

# 地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)

(分野・領域「感染症」)

課題・案件名「**ラオス国のマラリア及び重要寄生虫症の流行拡散制御に向けた遺伝疫学による革新的技術開発研究**」

(相手国:ラオス人民民主共和国)

## 国際共同研究期間\*1

平成26年 5月 1日から平成31年 4月30日まで

## JST側研究期間\*2

平成25年 5月20日から平成31年 3月31日まで

(正式契約移行日 平成26年 4月 1日)

\*1 R/D に記載の協力期間

\*2 開始日=暫定契約開始日、終了日=R/D に記載の協力期間終了日又は当該年度末

## 平成26年度実施報告書

狩野繁之

(独)国立国際医療研究センター 研究所 熱帯医学・マラリア研究部 部長

<平成25年度採択>

## I. 国際共同研究の内容（公開）

本研究では「ラオス国立パスツール研究所」(Institut Pasteur du Laos: IPL)及び「ラオス保健省マラリア学・寄生虫学・昆虫学センター」(Center for Malariaology, Parasitology and Entomology: CMPE)との国際共同研究を通じて、現地の研究者・保健従事者と共に、ラオスの保健衛生上容認しがたい疫学的問題であると同時に、経済的損失にも無視できない影響を及ぼしている3つの寄生虫疾患、すなわちマラリア、メコン住血吸虫症、およびタイ肝吸虫症の分子遺伝学解析を行い、その科学的知見に基づく流行拡散制御と疾病の制圧に貢献することを目的とする。

またこれらの最先端研究を通じた若手研究者の人材育成を行い、ラオスの自立的、持続的な科学水準の向上と感染症制圧への対処能力の向上に資することも重要な目的とする。

これらの目的達成のため、遺伝子診断の新技术を開発し、病原体と媒介生物の集団遺伝的变化のモニタリング、さらには薬剤耐性マラリアの原因遺伝子の探索を行い、効果的な疾病制圧法と再流行の監視体制を構築する。

5年間の研究協力の後に、ラオス国が自立的に研究の遂行と対策の戦略を維持できるようにすることを上位目標とする。

### 1. 当初の研究計画に対する進捗状況

研究題目・活動	H25年度 (10ヶ月)	H26年度	H27年度	H28年度	H29年度	H30年度 (12ヶ月)
1. マラリア研究 1-1 マラリア原虫の集団遺伝学構造解明 1-2 薬剤耐性マラリアの出現と拡散のメカニズム解明	最適な研究調査対象地域が策定される	原虫の分離とDNAの抽出 薬剤耐性SNPの検出	マイクロサテライトDNAの選定と解析 次世代シーケンサーによるCNV解析と評価	ライトDNA	原虫の集団遺伝学的構造が明らかになる 薬剤耐性マラリアの出現と拡散のメカニズムが解明される	遺伝学的構造が明らかになる
2. メコン住血吸虫症研究 2-1 メコン住血吸虫の集団遺伝学構造解明 2-2 新規DNA診断法の開発	最適な研究調査対象地域が策定される	虫卵の分離とDNAの抽出・取得	メコン住血吸虫の遺伝学的構造のモニタリング技術の開発 中間宿主からの虫体の分離とDNAの抽出・取得		LAMP法の技術の確立	
3. タイ肝吸虫症研究 3-1 タイ肝吸虫の遺伝学構造解明 3-2 新規DNA診断法の開発	最適な研究調査対象地域が策定される	虫卵の分離とDNAの抽出・取得	第1、2中間宿主から虫体の分離とDNAの抽出・取得開発		LAMP法の技術の確立	タイ肝吸虫の遺伝学的構造のモニタリング技術の開発

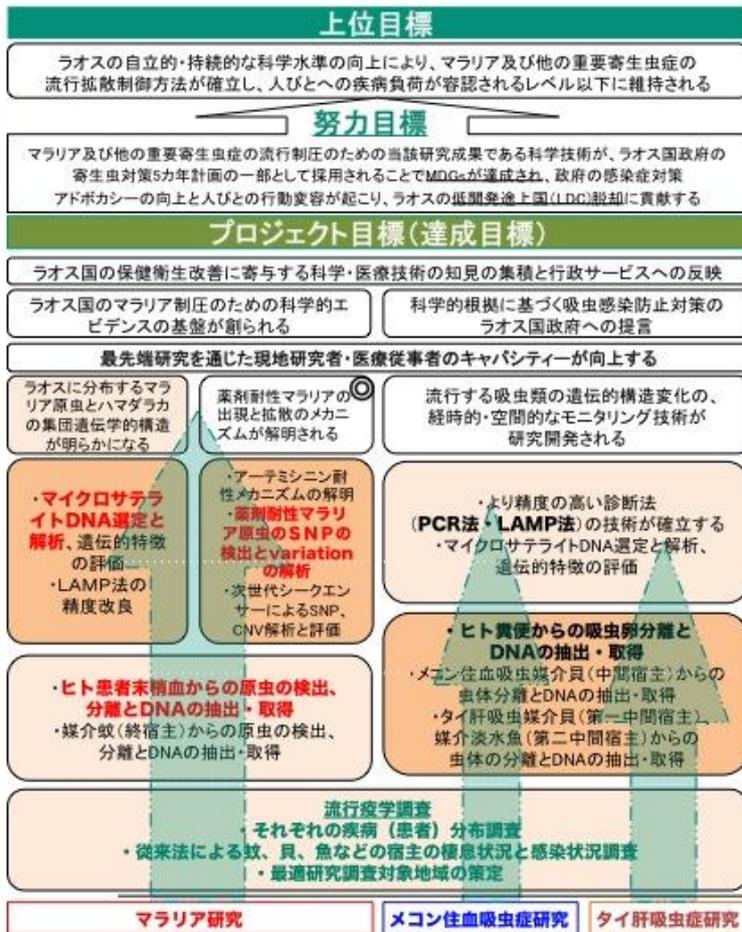
\* サルマラリア原虫 (*Plasmodium knowlesi*) の分子疫学研究を PDMver1 で追加した。

\*\* 初年度の雨量など地域天候の変化に起因すると思われる媒介員の分布の変化を考慮して、地域対象策定に時間をかけた (タイ肝吸虫症研究も同様)

# JST成果目標シート

## 付随的成果

日本政府、社会、産業への貢献	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ラオス国政府の寄生虫対策計画に貢献し、日メコン首脳会議“東京戦略2012”の「人間の安全保障と環境」(感染症対策)を支援する</li> <li>・メコン河流域諸国への成果の波及とWHO地域事務局方針への採用</li> <li>・重要寄生虫対策を含む“顧みられない熱帯病(NTDs)”対策を通じて、アジア諸国における日本の科学技術外交への貢献</li> <li>・わが国の産業が参加した研究ネットワークの構築および国際産学官連携の推進による新しい市場経済への参入</li> <li>・寄生虫対策に係る科学技術的知見に基づいた食の安全技術や感染制御支援策が、日本を含むアジア全体の水産業・観光業の新興に活用される</li> </ul>
知財の獲得	<ul style="list-style-type: none"> <li>・マラリアLAMP法的应用特許出願</li> <li>・新規マラリア診断法の特許出願</li> </ul>
成果物(論文等)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ラオスにおけるマラリアの集団遺伝学に関する新しい知見を掲載</li> <li>・マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症のLAMP診断法の開発について掲載</li> <li>・薬剤耐性マラリアの流行拡散に関する遺伝疫学的研究成果について掲載</li> </ul>
生物資源へのアクセス確立	<ul style="list-style-type: none"> <li>・メコン河流域という生物学的多様性のある地域での寄生虫(病原体)のサンプル入手経路の確立と系統学的ストック確保</li> </ul>
人材育成(日本のグローバル人材育成を含む)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・参画ポストドク研究員(または学生)名でレビュー付雑誌への論文掲載</li> <li>・相手側研究者と共同でレビュー付雑誌への論文掲載</li> </ul>



