

アジア・アフリカ科学技術協力の戦略的推進

(国際共同研究の推進)

事後評価

「デング熱の発症と病態に関連する遺伝因子の同定」

機関名: 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター

代表者名: 松田 文彦

実施期間: 平成20年度～平成22年度

## 目次

I. 国際共同研究の概要	1
II. 経費	
1. 所要経費	2
2. 使用区分	2
III. 実施結果・成果の概要	3
1. 目標達成度	3
(1) ミッションステートメントの達成状況	
(2) 実施計画に対する達成状況	
(3) 採択コメントに対する対応	
(4) 所期の計画どおりに進捗しなかった場合の理由、対処、実績	
2. 成果	7
(1) 科学的・技術的成果の内容	
(2) 社会的成果(国内外の各参画機関の共同研究体制・形成された科学技術コミュニティ)の内容	
3. 計画・手法	11
4. 実施期間終了後における取組の継続性・発展性	12
IV. 実施結果・成果の詳細	14
V. 自己評価	20
1. 目標達成度	20
2. 成果	20
3. 計画・手法	20
4. 実施期間終了後における取組の継続性・発展性	20
5. その他	20
VI. その他	21
1. 代表研究者・国内参画機関研究者への質問	
2. 国外参画機関への質問	

## I. 国際共同研究の概要

- プログラム名：アジア・アフリカ科学技術協力の戦略的推進（国際共同研究の推進）
- 課題名：デング熱の発症と病態に関連する遺伝因子の同定
- 機関名：京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター
- 代表者名（役職）：松田 文彦（教授）
- 共同研究機関名：  
東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター、タイ Mahidol University, Faculty of Medicine
- 共同研究機関代表者名（役職）：山田 亮（准教授）、Prida Malasit（Director）
- 実施期間：3年間
- 実施経費：89.5百万円（間接経費込み）

### 課題概要

地球温暖化による生態系の変化、交通手段の発達で、デング熱が我が国で蔓延し大災害を招く可能性は高く、行政的にも迅速、確実な解決策の提供がのぞまれる緊要な課題である。アジアの相手国から生きた感染症学を学びながら、我が国の先端技術を導入し、相互補完的な研究を組織することで、新しいスタイルの国際協力を目指す。

タイ人の小児デング熱患者の遺伝的多型を網羅的にダイビングし、異なる病態で比較することで、病態関連遺伝子を同定する。関連遺伝子の機能解析で、デング熱の病態を正確に反映する新たなバイオマーカーを発見し、早期診断、予後予測に用いる。

このため、研究実施体制としては異なる専門分野の研究者が構築する国際的ネットワークで集学的な取り組みを行う。検体と臨床情報のデータベースはタイの感染症学者が構築し、検体を用いた大規模ゲノム解析は京都大学のゲノム疫学者が行い、遺伝統計学的解析は東京大学の専門家が行う（統計解析の担当研究者が京都大学に移籍したため、H21年度以降、ゲノム解析と統計解析をあわせて京都大学が担当した。）

現在デング熱には、患者の病状に応じた対症療法しかないが、病態の正確な把握、迅速な診断、予後の予測病態により、最適治療を施すことが可能となる。また、新たな治療薬、ワクチンの開発にもつながり、さらに、ウイルスの弱点を把握し、デング熱撲滅のための効果的な戦略がとれることが期待できる。

### 採択時コメント

デング熱は、今後地球温暖化によって、日本への上陸が危惧され、その対策が重要と考えられている感染症である。本提案は、このデング熱の発症に関与する遺伝因子を、タイのマヒドン大学と共同で同定し、デング熱対策に資することを目指す提案であり、その社会的意義は大きく、臨床検体とデータ採取に実績のある機関と共同研究を実施する意義を評価した。このような十分な数の検体を詳細かつ迅速に解析することが求められる研究分野では、検体収集が特に重要であり、そのための方策や準備などにも留意して、成果につなげられたい。なお、デング熱に関する国内の他の研究者や他大学の拠点とも緊密な情報交換を行っていただきたい。

## II. 経費（振興調整費分）

### 1. 所要経費

（間接経費を含む）

（単位：百万円）

研究項目	担当機関等	研究担当者	所要経費			
			H20年度	H21年度	H22年度	合計
1. デング熱患者ゲノムの網羅的タイピングによる病態関連遺伝子の同定	京都大学大学院 医学研究科	松田 文彦	29.1	29.8	29.7	88.6
2. タイピングデータの遺伝統計学的解析	京都大学大学院 医学研究科 (H20年度は東京大学医学研究所)	山田 亮	0.9	0	0	0.9
所要経費（合計）			30.0	29.8	29.7	89.5

