

## アジア人とアフリカ人の一塩基多型 (SNP) の比較によるマラリアの感染率についての研究

### 研究動機・背景

アフリカでは各種の感染症が常時存在し、現在でもエイズやマラリアなど命に関わる病気が流行している。マラリアの3大症状は40℃をこえる高熱、貧血、脾腫（脾臓の腫大）である。世界保健機関（WHO）はこの中でマラリアの感染拡大について注目している。世界保健機関（WHO）は、「マラリアが原因で死亡した人の数は世界で年間約100万人に上り、そのうちの約90%がアフリカ地域に集中している」と推計している（図1）。

Fig. 3.3 Estimated incidence of malaria per 1000 population. 2006

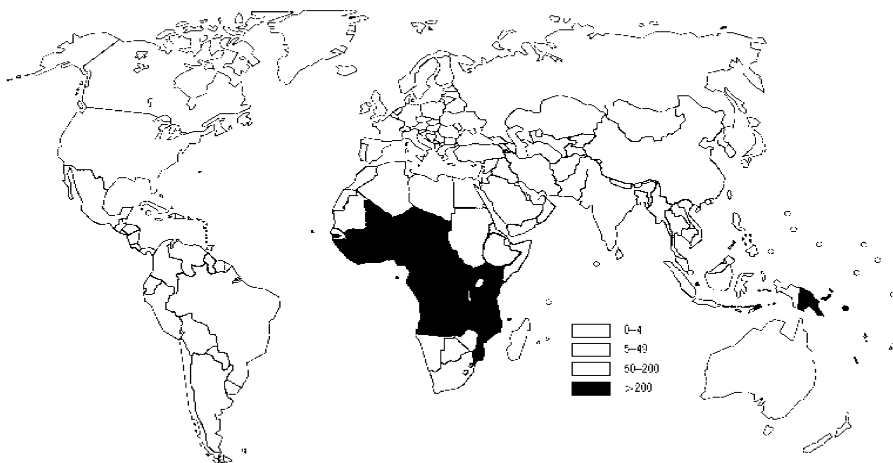


図1 マラリア分布

また、「マラリアはアフリカの多くの地域で、主要な死亡原因となっており、約30秒間に1人の割合で、アフリカの子どもがマラリアで亡くなっている」という国連児童基金（UNICEF）の報告もある。さらに、各国のマラリア体質によると（表1）、アフリカ人のマラリア罹患率<sup>りかん</sup>率が84%なのに対しアジア人は77%であり、他の地域に比べて高いことが分かる。

Table 3.1 Estimates of populations at low and high risk of malaria, and estimates of cases and deaths compared with NMCP reports, by WHO region, 2006

POPULATION AT RISK (MILLIONS)	POPULATION	% ANY RISK	TOTAL AT RISK	LOW RISK	HIGH RISK	HIGH RISK (% OF ANY RISK)
Africa	774	84	647	61	586	91
Americas	895	15	137	76	61	45
Eastern Mediterranean	540	55	295	230	66	22
Europe	887	2	22	19	2	11
South-East Asia	1 721	77	1 319	863	457	35
Western Pacific	1 763	50	888	833	54	6
<b>World</b>	<b>6 581</b>	<b>50</b>	<b>3 308</b>	<b>2 082</b>	<b>1 226</b>	<b>37</b>

表1 各国のマラリア罹患率予測（WHO2008より抜粋）

Mackinnon (2005)は、最近のマラリア研究は分子基準による自然免疫についてのものが多いため、免疫を作る際に効果のあるワクチンを早急に開発することが求められていると述べている。また、Aitman (2000)は、CD36という一塩基多型<sup>いちえんきたがた</sup>がマラリアの罹患率を上げていると指摘している。これに対して、マラリアの病原菌を運ぶ蚊については研究が進んでいるが(Winzeler (2008), Carpenter D(2008))、人の一塩基多型を対象にした研究は少ない。従って、ヒトのマラリア病患感受性遺伝子多型を特定するための検出技術を発明する必要があると考えられる。