## 2. プロジェクト成果の達成状況とインパクト

### (1) プロジェクト全体

#### ①プロジェクト全体のねらい

本研究では「ラオス国立パスツール研究所」(IPL)および「ラオス保健省マラリア学・寄生虫学・昆虫学センター」(CMPE)との綿密な共同研究を通じて、すなわち前者のJICA・ODAで確立された最先端のラボと、後者における流行地末端まできめ細かく張り巡らされた情報ネットワークフィールドが、ちょうど縦糸と横糸のように研究テクニクチャーを織りなしながら、同国の保健衛生上極めて重要な寄生虫疾患であるマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の分子遺伝学的調査研究を行い、ラオス若手研究者の人材育成を行いながら、きわめてリジリエントな科学的知見に基づく流行拡散制御と疾病の制圧を目指すところに、当該プロジェクト全体のねらいがある。

#### ②研究実施方法

フィールドでの医療スタッフと地域住民の協力という人的側面を慎重に整備しながら、野外での研究を進めている。また、検体の採取・保管・運搬に関する技術的側面の効率化を図った研究の実施がのぞまれる。前者に関しては、Project Director である CMPE の Bouasy 所長をはじめ、カウンターパートである IPL のスタッフ達が、率先して環境整備を進めているので、これまでのところ順調に調査が進行している。また調査に参加する住民には事前に書面によるインフォームドコンセント(ラオス語)を取得

している。

### ③当初の計画(全体計画)に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト等

#### Output 1 (JICA技術協力プロジェクトの Plan of Operation (PO) の Output番号に対応)

##### 1-1 (POの Activity番号に対応) 研究環境の整備

IPL内に、ラオス初のDNAシークエンサー (Genetic Analyzer) を導入したことをはじめ、本プロジェクトに必要な供与機材 (24機種29台) と実験用消耗品類を本邦調達と現地調達を併用しながら搬入し、研究環境の整備を行った。搬入予定でまだ実際に搬入されていない供与機材は、フィールド調査用車両1台、ドラフトチャンバー1台、LAMP法機器1台、卓上小型遠心機2台であり、台数で計算すれば85.3% (29台/34台) の機材調達が完了したと言える。残りの機材も現在、調達準備を進めており、次年度中には全ての供与機材の調達が完了する見通しである。また本プロジェクトの開始に伴い、これまでラオスになかった医療機器メーカーの代理店の開設 (オリンパス社) や、実験用試薬類の現地調達ルートの拡充が進んでいる。さらにラオス国立パスツール研究所のエンジニアのトレーニングも進んでおり、簡単な電気・水道工事が出来るようになった。またITエンジニアのレベルも向上しDNAシークエンサーのデータを自動でサーバーに保存するシステムの構築や、研究所が保管する全検体のデータをサーバーで記録する (バーコード化) システムの導入も進んでいる。

##### 1-2-1 患者検体の採取方法の改善

患者検体の採取・保管・運搬に関する技術的側面として、血液検体のろ紙採血法はすでに確立されており特に問題はない。またマラリア原虫をより詳細に解析するため生きたまま実験室に持ち帰るために液体窒素タンクの調達を予定している。糞便検体、並びに生きた貝の保管と運搬に関しては今後、クーラーボックスの利用を計画している。本年度は当初の計画を達成出来たとと言える。

##### 1-2-2 検体(血液、糞便)からの寄生虫の分離とDNA抽出

本年度は、8月にラオス中部サバナケット県セポン郡でマラリア調査を、12月に南部チャンパサック県コーン郡Dong Long島で、メコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症の調査を行った。

#### Output 2

##### 2-2 ラオス保健省が収集管理するマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の疫学データ(特に患者数)の収集と分析

本プロジェクトのProject DirectorであるのBouasy所長の協力で、ラオス全域のマラリア患者数データ (県別、郡別) を共有することができた。この疫学データに基づき、本プロジェクトのマラリア調査地域を選定し直し、次年度の調査計画に盛り込んだ。特に南部4県 (サラワン県、セコン県、チャンパサック県、アッタブ県) にマラリア患者が多いことを改めて患者数データで確認することが出来た。メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症に関しては、同センターでも十分に患者数を把握できていないことが判明し、今後、同センターのスタッフと協力しながら患者の発生状況のモニタリングと情報伝達システムの改善を進めていきたい。ラオス保健省が管理する既存の疫学データの収集と分析という点では、当初の計画を達成出来たとと言える。

#### Output 5

##### 5-5 本プロジェクト主催のワークショップの開催(研究成果報告)

平成26年10月には、ほとんどの当該研究参加者が、ラオスの首都ビエンチャンで開催された第8回ナショナル・ヘルス・リサーチ・フォーラムに参加し、ワークショップを開催してSATREPSの紹介と研究進捗状況の発表を行った。本年度は当初の計画を達成出来た。

#### ④カウンターパートへの技術移転の状況

##### Output 5

##### 5-1 共同研究を通じたラオス国立パスツール研究所(IPL)の研究員の能力強化

全活動を通してIPLの研究員の能力強化が勧められていると言える。具体的にはフィールド調査の準備、実施、並びに採取した検体の分析や得られたデータの解析、学術論文やデータベースからの情報収集などである。今後は学術会議などで成果を発表する機会を増やす予定である。また本年度、IPLに導入した供与機材の多くは、メーカーからサービスエンジニアが来て、使用方法に関する講習会が開催された。当初の計画を達成出来たと言える。また本プロジェクトの活動ではないが、IPLでは、全職員を対象にした英会話教室が週2回開催されており、スタッフの英語力は徐々に向上している。

##### 5-3 ラオス人研究者及び研究補助員(ラボテクニシャン)への基礎生物学と分子遺伝疫学研究のトレーニング

本年度はIPLでは行っていなかった糞便からの寄生虫卵検査法であるKato-Katz法を、CMPEに配属されて活動しているJICAシニアボランティアの日本人臨床検査技師(小田容子氏)に指導して頂いた。実験室での分子遺伝疫学研究のトレーニングは、本プロジェクトの長期専門家と短期専門家らにより着実に行われており、当初の計画を達成出来たと言える。

#### ⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開

本研究プロジェクトの研究内容を強化することのできるWHOのプロジェクト、世界パスツールネットワークのプロジェクト、オックスフォード/マヒドン/ウエルカムトラストの研究グループ、わが国の長崎大学・熱帯医学研究所/熱帯医学グローバルヘルス研究科の研究グループ、などとの共同研究体制を模索しない限り、同じフィールドでの競合、さらには研究の遅れの取り戻しが叶わない展開が想定されるようになってきた。個別の研究に関することは後述する。

#### (2) 研究題目 1: マラリア研究

##### ① 研究題目 1 (マラリア研究) の研究のねらい

ラオス南部に拡散する薬剤耐性マラリアの分子遺伝学解析を行い、その科学的知見に基づく流行拡散制御と疾病の制圧に貢献することをねらう。

##### ② 研究題目 1 (マラリア研究) の研究実施方法

上記の様に、IPL と CMPE とが協働して、JICA 専門家が研究をリードし、ラボとフィールドを行ったり来たりしながら、高度な先端研究を展開していく。

##### ③ 研究題目 1 (マラリア研究) の当初の計画 (全体計画) に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

##### Output 1

##### 1-1 研究環境の整備

マラリア感染状況推移の把握を行うためには、カウンターパート機関である CMPE の下にあるマラリ

アネットワーク（各県マラリアセンター、郡マラリア担当）を利用し、また同時にラオス国保健省が研究の中核機関と指定している公衆衛生研究所（NIOPH）と連携・協働する必要がある。また、日本・ラオス保健研究コンソーシウム（JCHR）のパイロットフィールドであるサバナケット県セボン郡を対象としてゆくことが効率的である。

ラオス国は2000年以降大規模なマラリア対策が実施されマラリア患者数は激減しており、全国的に流行していたマラリアが、南部貧困僻地郡のみ対策のターゲット地域となる様に成果を上げている。この様ななかで2013年にマラリア患者数が再び増加し問題となったが、その原因は未だ明らかでない。マラリア対策において根絶まで結び付いた例は少なく、制圧の状況を維持することが重要である。このなかで、本研究の中心となっている薬剤耐性マラリアの出現はその維持を脅かすものであるが、その耐性株の出現に影響すると考えられている不十分な対策状況等の要因を明らかにするための研究環境を整備しておく必要がある。