### 2. 使用区分

（単位：百万円）

	研究項目1	研究項目2	研究項目3	研究項目4	計
設備備品費	3.0	0	-	-	3.0
試作品費 (H20のみ)	0	0	-	-	0
人件費	8.0	0	-	-	8.0
業務実施費 (H20)	19.9	0.7	-	-	20.6
事業実施費 (H21、H22)	37.2	0	-	-	37.2
間接経費	20.5	0.2	-	-	20.7
計	88.6	0.9	-	-	89.5

※備品費の内訳(購入金額5百万円以上の高額な備品の購入状況を記載ください)

### III. 実施結果・成果の概要

#### 1. 目標達成度

##### (1) ミッションステートメントの達成状況

###### ① 実施期間終了時における具体的な目標

デング熱の発症、病態、予後に関わる宿主(ヒト) 遺伝子を複数個同定する。それらの遺伝子について、いかなる機構で病気に関わっているのかを、遺伝子の機能解析で明らかにする。また、患者の詳細な臨床情報と遺伝子解析の結果を総合分析することで、病態把握、予後予測のための新たなバイオマーカーを発見する。そして、現状では患者の病状に応じた対症療法しかなくしばしば患者の命を奪うデング熱の、病態に応じた最適治療の確立をめざす。

###### 達成状況

ゲノムワイド解析によって、デング出血熱の発症と関連している可能性の強い候補遺伝子領域を 3 領域同定することに成功した。現在独立検体群での再現性検証を精力的に進めており、再現性が得られたのちに機能解析を実施する予定である。また、臨床情報と遺伝子多型の関連を QTL 解析により探索している。現段階では強い関連を持つものは得られていないが、国外参画機関で新たに測定したバイオマーカーの情報を用いた QTL 解析を進めている。

###### ② 実施期間終了後の取り組み

デング熱はその発症機構が不明で、いまだに効果的な治療薬やワクチンが開発されていない。さらなる免疫学的、細胞生物学的解析を通して発症機構を明らかにし、産業界と共同して新たな治療薬、ワクチンの開発につなげたいと考えている。また、デングウイルスと宿主の相互作用を分子レベルで解明することで、ウイルスの弱点を把握し、デング熱撲滅のための効果的な戦略を探りたい。

###### 達成状況

本事業では、デング熱/デング出血熱の 1,000 例を超える小児患者の詳細な臨床情報とそのうち 600 例のゲノム多型情報をデータベース化し蓄積した。また患者血漿を用いて、他に類を見ない 38 種にも及ぶサイトカインの定量を完了した。このような情報は、今後の免疫学的、細胞生物学的解析のみならず、将来のワクチン開発や創薬の際に標準情報として常に参照すべき、極めて重要度の高い基礎情報である。

###### ③ 期待される波及効果

本研究で同定されたバイオマーカーによる病態の把握、予後予測は、デング熱治療に従事する臨床家にとって、治療方針を決定する際に非常に有用な手段となると思われ、臨床応用が飛躍的に進むことになろう。また申請者らが用いる研究手法は他の感染症にも十分に応用可能であるため、本研究が成功すれば、他の感染症の克服ための新戦略のモデルとなり、同様の試みが活発化することが期待される。

###### 達成状況

バイオマーカー同定のためのデータ解析は継続して行われており、現時点では達成状況を明確にすることは困難である。感染症研究については、本事業と同様のアプローチを HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の解析に用いることが決定された(厚生労働省難病事業)。また、マラリアの遺伝解析においても、バイオマーカーの探索が計画されており、一定以上の波及効果があったと考えている。

## (2)実施計画に対する達成状況

### (1) デング熱患者ゲノムの網羅的タイピングによる病態関連遺伝子の同定

#### 計画(目標)

2008年度は、400検体コンケン病院の患者DNAを用いて、遺伝子多型チップ(Illumina社550K)でゲノムスキャンを開始し、得られた結果の品質管理をおこなった後、最終結果を遺伝子解析データベースに格納する。2009年度は、新たに得られた検体でゲノムスキャンを行い、候補遺伝子を含む連鎖不平衡ブロックを絞り込み、ブロック全域の詳細なタイピングを行なう。この結果をもとに、SNPが原因する遺伝子の発現、遺伝子産物の機能の変化を加味して、デング熱の病態の変化と最も強い相関を持つ遺伝子/多型を同定する。2010年度は、さらに多くの検体でタイピング結果の再現性確認をおこなったのち、関連遺伝子/多型の機能解析にとりかかる。多型の位置によって

