

地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)
研究課題別終了時評価報告書

1. 研究課題名

結核及びトリパノソーマ症の診断法と治療薬開発 (2009年11月－2013年11月)

2. 研究代表者

2. 1. 日本側研究代表者：鈴木 定彦(北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター・教授)
2. 2. 相手側研究代表者：Lackson Kasonka(保健省大学研究教育病院 (UTH)・病院長)

3. 研究概要

本研究では北海道大学とザンビア大学 (UNZA) および UTH の交流実績を活かして、以下の課題を遂行し、その成果によりザンビア共和国における迅速な結核ならびにトリパノソーマ症の診断体制の確立と早期治療を通して同疾患の制圧を目指すことを目的とした。

- 1) 従来の特痰での結核菌検出の主役であるチール・ネールゼン塗抹染色法に代わる方法として、LAMP 法による新規迅速診断法をザンビア共和国において実装可能な方法として確立する。
- 2) また従来による培養による薬剤感受性試験法に代わる方法として遺伝子変異検出技術を用いる迅速薬剤感受性試験法を実装可能な方法として確立する。
- 3) 本研究を通じて結核サーベイランスネットワークを強化し、これを有効に活用して疫学情報を収集し、得られた情報を結核対策に役立てる。
- 4) 従来血液標本の検鏡によるトリパノソーマ症診断に代わる方法として LAMP 法を応用し新規診断法を実装可能な方法として確立する。
- 5) トリパノソーマ症に対する新規治療薬候補物質を合成し、日本およびザンビア共和国でそれらの有効性を評価する事により新薬開発へと繋げる。
- 6) ザンビア共和国におけるトリパノソーマ症サーベイランスネットワークを構築して疫学情報を収集し、得られた情報をトリパノソーマ症対策に役立てる。

4. 評価結果

総合評価 (A+：優れている(所期の計画をやや上回る取り組みが行われ、大きな成果が得られた))

本プロジェクトでは、当初の計画通り、安価で操作が簡便かつ室温保存で使用可能な結核ならびにトリパノソーマ症の迅速診断法 (LAMP 法) を開発した。ザンビア国の研究・検査従事者が自国で独自に検査が実施可能な状態となり、トリパノソーマ症の診断キットは

既に患者の診断に使用されている。また、結核診断法については、ザンビア国における公定法としての承認を受けるため、同国政府保健省主導の下、UTH を中心としたチームによる評価試験の段階に入っている。同国のみならず、周辺国及び他の開発途上国においても実用可能な診断法として高く評価される。

また、UTH に BSL-3 実験室 2 機が結核菌取り扱い専用実験室として設置されたことの持つ意味は極めて大きい。同国における結核診断の作業が一つの実験室内で実施可能となった。このような高いレベルの施設はアフリカのみならず我が国でも臨床検査室のレベルでは存在せず、本プロジェクトの大きな成果である。さらにこの BSL レベルの実験室は、結核菌以外の疾患発生時には、原因微生物の検索診断に資することが出来、この意義は計り知れないものがあると言っても過言ではない。現地の技術者が既に維持管理に関する技術研修を米国で習得しており、また、プロジェクト終了後も北海道大学の担当者が全面的に対応する旨の取り決めも成されている。このように、今後の同施設の維持管理面でも優れた計画が成されている点においても評価される。

研究代表者をはじめ他の多くの研究参画者も頻繁にザンビアに渡航し、十分に滞在の上直接技術指導に当たった。併せて長期常駐研究者及び業務調整員が根気よく技術指導と種々の整備を進めたこと、加えて北海道大学と UTH、UNZA の長い期間に渡る良好な協力関係を基盤に、両国間の十分な技術および研究交流の上に研究推進が成された事でプロジェクトの大きな成果に結びついたと言える。

以下に、評価項目における特筆すべき内容を列挙する。

4-1. 地球規模課題解決への貢献

現在世界には、多剤耐性結核および超多剤耐性結核の感染拡大が危惧されている。結核の蔓延を防止するためには、積極的な迅速診断とその結果を踏まえた適切・迅速な治療が重要である。また、トリパノソーマ症は重症化すると治療が極めて困難になるため、早期の鑑別診断が重要となっている。このため本研究では、下記を主な目標に進めてきた。