ラオスにおけるマラリア対策戦略の柱の一つである薬剤浸透性蚊帳は高い配布率が報告されているが、今回の我々の調査では実際には村落ごと、家屋ごとに配布は偏っており、蚊帳の配布が最も重要である貧困層が多い僻地貧困村、貧困家庭が多い家屋への配布が不十分であることを明らかにした。これらによって、配布率100%との報告のなかでも実際にはリスクを抱えている村、家屋があることがあきらかになった。今後、初期診断・治療の状況の把握をし、リスク要因をさらに明らかにしていくことを考えている。

また貧困僻地地域であるベトナム国境地域での調査、国外国内の移動人口のマラリア感染状況の調査計画し、マラリア感染のリスク集団についてその感染実態を明らかにする予定であるが、今年度は国外からの移動人口のマラリア感染状況の調査を開始した。

### 1-2-2 検体(血液、糞便)からの寄生虫の分離とDNA抽出

本年度は、8月にラオス中部サバナケット県セボン郡でマラリア調査を、12月に南部チャンパサック県コーン郡Dong Long島で、メコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症の調査を行った。

マラリア調査ではセボン郡のマラリア流行地域で、297名の村人（マラリア患者と健常者の両方）からろ紙乾燥血液検体を採取した。採取した血液は2つの方法、すなわちマラリア迅速診断キットと遺伝子解析法で診断した。現地で迅速診断キットを用いて検査したところ、5名（1.7%）がマラリア陽性であり、しかも全員が無症状であった（体温が37.1℃以下）。その後、PCR法による遺伝子解析を行った結果、18検体（6.0%）がマラリア原虫DNA陽性であった。その内訳は、熱帯熱マラリア原虫DNA陽性が15検体、三日熱マラリア原虫DNA陽性が2検体、四日熱マラリア原虫DNAが1検体であった（表1）。

**表1 2014年サバナケット県セボン郡のマラリア調査結果**

村	調査人数	迅速診断キット	DNA検体数	PCR法
Kalok Kao	138	0	130	0
Kalouk Mai	63	0	63	3 (2 <i>Pf</i> , 1 <i>Pm</i> )
Kaleng Kang	104	5 ( <i>Pf</i> )	104	15 (13 <i>Pf</i> , 2 <i>Pv</i> )
合計	305	5 (1.6%)	297	18 (6.0%)

*Pf*: *P. falciparum*, *Pv*: *P. vivax*, *Pm*: *P. malariae*

近年、マラリア迅速診断キットの普及により、ラオスのヘルスセンター、郡病院、並びに県病院の検査技師の顕微鏡検査技術とそのモチベーションが低下傾向にある。具体的には、顕微鏡があっても使用しない、または迅速診断キットの結果に顕微鏡検査の結果を合わせるなどである。しかし迅速診断キットでは検出できないマラリア患者、あるいは無症状キャリアが存在することが本解析で明らかとなった。この事実は今後マラリア対策を行う上で非常に重要な課題を提示していると考えられる。

ラオス政府は2030年を目標にマラリアの根絶 (elimination) を目指しているが、そのためにはマラリア迅速診断キットで偽陰性と診断される患者、あるいは無症状キャリアを適切に見つけ出し、治療するシステムを構築することが重要な課題である。そこで次年度からは簡便な遺伝子診断技術であるLAMP法のフィールド応用を計画している。

### Output 3

#### 3-1 薬剤耐性マラリアに関する分子疫学研究

平成25年8月から9月に、ラオス中部サバナケット県セボン郡のマラリア流行地域で、村人（マラリア患者と健常者の両方）から採取したろ紙乾燥血液検体778検体のマラリア遺伝子検査を行った。その結果、50検体（6.4%）がマラリア原虫DNA陽性であった。その内訳は、熱帯熱マラリア原虫DNA陽性が39検体、三日熱マラリア原虫DNA陽性が2検体、熱帯熱マラリアと三日熱マラリア原虫DNAの混合感染が9検体であった。これらのうち熱帯熱マラリア原虫DNAが陽性だった48検体について、アルテミシニン耐性獲得に関与すると報告のあるK13プロペラドメイン遺伝子の解析を行った。その結果、47検体の遺伝子解析に成功し、44検体が野生型（変異なし）で、2検体が野生型と変異型（L488M、S567P）の混合感染で、1検体の変異型（ただしアミノ酸置換は伴わない Q467Q）であった（図1）。ただし今回、K13プロペラドメイン遺伝子内に観察された変異は、アルテミシニン耐性に関与すると報告があるコドンではないので、これらの原虫がアルテミシニン耐性を獲得したかどうかは不明である。

さらに比較対象として平成22年に同じセボン郡で採取した熱帯熱マラリア原虫33検体についても同様の解析を行ったところ、すべて野生型であった。本解析で平成25年の検体に観察された変異はアルテミシニン耐性に関与しているのかどうか不明であるが、平成22年から25年の間に、同一地域内の熱帯熱マラリア原虫集団のK13プロペラドメイン遺伝子に変異が観察されたので、本遺伝子に変異が生じやすい、あるいは他の流行地域から遺伝的に異なる原虫集団が流入している可能性が示唆された。したがってラオスにおけるアルテミシニン耐性原虫の発生と拡散を封じ込めるために、今後の動向を慎重にモニターしていくことが重要だと考えられる。本年度は当初の計画を達成出来たと言える。次年度は、サバナケット県の他に、カムアン県、サラワン県、セコン県、チャンパサック県、アッタプ県を調査地域に加える計画である。

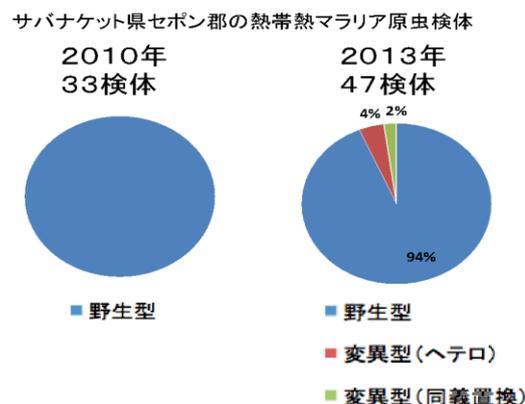


図1 アルテミシニン耐性関連遺伝子(K13プロペラドメイン)の変異の有無

#### ④研究題目1(マラリア研究)のカウンターパートへの技術移転の状況

##### Output 5

##### 5-1 共同研究を通じたラオス国立パスツール研究所の研究員の能力強化

IPL 昆虫学ラボと協働したマラリア媒介蚊からのマラリア原虫の検出法と、その種同定法の技術移転をおこなった。具体的な技術移転内容は：

- (a) 蚊からの DNA 抽出法の評価
- (b) マラリア原虫の分子生物学的高感度スクリーニング法の技術移転
- (c) マラリア原虫の分子生物学的種同定法の技術移転

DNA 抽出法はマルチプレックス法を採用し、抽出した DNA を分子生物学的高感度スクリーニング法で評価した。一匹の感染蚊から抽出した DNA から、マラリア原虫の遺伝子を検出することができた。

高感度スクリーニング法は、IPL に今般調達したリアルタイム PCR 機器を使用した。陰性・陽性コントロールは、それぞれ陰性・陽性を示し、正常に PCR が動いていることが証明された。陽性サンプルを用いて、マラリアの 5 種類の種同定 PCR 法の技術移転を実施した。成果として、1. 全ての行程は、ステップごとにカウンターパートによる再現性を確認した。2. 技術移転報告を最終日に実施した。ラオス国内におけるマラリア媒介蚊の分布を解析することで、どのような種類の蚊にマラリア原虫が潜むかが解明され、今後の予防対策の重要なキーポイントとなり得る。

##### 5-2 ラオス研究者の国立国際医療研究センター(NCGM)への招聘

平成26(2106)年4月から5月にかけて、IPLのラオス人若手研究員1名をJST経費でNCGM研究所へ招聘し、マラリアの診断法、*in vitro*培養法、*in vitro*薬剤感受性試験法、並びに遺伝子解析手法習熟の研修を行った。

##### 5-4 CMPEや保健省の政策指導者の研修を企画し、彼らが健康増進計画や戦略を立てる能力を強化する マラリア対策におけるコミュニティ・ヘルスワーカーの役割

(a) Dr. Bouthavong Phengsisomboun, Deputy Director, Department of Training and Research, Ministry of Health: Dr. Bouthavong は SATREPS のカウンターパートであり、ヘルスワーカーのトレーニングと研究部門の責任者である。昨年より、これまで無給だった Village Health Volunteer を有給のヘルスワーカーにしようとしているものの、その評価はまだなされていない。マラリア対策を遠隔地で行っていく上、草の根レベルで働くコミュニティ・ヘルスワーカーの評価が緊急の課題であることを確認した。