- 1)発現の変化を調べるレポーターアッセイ
- 2)細胞株を用いた野生型/変異型蛋白の発現実験
- 3)マイクロRNAによる関連遺伝子の遺伝子産物発現の抑制実験

などが可能である。これらの実験を通して、遺伝子と病気の間関係を明らかにする。

また、得られた結果をもとに、デング熱の病態関連遺伝子/多型のカタログ化を行ない、遺伝子解析データベースに基礎情報を蓄積し、一般公開する。

#### 達成状況

2008年度、2009年度あわせて、コンケン病院、マヒドン大学シリラ病院で収集したDF269例、DHF324例の患者DNAを用いたゲノムスキャンを実施した。得られた結果を品質管理にかけ、最終的にDF261例、DHF364例と504,736マーカーのタイピングの最終結果をゲノム医学センターの遺伝子解析データベースに格納した。得られたデータを用いて統計解析を実施したが、網羅的ゲノム解析における有意差( $p < 10^{-7}$ )を示す遺伝子/多型は同定されなかったため、候補多型をp値の低いものより順次選んで、ゲノムスキャンに用いなかったDNA検体を用いてTaqman法による再現性検証を実施している。したがって、まだ機能解析を実施する段階には至っていない。

### (2) タイピングデータの遺伝統計学的解析

#### 計画(目標)

2008年度に京都大学で産生されたデータを用いて、まず血漿の漏出に着眼して、DF対(DHF+DSS)で各SNPについて、アレル頻度、ジェノタイプ頻度、優性、劣性の検定を行ない、また集団の構造化を補正するプログラムも使い、より正確な検定を試みる。さらに、補正後の有意差 $p < 0.01$ が得られた多型に関しては、ハプロタイプでの検定も併せて行なう。

2009年度は、前年度と同様のDF対(DHF+DSS)に加えて、マヒドン大学からデング熱と関連する種々のバイオマーカーの詳細な記録の提供を受け、重要性の高いマーカーを選択し、それらの値と関連する遺伝子多型の同定も試みる。

2010年度は、京都大学で行われた多数の検体を用いた再現性確認のデータを解析し、多型と病態の間関連の確証を得る。

#### 達成状況

計画通りの解析を実施したが、(1)で述べたように、DF対(DHF+DSS)で網羅的ゲノム解析におけ

る有意差を示す SNP は同定されなかった。2009 年度に実施する予定であったバイオマーカーとの関連解析は、相手国研究機関からの情報の提供に遅れが生じたため、2011 年 2 月に開始された。現在解析が進行中である。ゲノムスキヤンのデータの再現性検証は、ゲノムワイド有意差には達しなかったが低い p 値の得られた SNP から順次実施しており、データ解析も継続しておこなっている。

### (3) 小児 Dengue 熱患者の臨床情報データベースの構築と検体収集

#### 計画(目標)

事業全期間を通じてタイ北東部のコンケン病院、タイ南部のソククラ病院とのネットワークを活用し、小児 Dengue 熱患者の詳細な臨床情報を収集し、臨床情報データベースを構築し一元管理する。また、患者の DNA 検体を収集し、品質管理ののち、タイピングに備えて保管する。またこの臨床情報データベース、遺伝子解析データベースの情報を研究に従事する機関が情報を共有できるように、情報ネットワークを構築する。また、集積された臨床情報を患者の病態と照合し、宿主遺伝子の多型と相関が得られる可能性のあるバイオマーカーを選択し、京都大学、東京大学へ情報提供する。

#### 達成状況

臨床情報の収集とマヒドン大学のデータベースへの格納・一元管理は 2010 年末に終了した。2011 年 1 月に京都大学のデータベースに格納し、標準化を経たのち詳細な統計解析に提供された。患者の DNA 検体は、DF 患者 433 例、DHF 患者 765 例、健常者対照群 (DF として利用可能) 643 例の合計 1,841 例の収集が終了し、ほぼ目標が達成された。検体はすべて京都大学ゲノム医学センターに提供された。情報ネットワークは、京都大学ゲノム医学センターで共同開発されたデータベース MESHMD を通してリアルタイムの情報共有が可能となった。臨床情報の提供については、2011 年初頭に全臨床情報を京都大学のデータベースに格納され、解析に供された。

