

熱帯地渡航におけるマラリア対策

第4回

基礎編（2）マラリア原虫の寄生生物学

田 中 真奈実

熱帯林業への掲載も4回となり、号を重ねるうちに、季節が一巡した。この間、農学・林学・人類学等多数の研究チームが熱帯地へと出張したが、幸い、筆者が知るプロジェクトでは全くマラリア感染者は出ず、うれしい限りである。「熱帯林業」編集担当を始めとする関係諸氏の理解と努力がこうも早く実を結ぶとは、と感慨深くもあり、同時に、山口大学教授・小林央往先生のような犠牲を出さずにここまで来られたら、と反省の念も大きい。

今回は、前回に引き続き、基礎生物学を紹介しようと思うが、その前に、現在のトピックス、病原性大腸菌の医療・行政対応をマラリアのそれと比較して、マラリア感染における個人健康管理の重要性を強調しておきたい。

マラリア対策と病原性大腸菌対策の差

6~8月は、毎年食中毒多発の時期であり、蚊の多発する雨季にマラリアが多発する如くであるから、どこの医院でも驚くことはない。しかし、今回のO-157感染に対する行政・医療現場の対応を見ると、全国規模の監視体制が逸早くひかれ、感染（可能）者の数が桁違いに大きいかに改めて気付かされる。

細部においては、まだまだ不備が多いとされながらも、国レベルでのマスコミ・各種広報機関を網羅した日常的防御法の徹底指導、医療機関の整備、研究班の拡充、どれをとってもさすが世界の先進国と思わせる対応ぶりである。また、厚生省を中心に、このような危機的状況に対応すべき機関を、トップは国立研究所から、地方衛生研究所、さらには患者の家庭に密着できる保健所まできめ細かく動員し、問題点をすばやくクローズアップし、時々刻々その体制が完全なものへと進展していく。他の（先進）諸国と比べて、この国を揚げての

TANAKA, Manami : Health Care in Tropics : Prevention and Treatment of Malaria (4)

筑波大学基礎医学系

対応の義務感というものに大きな差があり、個人管理が中心の欧米各国とはかなりの精神的隔たりを感じる。

研究者として見れば、国立研究所（国研）というものは、こういう国民の総意に基づく有用な研究こそすべきところ、というのが日本人の発想であるのだろうという思いが強く、逆の作用として、他力本願で何もなければ個人で知識を得る必要はないのか、という疑問が生じてくる。

現在は、O-157とエイズで手一杯の厚生省も、平成5～7年は、小規模にではあるが、マラリア対策に同様の注意を払ってくれた。問題意識を持つものたちが自主的に、新聞・テレビはもちろんのこと、インターネットを通じた対策情報も広く流した。今年度からは文部省も重点領域研究として、新しくマラリアワクチン作成プロジェクトを組み、研究費も大幅に増加した。

今年の6月、O-157感染がまだ深刻化していないころ、夏休みの海外渡航シーズンに合わせてマラリア特集記事が目についた。驚いたことに、そこにはあったものは、一般的には、現状はほとんど変わっていないという事実なのである。たとえ小規模とはいえ、これだけの対策を講じながら、その一般に与えた効果をみれば、元の木阿弥に等しい。

一つには、人々の常識が変化していないのである。予防薬があるはずだ、あれば何でもいいとしてファンシダールを服用する人は未だ多い。さらに、抗マラリア剤の多くが日本で認可されていない、普通の医院に在庫がないことを知らずに、医者に行けば何とかなる、として死亡した例も後を絶たない（朝日新聞論壇）。この時の新聞記事を目にしたとき、私は時が何年もスリップしたかと錯覚した。それほど、この文章が、名古屋大・武岡教授の論壇記事に酷似していたためである。全く別の個人が、全く同じ文章を2年半の時間差で同じ新聞の同じコラムに発表している。本当に日本人のマラリア対策での“記憶と学習”はどこへ行ってしまったのか。また、残念なことに、O-157対策に見られる様な国研の機能がこの分野には求められない、という実情がある。せめて、過去の事件（といってもそんなに昔ではない）にかんがみて、少しでも現在が進歩していくという対策にできないものか、と慨嘆することしきりである。