(b) Dr. Ko Eunyong, Team Leader of Maternal and Child Health Division, World Health Organization, Representative Office in Lao People's Democratic Republic: WHO ラオス事務所の Dr. Ko は同事務所母子保健部の責任者である。同時にコミュニティ・ヘルスワーカーの質の向上をも目指しており、上記の Dr. Bouthavong との協力の下、研究を推進することを期待していた。

(c) Dr. Chitsavang Chanthavisouk, Malaria Program Officer, World Health Organization, Representative Office in Lao People's Democratic Republic: 同じく WHO のマラリア専門家である Dr. Chitsavang はラオス南部のマラリア対策だけではなく、北部の住民に対するマラリア対策や健康教育の推進もまた重要であることを強調していた。また現在のラオス・マラリア政策は 2020 年までのものであり、SATREPS の成果が、それ以降の新たなマラリア対策のための重要なエビデンスをもたらしてくれることを期待していた。保健省だけではなく、WHO と随時連携をとっていくことが本研究の成果を

高める上で重要である。

#### 5-5 ラオス国家健康研究フォーラム(the Laos National Health Research Forum: NHRF)でワークショップを開催し、研究活動の成果を発表する。

プロジェクトでは、NIOPHがJCHRの支援で実施しているNHRFにおいて、マラリア研究セッションを2013年度より開催してきている。NIOPHは社会学的な公衆衛生研究を中心に実施しており、生物学的研究を中心に実施するパスツール研究所に隣接し相互補完的に公衆衛生研究が実施されることが期待されている。

CMPEの下にあるマラリアネットワーク（各県マラリアセンター、郡マラリア担当）のカウンターパートに対して、社会学的研究手法の移転と研究結果のフィードバックを行っている。さらに同研究会を開催支援することによってカウンターパートとそれ以外の関係者への還元も図っている。

### ⑤研究題目1(マラリア研究)の当初計画では想定されていなかった新たな展開

#### 1 Global Fundとの協働

世界エイズ・結核・マラリア対策基金（Global Fund）のラオスにおける次期マラリア対策計画申請書（Concept Note）に、マラリアの遺伝子解析を、JICAとラオス国立パスツール研究所が行う予定と明記された。本申請書が採択されれば、より広範囲で多数のマラリア患者検体をラオス全土（特に南部）から採取・解析することが可能となり、より詳細な薬剤耐性マラリアの発生・拡散状況をラオス保健省と共にモニターすることが出来ると期待される。

#### 2 サルマラリア原虫(*Plasmodium knowlesi*)の人への感染状況の調査研究

近年、東南アジア諸国（マレーシア、ベトナム、タイ、カンボジア）でサルマラリア原虫の一種である*P. knowlesi*が人に感染する症例が増加しており、特にマレーシアでは死亡例も報告されている。通常、野生のサルは森林地帯に棲息しており人の生活圏とは一定の距離が保たれていたと推察されるが、近年、活発な森林開発やエコツーリズムの普及により、人が森林地帯、すなわち野生のサルの生活圏に入る機会が増加し、感染例が増えていると考えられる。*P. knowlesi*は、比較的症状が軽い四日熱マラリアの原虫と形態が類似しているため、間違った診断により治療が遅れる危険がある。したがって、より迅速で信頼性の高い遺伝子診断技術の導入が求められると同時に、その分布状況を調べる必要がある。しかしラオスからはまだ正式な報告がなく、その分布状況は不明である。さらに近年、ラオスでは、森林開発、ゴムのプランテーション、鉱山開発、並びに欧米からの旅行者（エコツーリズム）が増えており、野生のサルと人の距離が近づいていると推察される。そこで本プロジェクトの活動として、次年度から*P. knowlesi*の調査研究を行う計画である。なお遺伝子診断に必要なPCR法、並びにLAMP法のプライマーはすでに用意できている。

#### 3 G6PD活性の調査研究

ラオス保健省からの要望で、ラオス人のG6PD活性調査を研究項目に加えた。G6PDは、glucose-6-phosphate dehydrogenaseという人の赤血球にある解糖系に関与する酵素の一種で、生まれつきこの酵素活性が低い人が世界のマラリア流行地域には一定の割合で存在することが知られている。この酵素活性が低い人（G6PD欠損症）が、抗マラリア薬プリマキンの内服すると溶血性貧血を発症することがあり非常に危険である。プリマキンは三日熱マラリアの根治療法や、熱帯熱マラリアの生殖母体（ガメトサイト）を叩く効果（伝播阻止）がある唯一の抗マラリア薬であるが、ラオスではG6PD欠損症の頻度に関する基礎データがないため、その使用が認められていない。近年、ラオスで増加傾向にある

三日熱マラリアの対策や、熱帯熱マラリアの根絶 (elimination) に向けて、ラオス政府はプリマキンの導入を計画しているため、次年度からマラリア流行地域住民のG6PD活性の調査を行う計画である。なお検査には日本のメーカーが製造販売しているG6PD活性キット (同仁堂) を用いる予定である。

### (3) 研究題目2:メコン住血吸虫研究

#### ①研究題目2(メコン住血吸虫研究)の研究のねらい

ラオスの保健衛生上容認しがたい疫学的問題であると同時に、経済的損失にも無視できない影響を及ぼしているメコン住血吸虫症の分子遺伝学解析を行い、その科学的知見に基づく流行拡散制御と疾病の制圧に貢献することをねらう。

#### ②研究題目2(メコン住血吸虫研究)の研究実施方法

フィールドでの医療スタッフと地域住民の協力という人的側面を慎重に整備しながら、野外での研究を進めている。当該 SATREPS の Project Director である CMPE の Bouasy 所長をはじめ、カウンターパートである IPL のスタッフ達が、率先して研究環境整備を進めているので、これまでのところ順調に調査が進行している。また調査に参加する住民には事前に書面によるインフォームドコンセント (ラオス語) を取得している。

#### ③研究題目2(メコン住血吸虫研究)の当初の計画(全体計画)に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

##### Output 1

##### 1-3-1 メコン住血吸虫の中間宿主貝サンプルの採集

本年度は、メコン住血吸虫・タイ肝吸虫感染のリスクマップ作成のための初動実地調査を行った。今回の調査は乾季である12月にラオス南部のコーン島周辺で行った。特に、事前情報において、メコン住血吸虫の感染が観察されていたDong Long島を調査地として選定した。方法としては、当該島にて学童200人程度から糞便を回収した。

##### 1-3-2 メコン住血吸虫の中間宿主貝サンプルからのDNA抽出とLAMP解析

集められた糞便は、3つの方法で解析を行った。1つ目は広く糞便検査に用いられているKato-Katz法であり、現地で糞便回収後すぐに行った。2つ目は、集卵法であり、現地でホルマリン溶液にて固定を行い、ラボにて遠心後、鏡検を行った。3つ目はDNA検出法であり、糞便はそのままラボに持ち帰り、ラボにて簡易DNA抽出を行い、PCR法とLAMP法を実施した。

今回の計画にあたり、メコン住血吸虫感染をLAMP法にて検出する新たな方法を検討した。その結果、1pgの感度でDNAを検出するLAMP法を初めて確立した。糞便検査の結果、どの方法においても、メコン住血吸虫の感染は検出できなかった。このことから、当該島におけるメコン住血吸虫の流行は、これまでの対策等により減少していると考えられた。

生存貝110個について、メコン住血吸虫の感染は確認されなかった。しかし、貝の種同定のためにシーケンス解析を行った結果、この地域に生息している貝はNeotricular属よりは、Manningiella属の貝がほとんどであった。このことから、この地域で媒介している中間宿主貝について、詳しく調査する必要があると考えられた

#### ④研究題目2(メコン住血吸虫研究)のカウンターパートへの技術移転の状況

##### Output 5

##### 5-1 共同研究を通じたラオス国立パスツール研究所の研究員の能力強化

カウンターパートへの教育訓練として、糞便検査法としての Kato-Katz 法の訓練と、集卵法との比較研究を行うための検便についてのトレーニングを行った。また、DNA 抽出での LAMP 法についての、理論と方法についての説明を行うことで、今後、現地での導入に向けた基盤を形成した。