このデータベースは、京都大学の臨床情報データベースにマヒドン大学からの臨床情報を格納したもので、統合解析が可能となるようにデータの標準化をおこなった後、ゲノム情報データベースと各検体に振られた ID (二次匿名化番号) による連結を行ってある。このデータベースは、マヒドン大学に移築し、マヒドン大学での解析に利用できるよう環境が整備されている。また、両者の情報はシンクロナイズされ、常時最新の情報が双方で共有できるように、現在 VPN を通した情報の共有などを検討している段階にある。

### (4) 採択コメントに対する対応

Dengue 熱の発症に関与する遺伝因子を、臨床検体とデータ採取に実績のあるタイのマヒドン大学と共同で同定することを目指した。検体収集が特に重要であったためタイ国内で広く協力を求め、検体の詳細かつ迅速に解析することが可能となるように配慮した。結果として、タイの共同研究機関と共有できるデータベースを作ことができ、Dengue 熱対策として社会的意義のある成果を得たと考えられる。国内においても解析データをデータベースに格納して情報交換に資する活動を行った。

### (5) 所期の計画どおりに進捗しなかった場合の理由、対処、実績

#### 検体の収集

Dengue 熱の発生はその年の気候・天候と流行するウイルスの種類によって大きく変化するため、2008 年度に計画数が収集できず、解析に必要な検体数の収集に至らない危険性が生じた。そこで、マヒド

ン大学ラマティボディ病院の小児科グループに協力を求め、当初の目標をほぼ達成する検体の収集に成功した。

#### **疾患関連遺伝子の同定:**

当初の計画に対し多少の遅れが生じた。ゲノムスキャンによって有意差を示す多型が同定されなかったためである。対処法として、ゲノムスキャンを実施する検体数を増やすことはせず、ゲノムワイド有意差は得られなかったものの候補として解析を継続する価値のある多型を独立検体群で検証する戦略をとった。これはゲノムスキャンに用いる多型アレイは非常に高価であること、ゲノムスキャンの検体数を増やしても必ず有意差が得られる確証がないことなどによる。

#### **臨床情報を加味した関連解析:**

コンケン病院、ソンクラ病院よりの臨床情報の収集が当初の計画通り進まなかった。マヒドン大学に研究スタッフをコンケン病院に派遣するよう要請し、当初の予定からは遅れたが事業実施期間内に情報を集約することが出来た。また、事業の半ばから参画したラマティボディ病院は、 Dengue熱解析用のすばらしい臨床情報データベースを完備しており、情報が迅速に集約された。



## 2. 成果

### (1) 科学的・技術的成果の内容

#### ①先端技術・世界標準の創出に資するどのような成果が得られたか、記載してください。

本事業では、最新のゲノム解析技術を利用して、熱帯感染症の宿主要因の探索を実施した。通常こういった解析は、患者群を病態により亜群に分類して、それら間での遺伝子多型を比較するという、通常の複合遺伝性疾患の解析に準じた戦略がとられるが、本事業では、デング熱患者が発症後比較的短期間(1週間～10日)入院し医師の管理下にあることに着目し、入院時から退院時までの血液検体を経時的に収集し、その分析・解析によって、疾患の進行、症状の変化などを加味した新たな解析法を採用した。多数の免疫関連分子(サイトカイン)の測定を多くの患者で経時的におこなった例も、世界ではじめての試みである。こういった解析は、大多数の疾患において患者を詳細にフォローアップすることが非常に困難であるため、実施されることがほとんどない方法で、世界的にも実施例は知られていない。また、多様な測定値を量的形質と見なしたいいわゆる QTL 解析も、健常者集団における量的形質(身体計測値、生化学・血液学検査値など)をのぞくと、疾患の解析で用いられた例は極めて少ない。以上のような点から、本事業では、従来のゲノム解析をさらに洗練させた新たな解析の標準モデルを提供できたと考えている。

#### ②共同研究によって得られた新しい科学技術面での知見があれば、どのようなものか、わかりやすく記載してください。

特になし(現在解析を継続しておこなっている段階である)。

#### ③研究成果の発表状況

【ワークショップ、国際会議の開催】(0件)