ただし、上記は、一般感染患者における状況の総論であって、現在筆者の知る海外派遣学術チームにおいて、感染数はゼロであることを強調しておく。

1. マラリアと病原性大腸菌の差

つまり、マラリア対策としては、他力本願は無効、個人の知識と情報量が最

も大切、ということが極めて明瞭に証明されているということになろう。今回の基礎編では、第3回に引き続いて、正しい判断の助けとなる知識の量を増やしたいと思う。

マラリアと病原性大腸菌（細菌）という2種の病原性生物を比較すると、病原性の有無に関わりなく、大腸菌は、普通の外環境で生育できるということが最も基本的特徴である。換言すれば、人間の体内は必ずしも大腸菌にとって最適な環境ではないのである。その証拠に、大腸菌を生育（？）するには、何ら動物モデルは必要なく、実験室の寒天培地でも、培養液中でも勝手に増えてくれる。至適温度・酸素濃度と栄養充分な環境があれば良いのであって、人体内は必ずしもこれらを満足してはいない。

コレラ菌などが良い例であって、自分にとって住みよい環境でないが故に異常な増殖（？）発育を示し、環境（人体）にとって有害な影響をもたらす。スギ花粉もその生物学的反応の良い例であり、つくば地区の様にスギの生育に適さない土地では、スギも早くどこか良い所へ行きたいのか、異常なほど花粉を生成し、これが花粉症多発の要因となる。生態学的不適合は、結局行動範囲が大きく、実行力のある人間に多く被害をもたらす。大腸菌はひょっとしたら、外の汚泥の中ではっておいてほしい、と考えているかもしれない。

これとは逆に、人体を最終の住処として進化したマラリア原虫は、実験室の寒天培地では生育できない。人体の中でも細胞数が多く（約400万個以上/mm³）、その新生能力も高い（half life 60日）赤血球をターゲットとしている。中間宿主の蚊は、熱帯に限らず砂漠と極寒地以外ならどこにでもいるし、まさに人間と共に生きるために生まれてきた様な生物である。

バイオ生命科学が発達した現在でも、無害な（人間にとっては有用な）マラリアを作つて環境生態系を変える、といったミバエで用いた様な対策は現在までのところ、不可能である。培養液中で増やした原虫に形質転換を起こす新しい技法が最近開発されたが、未だ実用例の報告はない。9月23日からのフランス国立科学センター（CNRS）主催生命科学カンファレンスにおいて、この技法開発者ブースロイド博士に会うので、マラリアミュータントを用いる戦略構想については、詳細な研究成果、将来的研究計画共に、次号に譲る。

2. マラリア原虫とはいかなる生物か？

從来、研究者たちは、いかにしてマラリアという病気を撲滅するか、という闘いを繰り広げてきたが、1990年代に入って、様々な失敗から（結局どんなワ

クチン候補も成果が上がらなかった), これほどまでに研究者を苦しめるマラリア原虫とはいかななる生物か? という正しい問い合わせを投げかけるに至った。発想的には、大いなる差がある 2 つのアプローチであるが、この生物種のどの特徴に立脚して現状を開拓するか、という点で同じスタートラインに立つわけである。

ここで、失敗した従来型の発想からストーリー展開すると、

- ① マラリア原虫は赤血球に寄生する。
- ② 赤血球内で、48~72 時間周期で分裂するが、寄生された赤血球の表面に、マラリア特異的物質が表出し、これを認識して人体の特異的免疫力を賦活する。
- ③ しかるに、感染された赤血球はこの免疫を逃れ、血管細胞壁に付着して、塞栓状態を引き起こし、各種臓器不全（熱帯熱マラリアにおける脳マラリアなど）を起こす。