#### ⑤研究題目2(メコン住血吸虫研究)の当初計画では想定されていなかった新たな展開

当初計画では、流行地におけるメコン住血吸虫の感染リスクマップを作成するためのパイロット地域を選定する予定であったが、メコン住血吸虫の感染者が検出されなかった。今後は、さらに場所を選定し、流行地のマッピングを行う必要がある。また、中間宿主貝の情報が不足していることから、遺伝子解析等を駆使することで、媒介するベクターとして重要な巻貝について、その生息地・感染率を PCR 法や LAMP 法を用いて調べる必要性が生じた。

#### (4)研究題目3:タイ肝吸虫症研究

##### ①研究題目3(タイ肝吸虫症研究)の研究のねらい

ラオスの保健衛生上容認しがたい疫学的問題であると同時に、経済的損失にも無視できない影響を及ぼしているタイ肝吸虫症の分子遺伝学解析を行い、その科学的知見に基づく流行拡散制御と疾病の制圧に貢献することをねらう。

##### ②研究題目3(タイ肝吸虫症研究)の研究実施方法

フィールドでの医療スタッフと地域住民の協力という人的側面を慎重に整備しながら、野外での研究を進めている。当該 SATREPS の Project Director である CMPE の Bouasy 所長をはじめ、カウンターパートである IPL のスタッフ達が、率先して研究環境整備を進めているので、これまでのところ順調に調査が進行している。また調査に参加する住民には事前に書面によるインフォームドコンセント(ラオス語)を取得している。

##### ③研究題目3(タイ肝吸虫症研究)の当初の計画(全体計画)に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

本年度は、12月に南部チャンパサック県コーン郡Dong Long島で、メコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症の調査を行った。

メコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症の調査では、Donetharn Secondary Schoolの生徒(11歳から14歳)約200名を対象に糞便検体を採取し、その場でKato-Katz法による寄生虫卵検査を行い、その後、検体を実験室に持ち帰ってホルマリン洗剤法(集卵法)による寄生虫卵検査を行った。その結果、いずれの検査方法でも約40%の生徒が何らかの寄生虫に感染していることが明らかとなり、そのうち約25%がタイ肝吸虫に感染していることが明らかとなった(表2)。

表2 2014年チャンパサック県コーン郡の糞便寄生虫卵検査結果

Kato-Katz 法			ホルマリン洗剤法		
内訳	生徒数	%	内訳	生徒数	%
<i>Opisthorchis viverrini</i>	38	19.8	<i>Opisthorchis viverrini</i>	41	21.5
Hookworm	25	13.0	Hookworm	25	13.1
Taenia	1	0.5	<i>Trichuris trichiura</i>	1	0.5
Enterobius	1	0.5	Taenia	1	0.5
Ov + Hookworm	8	4.2	Giardia	1	0.5
Ov + Trichostrongylus	1	0.5	Ov + Hookworm	5	2.6
Ov + Enterobius	1	0.5	Ov + Giardia	2	1.0
Hookworm + Taenia	1	0.5	Ov + Hookworm + Giardia	1	0.5
寄生虫卵陰性	116	60.4	寄生虫卵(シスト)陰性	114	59.7
Total	192	100.0	Total	191	100.0

Ov. *Opisthorchis viverrini*

一方で、すでに報告のあるタイ肝吸虫に対するLAMP法を行った結果、6.7%程度の陽性率であった。この検出率が他法と比べて低いことに関して、2つの理由が考えられた。1つ目にLAMP法の感度が十分ではない可能性が考えられ、今後は用いる糞便量の増加を行うなどの修正を行い、感度の増強を検討する予定である。また、他の鏡検による方法では、タイ肝吸虫に類似した腸管寄生吸虫の虫卵と混同している可能性があり、結果偽陽性が多く観察されている可能性である。この点について、今後、糞便内の虫卵からDNAを抽出し、シーケンス等により虫体の種同定を行うことで、正しいタイ肝吸虫の感染率を算出する必要があると考えている。しかし今回の調査で、LAMP法によりタイ肝吸虫感染を検出できたことは、LAMP法のリスクマップ適応についての手応えとなった。また現地で中間宿主貝の調査も同時に行った。

今回の調査ではメコン住血吸虫卵は観察されなかった。コーン郡では毎年、年末に駆虫薬（プラジカンテル）の集団投与（Mass Drug Administration: MDA）を行っており、今回の調査はその直前であった。したがって約40%の生徒は前年のMDA後に、タイ肝吸虫をはじめとした寄生虫に再感染しているものと推察された。この成果はラオス政府が今後の対策方針を構築する上で非常に重要なデータだと考えられる。タイ肝吸虫はラオス人が好むコイ科の淡水魚の生食により感染するので、その対策には食習慣の改善を含めた健康教育も重要である。メコン住血吸虫症に関しては、MDAにより学童の患者数が減少しているものと推察された。今後は成人も調査対象に含めてメコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症の流行状況を調査する計画である。本年度は当初の計画を達成出来たとと言える。

#### ④研究題目3(タイ肝吸虫症研究)のカウンターパートへの技術移転の状況

##### Output 5

##### 5-1 共同研究を通じたラオス国立パスツール研究所の研究員の能力強化

カウンターパートへの教育訓練として、糞便検査法としてのKato-Katz法の訓練と、集卵法との比較研究を行うための検便についてのトレーニングを行った。また、DNA抽出でのLAMP法についての、理論と方法についての説明を行うことで、今後、現地での導入に向けた基盤を形成した。

##### 5-4 CMPEや保健省の政策指導者の研修を企画し、彼らが健康増進計画や戦略を立てる能力を強化する

Dr. Paul Brey, Director of the IPL : タイ肝吸虫対策推進の上で、いかに住民の行動を変容させるかが重要であるとの認識を共有した。また、そのための方法としてポジティブ・デビエンスアプロー

チを紹介し、それが行動変容に及ぼす効果を知ることは重要な課題であることを確認した。

### ⑤研究題目3(タイ肝吸虫症研究)の当初計画では想定されていなかった新たな展開

特記することはない

## II. 今後のプロジェクトの進め方、および成果達成の見通し (公開)

現段階で軌道修正が必要な点は、各研究題目に於いて特段に認めない。上位目標であるところの「ラオスの自立的・持続的な科学水準の向上により、マラリア及び他の重要寄生虫症の流行拡散制御方法が確立し、人びとへの疾病負荷が容認されるレベル以下に維持される」を達成するには、いまだに道は遠いと認識するが、着実な研究成果を上げていくことで達成の明るい見通しが得られるものと考えている。

特に、日本人研究者(石上盛敏 NCGM 上級研究員)を早々にラオス国に常駐することが出来たので、調達研究備品を最大限活用して、研究成果の短期目標を達成することに傾注する。プロジェクトの進め方を、研究題目ごとにまとめる。

### 研究題目1: マラリア研究

IPLとCMPPEの研究者、地方保健所の行政官、およびWHOなどと協力しながら、マラリア流行地域での疫学調査、並びに検体とベクター(ハマダラカ)の採取、分類、保管管理を進める。

- ① LAMP法の研究開発、並びにLAMP法と従来の診断方法(ギムザ染色した末梢血薄層・厚層塗抹標本の顕微鏡検査、迅速診断キット)との併用によるマラリア流行地域での疫学調査
  - ② 精確な流行状況(罹患者数とベクター分布とその寄生率)の把握(流行地域マップの作成)、並びに対策に伴うマラリア原虫集団およびハマダラカ集団の遺伝的構造変化の経時的・空間的モニタリング
  - ③ 薬剤耐性マラリアの分布・拡散状況の把握
  - ④ 対策後の再流行をモニターする手法の確立とそのための人材育成
- 研究成果は、適宜、国際専門誌に論文として発表する。

### 研究題目2: メコン住血吸虫症研究

ラオス保健省、およびWHOと協力しながら、メコン住血吸虫症流行地域での疫学調査、並びに検体とベクター(淡水産貝類)の採取、保管管理を行う。淡水産貝類の分類と同定を行う。