【研究成果発表等】

##### 1)論文等

	原著論文発表 (査読付)	左記以外の誌 面発表	口頭発表 (学会、国際会 議、シンポジウム等)	合計
和文誌	0件	0件	1件	1件
欧文誌	0件	0件	2件	2件
合計	0件	0件	3件	3件

##### 口頭発表(海外)

F. Matsuda “Identification of genes associated with severity of Dengue fever using a genome-wide association approach”

(Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand) Hereditary and acquired hemostatic disorder. 2009.10.2

F. Matsuda “Genomic epidemiology of human multigenetic disorders”

(Siriraj Hospital Mahidol University, Bangkok, Thailand) Mahidol-Kyoto Universities International Symposium 2010. 2010.12.16-17

##### 口頭発表(国内)

Monthikan AKSORNWORANART “Genomic approaches to identify host genetic factors related to dengue hemorrhagic fever”,

(Graduate School of Medicine, The University of Tokyo) JSPS Core University Program Seminar, 2009.10.20

2) 特許等出願件数 (0件)

3) 受賞等 (0件)

4) 主な原著論文 (投稿準備中の論文2件)

Genomic analysis of complement-related genes in Dengue Hemorrhagic Fever in Thai population

Identification of genetic factors related to the severity of Dengue fever in Thai population ~ a genome-wide approach ~

#### ④科学的・技術的波及効果

感染症には、デング熱と同様に発症、発症時の重症度が宿主の遺伝的背景で大きく異なるものが多く存在する。そういった感染症の解析において、本事業で実施された「ゲノムのみを見るのではなく、臨床情報、バイオマーカーを加味して総合的に解析する」戦略は、他の感染症や急性疾患の非常によいモデルとなる。

#### (2) 社会的成果 (国内外の各参画機関の共同研究体制・形成された科学技術コミュニティ) の内容

##### ①研究資源の提供や研究実施における役割について、国内機関と海外機関に分けて記載してください。

京都大学: デング熱患者ゲノムの網羅的タイピングによる病態関連遺伝子の同定

ゲノムスキャニングを用いた疾患関連遺伝子の同定、疾患関連遺伝子の生物学的機能評価

東京大学: タイピングデータの遺伝統計学的解析

ゲノムスキャンデータの統計解析、臨床情報と遺伝子多型の相関解析による新たなバイオマーカーの同定

マヒドン大学、コンケン病院、ソククラ病院:

小児デング熱患者の臨床情報データベースの構築と検体収集

臨床情報データベースの構築、小児デング熱患者の検体収集

##### ②研究全体会議(運営委員会)等を開催した場合は、会議(委員会)メンバー・出席者及び開催実績(時期・議題・会議の成果等)を記載してください。

###### ・ 第1回会議

開催日: 2008年10月12日 国際デング熱会議会場(プーケット島)

出席者: Prida Malasit, Prapat Suriyaphol, Anavaj Sakuntabhai, 松田文彦, 高橋めい子

議題: 「デング熱の検体収集と臨床情報データベース構築について」

会議の成果: 検体の収集状況の報告、臨床情報の確認ならびにゲノム解析の進捗状況説明をおこない、また臨床情報データベースに蓄積すべき項目が決定され、データベースのスキームが示された。

- ・ 第2回会議

開催日：2009年2月20日 京都大学ゲノム医学センター

出席者：Anavaj Sakuntabhai、松田文彦、山田亮、高橋めい子

議題：「事業2年目におけるデング熱の検体収集について」

会議の成果：2008年度の検体収集状況が予想より少ないことから、検体収集機関として新たにマヒドン大学ラマティボディ病院の参画を検討し、近くバンコックにて打ち合わせを行うことが了承された。

- ・ 第3回会議

開催日：2009年7月3日 京都大学ゲノム医学センター

出席者：Anavaj Sakuntabhai、松田文彦、山田亮、高橋めい子

議題：「ゲノム解析の進捗報告と2009年度の事業計画について」

会議の成果：2009年度には、コンケン病院、シリラ病院の検体に関する臨床情報の収集を完了し、データベースに蓄積を終了することが決定された。またゲノム解析は候補遺伝子／多型が同定された場合、ソククラ病院に加え新たに収集予定のラマティボディ病院の検体を用いた再現性検証を開始することが了承された。