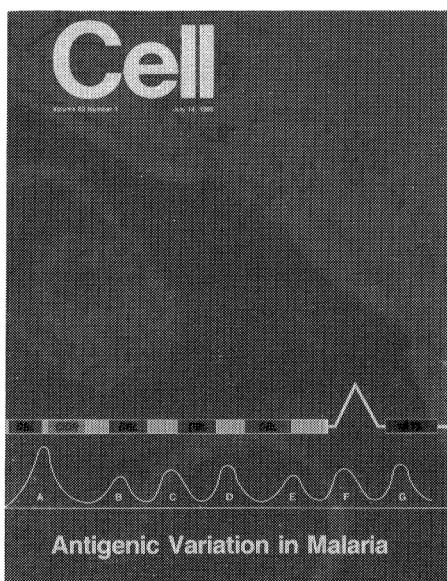


図 1 “熱帯熱マラリア赤血球膜蛋白質 1” の遺伝子解析を伝える Cell のカバーページ。遺伝子名 “var” の遺伝子構成と、それによる表層蛋白質の周期的变化を、A-Gまでのグラフでスキーマティックに表わしている。

④ このマラリア特異的物質に対する人体の特異的免疫力をさらに増幅すれば、感染された赤血球ごと寄生虫を全滅できるのではないか、という試みはあえなく失敗した。そこで、

⑤ 従って、マラリアの感染自体を防御することが不可能であるなら、発熱は我慢するとして、臓器不全などの重篤な障害に至らぬようにする手だけではないか。そのために、このマラリア特異的物質の生物学的特徴がもっと詳細に調べられないか?

という一連の努力が実を結び、1995 年、ついに感染赤血球に表出される “熱帯熱マラリア赤血球膜蛋白質 1 (*P. falciparum* erythrocyte membrane protein 1)”, 遺伝子名 “var (variant, varia-

tion, 多型性, 多様なという意味での *var*)”が報告された(図1)。

この, “熱帯熱マラリア赤血球膜蛋白質1”という命名(1984)は, 先に述べた研究者たちの疑問符から編み出された名前として, 頷けるが, それでは遺伝子名“*var*”はどういう関連で生まれたのか(1995)?

こちらは, マラリア原虫とはいかなる生物か?に集中した研究成果からの呼称である。即ち,

① 热帯熱マラリアの細胞周期は, 感染した人体内で同調していることがよく知られている。即ち, 幼若型リングフォームばかりが検出され, 重症例になると生殖母体型ばかりであるが, その中間体はめったに観察されない。

② これは, 中間体が, 組織内毛細血管の内皮細胞に付着して, 循環血流中から隠れているためである(1889)。

③ 故に, 感染赤血球は, 毛細血管の内皮細胞の表層物質を認識するレセプターを持っているはずだ(マラリア由来か, 赤血球由来か, 最初は特定されなかつた)。

④ これとは別に, 循環血流中に現れる感染赤血球は, 血球内のマラリア原虫と同様周期的な出現状況を示すが, 膜上にあるマラリア由来物質が表出しておらず, かつ, その周期ごとに多様な変化(多型性)を起こしている(1960~70年代)。

⑤ この物質(variable molecular mass)は何だろう?

⑥ マラリア原虫の外環境適合性を形成する, 染色体レベルでの遺伝子柔軟性に関係するのではないか?