- ① LAMP法の研究開発、並びにLAMP法と従来の診断方法(糞便中の寄生虫卵の顕微鏡検査、ELISA)との併用によるメコン住血吸虫症流行地域での疫学調査とサンプリング
  - ② メコン住血吸虫の集団遺伝学的解析を行うための分子マーカー(マイクロサテライトDNA・SNPs)の探索
  - ③ 精確な流行状況(罹患者数とベクター分布とその寄生率)の把握(流行地域マップの作成)、並びに対策に伴うメコン住血吸虫集団の遺伝的構造変化の経時的・空間的モニタリング
  - ④ 対策後の再流行をモニターする手法の確立とそのための人材育成
- 研究成果は、適宜、国際専門誌に論文として発表する。

### 研究題目3: タイ肝吸虫症研究

ラオス保健省、およびWHOと協力しながら、タイ肝吸虫症流行地域での疫学調査、並びに検体・ベ

クター（淡水産貝・淡水産魚）の採取、保管管理を行う。第一中間宿主の淡水産貝類・第二中間宿主の淡水産魚類の分類と同定を行う。

- ① LAMP 法の研究開発、並びに LAMP 法と従来の診断方法（糞便中の寄生虫卵の顕微鏡検査）との併用によるタイ肝吸虫症流行地域での疫学調査とサンプリング
- ② タイ肝吸虫の集団遺伝学的解析を行うための分子マーカー（マイクロサテライト DNA・SNPs）の探索
- ③ 精確な流行状況（罹患者数とベクター分布とその寄生率）の把握（流行地域マップの作成）、並びに対策に伴うタイ肝吸虫集団の遺伝的構造変化の経時的・空間的モニタリング
- ④ 対策後の再流行をモニターする手法の確立とそのための人材育成

研究成果は、適宜、国際専門誌に論文として発表する。

最終年度にはラオス国にて国際会議を主催し、全成果を盛り込んだ研究報告書（英文）をラオス人研究者と日本人研究者とで共同作成する。なおこの報告書は、冊子体の他に PDF 版も作成し、インターネット上から無償でダウンロードできるようにする。

### Ⅲ. 国際共同研究実施上の課題とそれを克服するための工夫、教訓など（公開）

#### プロジェクト全体および個別の研究題目を含む

##### Output 1（PDMのOutput番号に対応）

###### 1-1（POの Activity番号に対応） 研究環境の整備

IPL内に、ラオス初のDNAシーケンサー（Genetic Analyzer）を導入したことをはじめ、本プロジェクトに必要な供与機材（24機種29台）と実験用消耗品類を本邦調達と現地調達を併用しながら搬入し、研究環境の整備を行った。

問題点としては、同機材を安定した電源で稼働できる環境をIPLの中に作り上げることであるが、空調システムの工事や安定器の導入などで、それを達成するべく最大限の工夫・努力をしている。

また機材導入時の専門テクニシャンをメーカーから派遣してもらうときに、同時にIPLのテクニシャンへのオペレーション研修も合わせて行うことで、先端機材の適切な使用が早まることとなった。

###### 1-2-1 患者検体の採取方法の改善

患者検体の採取・保管・運搬に関する技術的側面に、液体窒素タンクの調達や、糞便検体並びに生きた貝の保管と運搬に関しては今後、クーラーボックスの利用を計画し効率化を図っている。

###### 1-2-2 検体（血液、糞便）からの寄生虫の分離とDNA抽出

CMP Eの下部組織の応援を得て効率的に行うことが出来ている。

##### Output 2

###### 2-2 ラオス保健省が収集管理するマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の疫学データ(特に患者数)の収集と分析

本プロジェクトのProject DirectorであるのBouasy所長の協力で、ラオス全域のマラリア患者数データ（県別、郡別）を共有することができた。ラオス保健省が管理する既存の疫学データの収集と分析という点では、予定を超える格段の成果を得ている。

##### Output 3

###### 3-1 薬剤耐性マラリアに関する分子疫学研究

当該テーマは、此処1年余りの短期間に、世界で激しい競争が展開される研究テーマとなり、具体的にはオックスフォード／マヒドン／ウエルカムトラストの研究グループが世界でトップの研究成果を著し、一部ラオスのデータも扱っている。彼らとの共同研究を語る必要がある。

#### Output 5

##### 5-1 共同研究を通じたラオス国立パスツール研究所(IPL)の研究員の能力強化

全活動を通してIPLの研究員の能力強化が勧められていると言える。カウンターパートの人数が、まだプロジェクトが開始したばかりで3人と少ないこと。この克服に取り込む必要がある。

##### 5-2 ラオス研究者の国立国際医療研究センター(NCGM)への招聘

修士課程を修了した研究者も散見されるので、NCGMなどに招聘して学位(博士)の取得に協力することが出来るとよい。

##### 5-3 ラオス人研究者及び研究補助員(ラボテクニシャン)への基礎生物学と分子遺伝疫学研究のトレーニング

実験室での分子遺伝疫学研究のトレーニングは、本プロジェクトの長期専門家と短期専門家、さらにJICAシニアボランティアらにより着実に行われており、効率的に計画を達成出来たとと言える。

##### 5-4 CMPEや保健省の政策指導者の研修を企画し、彼らが健康増進計画や戦略を立てる能力を強化する

マラリア対策を遠隔地で行っていく上で、草の根レベルで働くコミュニティ・ヘルスワーカーの評価が緊急の課題であることを確認した。当該研究をすすめる。

また、吸虫類の対策に、いかに住民の行動を変容させるかが重要であるとの認識が共有されるが、そのための方法としてポジティブ・デビエンスアプローチが行動変容に及ぼす効果があると考えている。新しい研究アプローチを模索したい。

##### 5-5 本プロジェクト主催のワークショップの開催(研究成果報告)

平成26年10月に第8回NHRFが開催され、ワークショップを主催してSATREPSの紹介と研究進捗状況の発表を行った。有効な成果のアピールとなったと考える。平成27年度も積極的にこの機会の利用を図る。

## IV. 社会実装(研究成果の社会還元) (公開)

### (1) 成果展開事例

- ラオス保健省と共同して、世界エイズ・結核・マラリア対策基金(Global Fund)のラオスにおける次期マラリア対策計画申請書(Concept Note)に、マラリアの遺伝子解析を、JICAとラオス国立パスツール研究所が行う予定と明記された。当該プロジェクトが無ければ、ラオス国としてGlobal Fundの基金を得ることは究めて困難である。本申請書が採択されれば、具体的にマラリア対策の行政サービスに反映される成果が得られることとなる。
- 当該プロジェクトによって、NCGMの海外拠点研究展開能力が日本国内で高く評価され、NCGM医師主導治験におけるマラリアワクチンFIH試験のPhase II, Phase IIIのポテンシャルのあるフィールドとして認識されている。これにより、非臨床試験の予算をAMEDから受託することができた。

### (2) 社会実装に向けた取り組み

- ・ 本プロジェクトの成果を提供することで、長期専門家の石上NCGM上級研究員は、常にラオス国保健省のマラリア対策専門家会議に臨席し、相手国政府のマラリア対策に関する政策策定に日常的に関与し始めている。
- ・ 得られた成果や概要の報告を、世界寄生虫学会（メキシコ、2014）、や日本寄生虫学会、日本熱帯医学会などで行い、わが国のプレゼンスを示しながら世界関係機関との調整を図っている。

## V. 日本のプレゼンスの向上（公開）

JICAの調達備品がほぼ整ったことを節目として、平成27年2月25日に、IPLにおける当該SATREPSの研究スペースのOfficial Opening 記念式典を開催した。ポンメック前保健大臣、岸野日本国ラオス全権大使の光臨を受け、その様子はVientiane Times、ならびにラオス国営放送で大きく取り上げられて報道された。相手国エクサバン保健大臣からも謝意と今後の期待が述べられ、式典にはメッセージが送られた。関連保健局局長級、JICA関係者、大使館関係者など70人がお祝いに駆けつけていただき、研究室の内覧会も行い、大いにわが国のプレゼンスの向上に寄与できたと考えている。

## VI. 成果発表等（公開）

## VII. 投入実績（非公開）

## VIII. その他（公開）

なし

以上

VI(1)(公開)論文発表等

	国内	国際
原著論文 本プロジェクト期間累積件数	0	0

①原著論文(相手側研究チームとの共著論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記)