1. 迅速かつ安価な結核・トリパノソーマ症診断法、結核薬剤感受性試験法の開発
2. 上記診断法をザンビア国において評価・普及させることで同国の結核対策に資すること
3. 同国におけるトリパノソーマ症サーベイランスネットワークを構築し得られた情報を同疾患対策に役立てること
4. ザンビア国側の共同研究者の研究技術能力向上を図ること

特に、LAMP 法を応用した結核、トリパノソーマ症における安価かつ簡便な乾燥診断キット開発においては、同国由来検体を用いて性能を評価し、感度、特異性ともに優れており、ザンビアにおける診断法として臨床実装可能であることを示した。トリパノソーマ症における診断キットは既にザンビア国にて患者の診断に使用され始めている。結核診断キットについても、ザンビア国における実用性が高く、また、両診断キット共に同国のみならず

他の開発途上国において実装可能なものとして高く評価される。ザンビア国から周辺諸国への普及を期待すると共に、成し得た成果を今後さらに発展させ有効活用されるための努力を期待したい。UTHにバイオセーフティ上の基準を満たすBSL-3実験室を2機設置し、同国において結核診断の一連の作業が実施可能となったことを含め、同国の結核対策に大きく貢献し得る成果である。

また、トリパノソーマ症新規治療薬候補物質スクリーニングにおいては、*in vitro*において抗トリパノソーマ活性を示す幾つかの有望な新規化合物が認められているが、まだ最終の候補化合物発見にまで至っていない。しかしながら、大学の実験室レベルで300種類もの新規化合物の合成とスクリーニングを実施し、かつ、マウスにて優れた抗マラリア活性を有する化合物を副次的に見出したことは評価される。本プロジェクトで推進した技術と見出した新規化合物について、トリパノソーマ症のみならず住血吸虫症等への応用も視野に入れ、今後も継続し研究推進される事を期待したい。

4-2. 相手国ニーズの充足

結核は、世界各地で人類を脅かし続けている最も重要な再興感染症の一つであり、その迅速な対策が切望されている。アフリカ諸国においては他の大陸と比較にならない程の多くの結核患者（全世界の結核患者の約3/4）が集中していると言われている。現在WHOが推奨している診断技術では高い費用と時間がかかるため、開発途上国においては普及が進んでいない。安価・かつ簡便な診断法が切望されている。トリパノソーマ症は重症化すると治療が極めて困難になり、早期の鑑別診断が重要となるが、マラリア等の他の熱性疾患と誤診されがちである。さらに現在も顕微鏡での直接検出が確定診断となるが、地方の診療所では顕微鏡が無いところが多く、確定診断に時間がかかるため治療前に症状が悪化（昏睡）することがしばしば見られる。

このため、感度と特異性が高く、どこでも使用可能である安価な診断法は開発途上国においては極めて重要となる。早期診断・早期治療は治癒率向上に繋がり、死亡率を減少させることになる。

本プロジェクトにて開発した診断キットは室温保存が可能であり、かつ特別な装置を必要としない迅速かつ簡便・安価な診断法であり、トリパノソーマ症の診断においては、同時に開発した簡易測定器により、電気のない地方の診療所等においても簡単に診断ができる。同診断法の普及によりザンビア国のみならず周辺国にも与える影響が大きいと評価される。同診断法の作製技術は、既にザンビア国の研究者への技術移転が完了しており、同国における実用化の見通しも出来ている。ザンビア国の公定法として保健省の承認を取得後、今後さらに周辺国へ普及していくことを期待したい。

4-3. 付随的成果

本プロジェクトにて開発した診断キットは、日本発の技術である LAMP 法を応用したものであり、開発途上国においても有用な方法として、安価・簡便かつ室温保存が可能な乾燥 LAMP 法として完成させたことは高く評価される。LAMP 法そのものに対する知財取得は困難であるが、開発した乾燥法技術に対し知財取得の可否を検討されたい。