⑦ そういえば, 同じ寄生原虫類のトリパノソーマでも, 表層膜の周期的変化を司るVSG, variable surface glycoproteinというものがある。

⑧ 従って, トリパノソーマの方法論を参考にして, 染色体構成の解析に則り, この物質の遺伝子配列を解析しよう(ゲノムプロジェクト, 1990より)。

解説が長くなつたが, 1889年から1990年までの長いブランクを埋めたのが従来型の地道な発想と実験の積み重ねであり, 解答へ至る道を疾走したのが新しい寄生生物学を模索する世代なのである。

3. *var*

“熱帯熱マラリア赤血球膜蛋白質1”は, 感染赤血球に大変多く存在する物質なので, 特異抗体その他の実験材料は比較的早くから整備されていた。かつ, 細胞生物学の進展と相まって, 結合する血管内皮細胞側の物質, CD36, ICAM

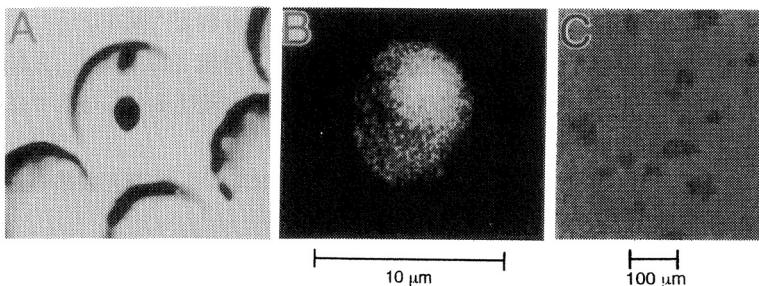


図 2 “熱帯熱マラリア赤血球膜蛋白質1”の感染赤血球膜での検出。A:光学顕微鏡写真、中央の赤血球のみ感染しており、特徴的knob形成が12時方向に見られる。B:特異抗体による蛍光顕微鏡写真、感染赤血球のみ反応している。C:同じ抗体を用いた血球凝集反応。感染しているものが凝集しあう。バックグラウンドは、非感染赤血球。

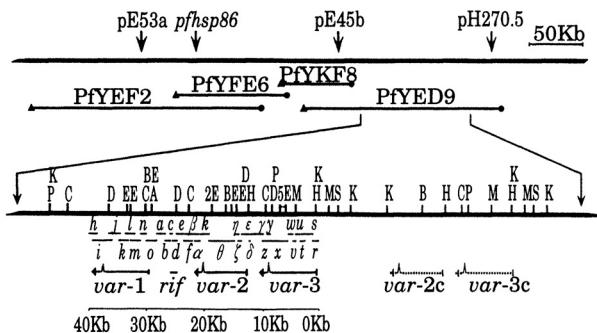


図 3 热帯熱マラリア原虫第7染色体上のvar遺伝子クラスターのマッピング図。PfYナンバーに示されるYACクローン4種がvar遺伝子群(約100 Kb)をカバーしている。詳細なマップ(最下線)上のアルファベットは、制限酵素の略語。

の結合アッセイ法などにより、目的とする物質の同定を進めていたところ、別に染色体の可変性部位をしらみつぶしに検索していたグループから遺伝子が発表され、くしくもこの両者は同一物質であったのである。即ち、“熱帯熱マラリア赤血球膜蛋白質1”は確かにマラリア原虫由来の物質(図1)で、それが赤血球膜に表出しておる(図2)、かつ、血管内皮細胞と結合するという性質を持っていたのである。

varは、全長10~12Kbの遺伝子カセットより成り(図1参照)、これを一構成体として、その中にDBL, CIDR, ATSの種類の類似性の高い部分を持つ。

-1 (intercellular adhesion molecule 1), VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1), ELAM-1 (endothelial leukocyte adhesion molecule 1)などが良く解析されていた(1980年代)。

これらの手がかりを用いて、免疫沈降法や血管内皮細胞と

赤血球膜上の表出部分は、ヒトの血液型決定因子（Duffy）に結合するところから、Duffy antigen binding-like (DBL) domain と呼ばれている。