## 研究目的

本研究ではアフリカ人とアジア人を対象にそれぞれの一塩基多型の塩基を解読し、マラリアに感染しやすいアフリカ人のマラリアの感染型を解明するためのデータベースに資することを目的とする。

## 研究意義

本研究において、マラリアの一塩基多型を発見することで、マラリアに感染しやすいアフリカ人のマラリアの感染型が解明できるようになると考えられる。これによって、短時間で精確なマラリア罹患性一塩基多型の検出技術が開発できれば、マラリアに感染しにくい遺伝体質の特定が可能になり、マラリアの予防につながれるであろう。

## 研究方法

### 1. サンプル採取

インフォームドコンセントを受け匿名化<sup>とくめい</sup>がなされている血縁関係のない 400 人 (マラリアに罹患しているアフリカ人 200 人、非罹患のアジア人 200 人) の血液を採取し、サンプルとする。

### 2. DNA 抽出

DNA 抽出は QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN)を用いて行う。回収された DNA 量を吸光度計で測定する。

### 3. プライマーの作製

CD36 抗原について-156、-150、-53、-14、-13、+59、+103、+669 番の計 8 カ所の塩基置換および欠失を識別するためのプライマーを設計し、作成する。

#### 4. PCR 増幅

鋳型<sup>いがた</sup>DNA 10ng に対して、PCR buffer (Applied Biosystems, USA) primers、dNTPs、BSA (Sigma, German)、Ampli Taq Gold polymerase (Applied Biosystems) 0.5 unit を含む反応液を加えて全量 10  $\mu$ l とし、サーマルサイクル―PJ2000 (Applied Biosystems) を用いる。プレヒートイングを 95°C 10 分間行った後、変性 94°C30 秒、アニーリング 57°C30 秒、伸長 72°C30 秒を 31 回または 41 回繰り返した後、伸長反応 72°C で 5 分間行い、分析するまで 4°C で保存する。

#### 5. アフリカ人およびアジア人におけるアレル頻度

血縁関係のないアフリカ人およびアジア人から得られた DNA について、本検査法を用いてマルチプレックス SNP 型判定を行う。今回検討した SNP 部分の対立アレル<sup>たいりつ</sup>頻度<sup>ひんど</sup>を算出し、本検査法を用いた個人識別力を計算する。また、現在あるデータベースのアレル頻度との比較を行う。

#### 参考文献

- Aitman TJ, Cooper LD, Norsworthy PJ, Wahid FN, Gray JK, Curtis BR, McKeigue PM, Kwiatkowski D, Greenwood BM, Snow RW, Hill AV, Scott J. (2000) “Malaria susceptibility and CD36 mutation”, *Nature*. vol 405(6790), pp.1015-6
- Carpenter D, Rooth I, Färnert A, Abushama H, Quinnell RJ, Shaw MA. (2008) “Genetics of susceptibility to malaria related phenotypes”, *Infect Genet Evol.* (Advanced online publication)
- Mackinnon MJ, Mwangi TW, Snow RW, Marsh K, Williams TN (2005) “Heritability of malaria in Africa” *PLoS Medicine* vol 2(12), p.1202
- Naowarut Dechkum, Hathairad Hananantachai, Jintana Patarapotikul, Jun Ohashi, Srivicha Krudsood, Sornchai Looareesuwan and Katsushi Tokunaga (2006) “Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) Gene Polymorphism Is Not Associated with Severe and Cerebral Malaria in Thailand”, *Jpn.J.Infect.Dis*, vol.59, pp.239-244
- O Koch, K Rockett, M Jallow, M Pinder, F Sisay-Joof and D Kwiatkowski (2005) “Investigation of malaria susceptibility determinants in the IFNG/IL26/IL22 genomic region”, *Genes and Immunity*, Vol.6, pp.312-318
- Winzeler EA (2008) “Malaria research in the post-genomic era” *Nature*, Vol455(7214), pp. 751-6
- World Health Organization (2008) “The World Malaria report 2008” (<http://www.who.int/malaria/wmr2008/malaria2008.pdf>) (2008 年 11 月 13 日取得)