論文数 0 件  
 うち国内誌 0 件  
 うち国際誌 0 件  
 公開すべきでない論文 0 件

②原著論文(相手側研究チームとの共著でない論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記)

論文数 0 件  
 うち国内誌 0 件  
 うち国際誌 0 件  
 公開すべきでない論文 0 件

	国内	国際
その他の著作物 本プロジェクト期間累積件数	1	0

③その他の著作物(相手側研究チームとの共著のみ)(総説、書籍など)

著者名,タイトル,掲載誌名,巻数,号数,頁,年		出版物の 種類	発表日 ・出版日	特記事項

著作物数 0 件  
 公開すべきでない著作物 0 件

④その他の著作物(相手側研究チームとの共著でないもの)(総説、書籍など)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ		出版物の 種類	発表日 ・出版日	特記事項
狩野繁之. 世界に広がるトロピカルディズーゼー-マラリア. 化学療法の領域. 2013, 29 巻, 8号, 52-59.		専門誌	出版済み	

著作物数 1 件  
 公開すべきでない著作物 0 件

⑤研修コースや開発されたマニュアル等

研修コース概要(コース目的、対象、参加資格等)、研修実施数と修了者数	開発したテキスト・マニュアル類	特記事項
マラリア媒介蚊からの分子生物学的なマラリア原虫検出法の技術移転		蚊から抽出したDNAを用いて、その中に潜むマラリア原虫を高感度に検出し、ラオス国におけるマラリア原虫陽性蚊の分布を調査研究する目的

VI(2)(公開)学会発表

	国内	国際
招待講演 本プロジェクト期間累積件数	0	3
口頭発表 本プロジェクト期間累積件数	0	0
ポスター発表 本プロジェクト期間累積件数	0	1

①学会発表(相手側研究チームと連名のもののみ)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国内/ 国際の	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
2014	国際学会	発表者: 狩野繁之(国立国際医療研究センター、ラオス国立パスツール研究所)、石上盛敏(国立国際医療研究センター、ラオス国立パスツール研究所)、中津雅美(国立国際医療研究センター、ラオス国立パスツール研究所)、小林潤(琉球大学)、野中大輔(琉球大学)、渡部久実(琉球大学)、T. Pongvongsa(マラリア学、寄生虫学、昆虫学ステーション、サバナケット県、ラオス保健省)、P. Phongmany(サバナケット県保健局、ラオス保健省)、B. Hongvanthong(マラリア学、寄生虫学、昆虫学センター、ラオス保健省)、P. Brey(ラオス国立パスツール研究所)、タイトル: <b>Molecular and genetic epidemiology of chloroquine resistant Plasmodium falciparum in Lao PDR under SATREPS project.</b> 学会名: 13th International Congress of Parasitology、場所: メキシコシティ、メキシコ、日時: 2014年8月10日~15日			○
2014	国際学会	Moritoshi Iwagami (Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine (NCGM), Japan), Masami Nakatsu (NCGM), Daisuke Nonaka (Univ. Ryukyus, Japan), Tiengkham Pongvongsa(Malaria Station, Savannakhet Provincial Health Department, Savannakhet, Lao PDR) Hisami Watanabe (Univ. Ryukyus, Japan), Jun Kobayashi (Univ. Ryukyus, Japan), Futoshi Nishimoto (National Museum of Ethnology, Osaka, Japan), Kazuhiko Moji (Graduate School of International Health Development, Nagasaki University, Japan), Panom Phongmany (Savannakhet Provincial Health Department, Savannakhet, Lao PDR), Bouasy Hongvanthong (Center for Malariology, Parasitology and Entomology (CMPE), Vientiane, Lao PDR, Paul Brey (Institut Pasteur du Laos, Vientiane, Lao PDR), Shigeyuki Kano (NCGM): <b>Genetic Epidemiology of drug resistant malaria in Lao PDR</b> , The 8th Laos National Health Research Forum, Vientiane, October 16, 2014	○		
2014	国際学会	Shigeyuki Kano (Research Institute, National Center for Global Health and Medicine (NCGM), Japan), Moritoshi Iwagami (NCGM), Bouasy Hongvanthong (Center for Malariology, Parasitology and Entomology (CMPE), Vientiane, Lao PDR), Paul Brey (Institut Pasteur du Laos (IPL), Vientiane, Lao PDR): <b>The project for development of innovative research technique in genetic epidemiology of malaria in Lao PDR for containment of its expanding endemicity</b> , The 8th Laos National Health Research Forum, Vientiane, October 16, 2014	○		
			2	0	1件

②学会発表(相手側研究チームと連名でないもの)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国内/ 国際の	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
2014	国際学会	狩野繁之(国立国際医療研究センター、ラオス国立パスツール研究所)、タイトル: Spread of malaria drug resistance in SE Asia. 学会名: Research Week for Development、Institut francais、場所: ビエンチャン、ラオス、日時: 2014年10月13日~15日	○		
			1	0	0件

VI(3) (特許出願した発明件数のみを公開し、他は非公開)特許出願

①国内出願  
国内特許出願数 0 件

②外国出願  
外国特許出願数 0 件

#### VI(4) (公開)受賞等

・本年度のプロジェクトの活動に係わる受賞や新聞報道等を、時系列に記入ください。

##### ①受賞 1件

年度	賞の名称	業績名等 (「〇〇の開発」など)	受賞日	受賞者	主催団体	プロジェクトとの関係 (選択)	特記事項
2014	日本熱帯医学会賞	マラリア対策の自然科学研究、社会科学研究、政策医療研究開発における特筆し	2014.11.2	狩野繁之	日本熱帯医学会	3.一部当課題研究の成果が含まれる	日本熱帯医学会最高賞

##### ②マスコミ(新聞・TV等)報道(プレス発表をした場合にはその概要もお書き下さい) 2件

年度	掲載媒体名	タイトル/見出し等	掲載日	掲載面	プロジェクトとの関係 (選択)	特記事項
2014	Lao National TV(テレビ)	The Lao-Japan Parasitology Laboratory officially launches	2014年2月25日	News番組	1.当課題研究の成果である	本プロジェクトの供与機材搬入がほぼ完了し、研究体制が整ったので、ポンメック前ラオス保健大臣、岸野駐ラオス日本大使らを招待して本プロジェクト研究室のオープニングセレモニーを行った。
2014	Vientiane Times(英字新聞)	Lao-Japan launch new laboratory for parasites	2014年2月26日	第2面	1.当課題研究の成果である	本プロジェクトの供与機材搬入がほぼ完了し、研究体制が整ったので、ポンメック前ラオス保健大臣、岸野駐ラオス日本大使らを招待して本プロジェクト研究室のオープニングセレモニーを行った。