学術成果については、33 報(国際誌)の論文が科学雑誌に発表・投稿され、また学会発表は招待講演9件(国内会議 3 件、国際会議 6 件)、口頭発表 5 件(国内会議 1 件、国際会議 4 件)、ポスター発表 16 件(国内 2 件、国際 14 件)がなされている。さらに、知財出願についても 2 件の国内出願がなされた。

ザンビア人の人材育成の点においては、BSL-3 実験室の維持管理方法、診断キットの作製の手技等十分な技術指導が行われ、研究レベルの向上が成された事は高く評価される。一方で、日本人若手研究者の育成に関しては十分ではなく、大学院生を含むより多くの若手研究者をプロジェクトに参画させて欲しかったと言える。

4-4. プロジェクトの運営

UTHにおいては、BSL-3 実験室 2 機の設置と、本プロジェクト予算で購入した機器により結核診断等一連の作業が実施可能となった。また、UNZA 内にトリパノソーマ症の実験室が整備され、導入された研究機器は、相手国側研究者によって十分に活用されている。

研究代表者及び殆どの共同研究者が頻繁にザンビア国に渡り、十分に滞在の上、直接技術指導に当たったことは、技術の定着に大きく貢献したと評価される。北海道大学と相手国側研究機関においては長い歴史と協力関係が基盤にあり、また本プロジェクトにより更に非常に良好な共同研究の体制が構築された。研究代表者の優れたリーダーシップと長期滞在研究者及び業務調整員が中心となり、相手国側研究者と十分に協議のうえ、プロジェクトが推進されたことは高く評価される。

得られた成果について、今後更なる普及を目指し、相手国側政府のみならず周辺国および他諸国においても継続したアプローチを行って頂きたい。

5. 今後の研究に向けての要改善点および要望事項

本プロジェクトにて開発した診断法が、ザンビア国のみならず周辺国および他諸国へ普及されるよう、情報発信と他国との連携を前向きに進めていただきたい。また開発した乾燥法の技術について知財の取得を検討されたい。さらに、設置した BSL-3 実験室の維持管理に関する取り決め事項を守り、今後永年に渡り有効活用できるよう配慮されたい。併せて相手国側研究者へ移転した技術も継承いただきたい。そのためにも、後継の平成 24 年度採択ザンビア国課題(「アフリカにおけるウイルス性人獣共通感染症の調査研究」)および同国で実施している他のプロジェクト(J-GRID 等)との連携を進めて、今後のザンビア国における感染症対策に大きく資するよう努力されることを強く期待したい。

以 上

研究課題名	結核及びトリパノソーマ症の診断法と治療薬開発
研究代表者名 (所属機関)	鈴木定彦 (北海道大学 教授)
研究期間	H20採択 H21年11月15日～H25年11月14日 (4年間)
相手国名	ザンビア共和国
主要相手国研究機関	ザンビア大学付属教育病院 ザンビア大学獣医学部

付随的成果	
日本政府、社会、産業への貢献	迅速診断法の導入により喫緊の地球規模課題である結核およびトリパノソーマ症の拡大蔓延対策が可能となり、ザンビアを訪れる邦人の感染リスクを低減できる。
科学技術の発展	結核およびトリパノソーマ症診断用LAMP法の乾燥キット化法の開発は、当該感染症のみならず、他の感染症の検査技術の向上につながる
知財の獲得、国際標準化の推進、生物資源へのアクセス等	<ul style="list-style-type: none"> 結核検体(喀痰、尿)バンク 結核菌株バンク トリパノソーマ症検体(ヒト血液、動物血液、ツェツェバエ)バンク トリパノソーマ株バンク
世界で活躍できる日本人人材の育成	<ul style="list-style-type: none"> プロジェクトメンバー井上昇が教授に昇任 Mahendar Velisoju が博士号を取得インドで就職 溝口玄樹が博士号を取得、博士研究員に就職
技術及び人的ネットワークの構築	<ul style="list-style-type: none"> 結核検体収集ネットワークの構築完了 トリパノソーマ症検体収集、検査ネットワークの構築完了
成果物(提言書、論文、プログラム、マニュアル、データなど)	<ul style="list-style-type: none"> カウンターパートを筆頭著者とするレビュー付論文 BCL3結核ラボ使用マニュアル 多剤耐性結核の頻度に関するデータ