染色体7番上の100～150 Kbの領域にクラスターとして多数存在するが（図3）、7番のみならず、9番やその他の染色体上にもランダムに存在するとされている。このような図は、本誌読者諸氏にはあまりなじみのないデータ表出法かもしれないが、先回同様の図を示したので、ご記憶の方もいらっしゃるであろう。そのvarカセットの一つ一つが多型性を示し、しかも地域別マラリア株でも異なっている（図4）。

先に、大変多く存在すると述べたが、1ゲノムあたり50～150コ

ピー、全遺伝子の2～6%にも達する。しかも世代あたりその2.4%までもが組み替えによる多型性を示すという凄さで、数世代を経ると、かつ、自然界で有性生殖を経れば、全く別種類と言っていいほどの遺伝子配列の相違を生じる。図4は、まさにその典型的データであるが、端的に説明すれば、これは人の指紋と同じく、遺伝子構成のパターンニングを行うもので（DNA フィンガープリントィング）、パターンの差により生物種の類縁関係を調べるものである。多数のコピーを持つ遺伝子を用いて、各生物の遺伝子構成比較を簡単に行えるので、植物・動物種を始め、生物界に広く使用されている（時をさかのぼっても使えるので、進化の指標にも用いられている）。とにかく、結論として言えるのは、どのマラリア株も、血管内皮細胞に接着するという性質は等しく持ちながら、その遺伝子的背景に、これだけ variation がある、とても同一のものとは思えない、ということである。

先にワクチントライアルの失敗と記したが、このような物質すべてに効果の

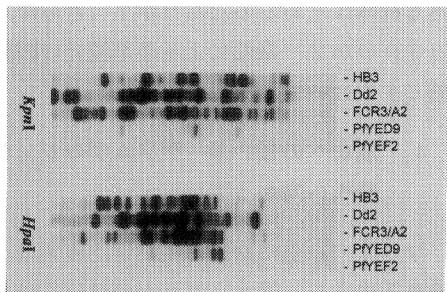


図4 var遺伝子の熱帯熱マラリア原虫株別多型性。レーン上から、HB3, Dd2, FCR3 A2 はそれぞれの認識名称株から抽出した虫体のDNAを制限酵素 *Kpn*1 で処理後アガロース電気泳動し、PfYED9 及び PfYEF2 は、図3に示した YAC クローンより同じく DNA を抽出、同様に制限酵素 *Kpn*1 で処理後アガロース電気泳動したもの。サイズごとに分離された DNA 断片は、ナイロンメンブレンに転写、var 遺伝子の存在様式を見るため、ザザンハイブリダイゼーションにて相同断片の検索を行った。それぞれのレーンにおけるパターンの相違に注意。PfYEF2 は var 遺伝子を含まない（陰性コントロール）。

ある抗体などあるのだろうか？さらに、どれだけたくさんの量を投与できるというのか？毒性による薬剤開発の限界と同じく、ここでも方法論の限界を感じずにはいられない。

4. 成功への長い道—ゲノムプロジェクトが成した成果とポストゲノムの時代へ向かって

マラリア原虫に対する生物学的質問は、既に何世紀も前に発せられている。それらのうち、答えられたものはいくつあるであろうか。周期的熱発の原因となる、寄生体の種特異的周期性細胞分裂についても、全く手付かずで残っているのが現状である。細胞周期の同調法則もまだわかっていない。1976年のMILLER博士の実験室内培養法の開発、1990年にはいってからのゲノムプロジェクトの開始など、技術革新は常にエポックメーキングでありながら、本来の目的にはまだまだ遠い。

今回紹介した“熱帯熱マラリア赤血球膜蛋白質1”発見から*var*遺伝子解析までの一連の研究は、マラリア研究が技術革新を乗り越えて、本来の道筋に至ったという意味で画期的意義を持つ。ポストゲノム、生命現象の真理に肉迫するための道具だけがそろい、現象の解明へと進むことが今世紀中に可能となったのである。