VI(5) (公開)ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等の活動

①ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2014年7月10日	JST理事 外村正一郎氏との面会 (要人との面会)	ラオス		JST理事の外村氏がラオス国立パスツール研究所を訪問し、石上が本プロジェクトの紹介と実験室の案内を行った。外村氏から「日本人研究者がラオスに根を下ろして活躍しているのを大変嬉しく思う。ラオス人研究者を育てながら良い成果を出してほしい」とのコメントを頂いた。
2014年10月16日・17日	第8回ラオスヘルスリサーチフォーラム (ワークショップ)	ラオス	約100名	同フォーラムで、本プロジェクトが主体となってマラリア研究に関するワークショップを開催した。チーフアドバイザーの狩野とProject ManagerのBreyが共同座長をし、狩野と石上が本プロジェクトの紹介と研究成果を発表した。その後他の演者4名とラオスの薬剤耐性マラリアの対策についてディスカッションを行った。
2014年10月17日	ラオスの国会議員 Prof. Dr. Phonethep Pholsena氏との面会 (要人との面会)	ラオス		Pholsena氏がラオス国立パスツール研究所を訪問し、石上が本プロジェクト紹介と実験室の案内を行った。Pholsena氏から「日本からの援助に感謝する。ラオス国民の健康のために頑張してほしい」とのコメントを頂いた。
2014年10月18日	ビエンチャン日本語補習校の課外授業(理科) (アウトリーチ活動)	ラオス	生徒約30名、 その保護者と教員4名	石上がビエンチャン日本語補習校の課外授業(理科)の講師として、ビエンチャンに在住する日本大中小中学生約30名を対象に、本プロジェクトの紹介とラオスの寄生虫症の現状と予防方法について授業を行った。授業には保護者と教員も参加し、生徒と保護者、並びに教員からたくさんの質問を受けた。
2014年10月24日	Alpha International Montessori Schoolで講演 (アウトリーチ活動)	ラオス	保護者約20名と教員10名	石上がビエンチャンにあるインターナショナルスクールで、保護者と教員を対象に、感染症に関する講演を行った。特にラオスで流行する寄生虫疾患とウイルス性疾患等の現状と予防方法について講演を行った。
2014年12月9日	Dontharn Secondary Schoolでメコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症の 予防と検査の意義について説明 (アウトリーチ活動)	ラオス	生徒(11歳から15歳) 約200名と教員6名	メコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症の高度流行地域であるラオス南部チャンバサック県コーン島で、学校の生徒を対象に上記2疾患の調査(糞便検査)を行った。この時、本プロジェクトのカウンターパートであるラオス国立パスツール研究所のスタッフとマラリア学、寄生虫学、昆虫学センターのBouasy 所長(Project Director)が、全生徒を対象に、上記2疾患の予防方法と検査の意義についてラオス語で説明を行った。192名(96%)の生徒が、翌日に糞便検体を提出してくれた。
2015年1月26日	マラリア媒介蚊からの分子生物学的なマラリア原虫検出法の技術 移転	ラオス	2名	蚊から抽出したDNAを用いて、その中に潜むマラリア原虫を高感度に検出し、ラオス国におけるマラリア原虫陽性蚊の分布を調査研究する目的
2015年3月13日	慶應大学医療系学部の「ラオス・プライマリヘルスケア保健医療 チーム」にラオスの寄生虫症の講義と本プロジェクトの紹介 (アウトリーチ活動)	ラオス	学生16名と引率教員4名	慶應大学医療系学部(医学部、看護医療学部、薬学部)の学生16名を対象に、石上が本プロジェクトの紹介とラオスの寄生虫症の現状と課題について講義を行った。またラオス国立パスツール研究所のSATREPS実験室の見学を行い、科学・技術研究の重要性について説明を行った。

②合同調整委員会開催記録(開催日、出席者、議題、協議概要等)

年月日	出席者	議題	概要
2015年2月25日	狩野繁之(国立国際医療研究センター、ラオス国立パスツール研究所)、石上盛敏(国立国際医療研究センター、ラオス国立パスツール研究所)、神馬征峰(東京大学)、牧本小枝(JICAラオス事務所)、青木雅基(JICAラオス事務所)、Vangxay(JICAラオス事務所)、Bouasy HONGVANTHONG(Project Director、マラリア学、寄生虫学、昆虫学センター、ラオス保健省)、Paul BREY(Project Manager、ラオス国立パスツール研究所)、Phoutnalong Vilay(マラリア学、寄生虫学、昆虫学センター、ラオス保健省)、Darouny PHONEKEO(ラオス国立パスツール研究所)、Antoine des GRAVIERS(ラオス国立パスツール研究所)、Phonepadith KHATTIGNAVONG(ラオス国立パスツール研究所)、Bounlay Phommasack(ラオス保健省)、Bouthavong Phengsisomboun(ラオス保健省)、Panom PHONGMANY(ラオス保健省)、Khamphou CHALEARNVONG(ラオス保健省)、浅田義教(日本大使館)、小田容子(JICAシニアボランティア、マラリア学、寄生虫学、昆虫学センター、ラオス保健省)、山下哲雄(JICA業務調整員)	本SATREPSの概要説明、PDMとPOの改訂内容の承認、2014年度の活動報告、2015年度の活動予定	チーフアドバイザーの狩野が、本SATREPSの概要説明とPDM、POの変更点を説明し承認を得た。その後、CPのKHATTIGNAVONGが2014年に行った2回のフィールド調査の報告と採取した血液検体と糞便検体の検査結果を報告した。次に長期専門家の石上が、ラボの供与機材の説明、学術発表、研修等の活動報告、並びに2015年度の活動計画を発表した。

# JST成果目標シート

## 付随的成果

日本政府、社会、産業への貢献	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ラオス国政府の寄生虫対策計画に貢献し、日メコン首脳会議“東京戦略2012”の「人間の安全保障と環境」(感染症対策)を支援する</li> <li>・メコン河流域諸国への成果の波及とWHO地域事務局方針への採用</li> <li>・重要寄生虫対策を含む“顧みられない熱帯病(NTDs)”対策を通じて、アジア諸国における日本の科学技術外交への貢献</li> <li>・わが国の産業が参加した研究ネットワークの構築および国際産学官連携の推進による新しい市場経済への参入</li> <li>・寄生虫対策に係る科学技術的知見に基づいた食の安全技術や感染制御支援策が、日本を含むアジア全体の水産業・観光業の新興に活用される</li> </ul>
知財の獲得	<ul style="list-style-type: none"> <li>・マラリアLAMP法の応用特許出願</li> <li>・新規マラリア診断法の特許出願</li> </ul>
成果物(論文等)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ラオスにおけるマラリアの集団遺伝学に関する新しい知見を掲載</li> <li>・マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症のLAMP診断法の開発について掲載</li> <li>・薬剤耐性マラリアの流行拡散に関する遺伝疫学的研究成果について掲載</li> </ul>
生物資源へのアクセス確立	<ul style="list-style-type: none"> <li>・メコン河流域という生物学的多様性のある地域での寄生虫(病原体)のサンプル入手経路の確立と系統学的ストック確保</li> </ul>
人材育成(日本のグローバル人材育成を含む)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・参画ポスドク研究員(または学生)名でレビュー付雑誌への論文掲載</li> <li>・相手側研究者と共同でレビュー付雑誌への論文掲載</li> </ul>

## 上位目標

ラオスの自立的・持続的な科学水準の向上により、マラリア及び他の重要寄生虫症の流行拡散制御方法が確立し、人びとへの疾病負荷が容認されるレベル以下に維持される

## 努力目標

マラリア及び他の重要寄生虫症の流行制圧のための当該研究成果である科学技術が、ラオス国政府の寄生虫対策5カ年計画の一部として採用されることでMDGsが達成され、政府の感染症対策アドボカシーの向上と人びとの行動変容が起こり、ラオスの低開発途上国(LDC)脱却に貢献する

## プロジェクト目標(達成目標)

ラオス国の保健衛生改善に寄与する科学・医療技術の知見の集積と行政サービスへの反映

ラオス国のマラリア制圧のための科学的エビデンスの基盤が創られる

科学的根拠に基づく吸虫感染防止対策のラオス国政府への提言

### 最先端研究を通じた現地研究者・医療従事者のキャパシティが向上する

ラオスに分布するマラリア原虫とハマダラカの集団遺伝学的構造が明らかになる

薬剤耐性マラリアの出現と拡散のメカニズムが解明される

流行する吸虫類の遺伝的構造変化の、経時的・空間的なモニタリング技術が研究開発される

・マイクロサテライトDNA選定と解析、遺伝的特徴の評価  
・LAMP法の精度改良

・アーテミスニン耐性メカニズムの解明  
・薬剤耐性マラリア原虫のSNPの検出とvariationの解析  
・次世代シーケンサーによるSNP、CNV解析と評価

・より精度の高い診断法(PCR法・LAMP法)の技術が確立する  
・マイクロサテライトDNA選定と解析、遺伝的特徴の評価

・ヒト患者末梢血からの原虫の検出、分離とDNAの抽出・取得  
・媒介蚊(終宿主)からの原虫の検出、分離とDNAの抽出・取得

・ヒト糞便からの吸虫卵分離とDNAの抽出・取得  
・メコン住血吸虫媒介貝(中間宿主)からの虫体分離とDNAの抽出・取得  
・タイ肝吸虫媒介貝(第一中間宿主)、媒介淡水魚(第二中間宿主)からの虫体の分離とDNAの抽出・取得

### 流行疫学調査

・それぞれの疾病(患者)分布調査  
・従来法による蚊、貝、魚などの宿主の棲息状況と感染状況調査  
・最適研究調査対象地域の策定

マラリア研究

メコン住血吸虫症研究

タイ肝吸虫症研究

100%  
80%  
60%  
40%  
20%  
0%