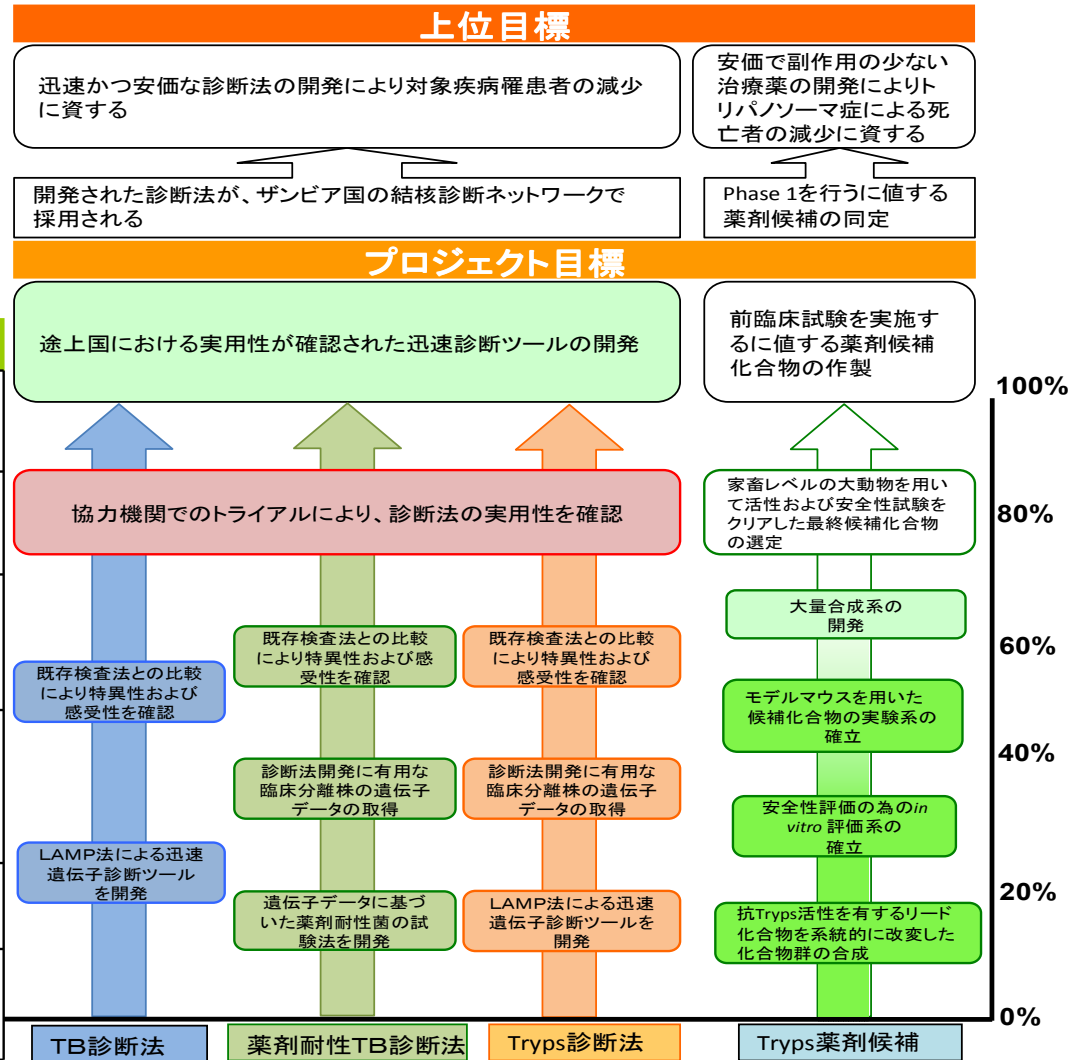


図 1. 成果目標シートと達成状況 (2013 年 12 月時点)