マラリア原虫が人間の赤血球を選んだのは、単なる進化の偶然かもしれない。しかし、結果としてどのような要件を満たさなければならなかったかはわかった。高い要求水準を満たすことができることもわかった。これを端緒として、次の、糧道途絶への方法論を構築しなくてはならない。

5. 粮道途絶

第2回の終わりに、病原体は、人体がおいしいと思っている、これを追い払うには、このうまいと信じている人体をまずきこと砂のごとしに変えればよい、という言葉を引いたが、“熱帯熱マラリア赤血球膜蛋白質1”は実際に当てはまる物質である。マラリア原虫が製造しながら、赤血球内から膜へと輸送され、外環境である血管内皮細胞にしっかりと接着、わが身の安全と安穏な生育という目的を果たす。この輸送・膜への表出、接着機能、どれを阻害してもよい、その時人体は寄生体にとって耐え難きまずいものに変じよう。

ただ、読者諸氏には既にお気づきの様に、その機序がまだ明らかではないのである。これからの方はまだはるかに長いのである。ただし、乗り越えて来た

道程を思えば、先の困難を憂う気持ちは少なく、充実感の方がよほど大きいという我々研究者の意見を忘れずに付け加えておく。

6. 終わりに

今回は、自分の研究成果ではなく、マラリアゲノムプロジェクトチームを始め、マラリア研究最前線に位置する友人たちの輝かしい成果の記述に終始した。基礎編で紹介した研究は、文献の欄に示した BOOTHLOYD, COWMAN, FOOTE, PETERSON, WELLEMS 博士等の了承によるものであり、9月また一堂に会しての盛大な討論を期待するものである。次回は、この世界戦略の行方を決める会議の詳細と、2度の雨季を経過して感染者ゼロであったプロジェクトチームの報告から、1996年の熱帯地疫学情報と、より効果的なマラリア予防・対応策を検討する。

- 〔文献〕(年代順) 1) BIGNAMI and BASTIANELI: Reforma Medica 6, 1334-1335. 1889.
2) BROWN and BROWN: Nature, 208, 1286-. 1965. 3) MILLER: Am. J. Trop. Med. Hyg. 18, 180-. 1969. 4) BROWN, *et al.*: Exp. Parasitol. 28, 318-. 1970. 5) LUSE and MILLER: Am. J. Trop. Med. Hyg. 20, 655-. 1971. 6) TRAGER and JENSEN: Science 193, 673-. 1976. 7) BLOOM: Nature 279, 21-26. 8) LEECH, *et al.*: J. Ecp. Med. 159, 1567 -. 1984. 9) ROBERTS, *et al.*: Nature 318, 64-. 1985. 10) OKKENHOUSE, *et al.*: Science 243, 1469-. 1989. 11) OQUENDO, *et al.*: Cell 58, 95-. 1989. 12) WELLEMS, *et al.*: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 3382-. 1991. 13) ADAMS, *et al.*: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 7085-. 1992. 14) LANZER, *et al.*: Nature 361, 654-. 1993. 15) BARUCH, *et al.*: Cell 82, 77-. 1995. 16) SU, *et al.*: Cell 82, 89-. 1995. 17) SMITH, *et al.*: Cell 82, 101-. 1995.

お 知 ら せ

本誌 No. 11 から No. 36 まで、「熱帯林業講座」に「熱帯の森林害虫」と題して26回にわたって詳細な情報を解説されてきた野淵 輝氏が6月下旬に不慮の事故で急逝されました。No. 13 の pp. 45~47 をみていただければお分かりのように、甲虫目の半ばを過ぎており、あと膜翅目・双翅目を残すだけのところまできていたのですが、残念ながら、中途で絶筆となりました。ただ同氏は、「熱帯の森林害虫」(1995)を(財)国際緑化推進センターから出版されています。組み立ては本講座と異なりますが、残された目については同書を参照していただきたいと思います。

ここに多年にわたる同氏のご執筆に感謝しますとともに、謹んでご冥福をお祈りいたします。

編集委員会