子, 金子 明. LED 光源を用いた改良 A0 染色法によるマラリア迅速診断. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 2016年

金子 明. 熱帯アフリカのマラリア根絶は可能か - 集団投薬の役割. 第 56 回日本熱帯医学会大会, 2015年

Kaneko A. Sustainable malaria elimination on Aneityum Island, Vanuatu, 1991-2014. The Third Nordic Malaria Conference, 2015年

Kaneko A. MDA for malaria elimination in Aneityum Island, Vanuatu. WHO Evidence Review Group on Mass Drug Administration(MDA), Mass Screening Treatment(MSAT) and Focused Screening and Treatment(FSAT), 2015年

Kaneko A. Sustainable malaria elimination on Aneityum Island, Vanuatu, 1991 -2014. American Society of Tropical Medicine and Hygiene 63rd Annual Meeting, 2014年

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金子 明 (KANEKO, Akira)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 60169563

(2) 研究分担者

五十樓 理恵 (ISOZUMI, Rie)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 30550355

脇村 孝平 (WAKIMURA, Kohei)

大阪市立大学・大学院経済学研究科・教授
研究者番号: 30230931

皆川 昇 (MINAKAWA, Noboru)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授
研究者番号: 00363432

金子 修 (KANEKO, Osamu)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授
研究者番号: 50325370

平山 謙二 (HIRAYAMA, Kenji)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授
研究者番号: 60189868

平塚 真弘 (HIRATSUKA, Masahiro)

東北大学・薬学研究科・准教授
研究者番号: 50282140