- ・ 第4回会議

開催日：2009年10月2日 マヒドン大学ラマティボディ病院

出席者：Prida Malasit、Prapat Suriyaphol、Anavaj Sakuntabhai、Ampaiwan Chuansumrit、松田文彦

議題：「事業2年目におけるデング熱の検体収集と臨床情報の取得について」

会議の成果：検体の収集状況の確認、臨床情報の品質管理ならびにデータベースの開発の進捗報告をおこない、さらに検体収集機関として新たにマヒドン大学ラマティボディ病院が参画し、同病院の小児科より Ampaiwan Chuansumrit 博士が研究協力者として研究に参画することが決定された。

- ・ 第5回会議（研究打合せ）

開催日：2010年2月8日 マヒドン大学シリラ病院

出席者：Prapat Suriyaphol、松田文彦

議題：「デング熱の臨床情報データベースについて」

会議の成果：臨床情報データベース開発の進捗報告とデータの精査についての討議がおこなわれた。

- ・ 第6回会議

開催日：2010年12月15日 マヒドン大学シリラ病院

出席者：Prida Malasit、Prapat Suriyaphol、Anavaj Sakuntabhai、松田文彦、山田亮

議題 「デング熱の臨床情報データベースについて」 マヒドン大学シリラ病院

会議の成果：ゲノム解析の進捗報告、臨床情報データベースの整備、運用と今後の解析方針について討議され、臨床情報を加味した解析の試験研究の実施プロトコールが決定された。加えて、患者血清を用いたサイトカインの定量を開始することが決定された。

- ・ 第7回会議

開催日：2011年2月23日 京都大学ゲノム医学センター

出席者：Anavaj Sakuntabhai、Worachart Lertittiporn、松田文彦、山田亮、高橋めい子

議題：「試験研究の成果と今後の研究・解析計画について」

会議の成果：臨床情報データベースの整備がほぼ終了したことが確認された。また、サイトカインの測定のための条件の最適化が開始されたことが報告され、それらも加えた今後の解析法のプロトコール決定と、今後の研究継続に関する方向付けがおこなわれた。

#### ③実施期間中の各参画機関の組織としての関与(支援)について記載してください。

京都大学医学研究科においては、本研究を含むゲノム医学研究を今後の重点的研究分野の一つとして考えており、運営費交付金による施設・設備の充実による支援がなされた。この支援により、ゲノム解析をさらに高速化するためのスキャナー、データベース構築のためのより高性能なサーバーシステムの設置が可能となった。

マヒドン大学では、本事業開始前から、デング熱プロジェクトを国民の健康増進のための緊要な研究課題と位置づけており、大学、政府の共同出資でデング熱研究に関する COE ユニットが開設され、本事業実施期間を通して、研究費、研究スタッフの充実など大きな支援が得られた。

また、2010年12月には、京都大学医学研究科とマヒドン大学の二医学部との間の国際共同研究の覚書を更新するとともに、あらたに熱帯医学研究所、理学部との間に共同研究の覚書を締結し、今後の研究協力の体制をより強固なものとした。

#### ④形成された科学技術コミュニティの今後期待される国際連携への政策的波及効果を記載してください。

東南アジア・アフリカ諸国との国際共同研究は、従来日本が研究費の支援をおこない、相手国の研究者が疾患の検体を日本で解析するという、ある意味でアンバランスな研究体制が普通であった。しかしながら本事業は、異なる専門分野の研究者が構築するネットワークで集学的な取り組みを実施し、相手国の感染症学とわが国のゲノム医学が対等な関係でお互いに相補うかたちで組織された、真の意味での「イコール・パートナーシップ」に基づく研究であり、今後のアジア・アフリカ諸国との国際連携のよきモデルを構築できたと考えている。

#### ⑤今後期待される社会経済の活性化効果を記載してください。

本事業ではいまだに疾患関連遺伝子・バイオマーカーの同定には至っていないが、近い将来それらが同定されれば、現在は治療薬やワクチンの存在しないデング熱の創薬や、早期診断のためのバイオマーカーが開発される可能性が高い。全世界でデング熱に罹患する人口は年間一億人を超え、またそのうち約25万人が重症度の高いデング出血熱を発症するといわれる。したがって製薬産業にとって新薬や診断マーカーのマーケットは非常に大きなものである。

### 3. 計画・手法(「Ⅱ. 経費」とも関連)

#### ①研究項目毎の予算配分方針について記載してください。

1年目はタイピングデータの統計解析に係る物品費、および研究打合せの為の旅費として予算の一部を東京大学に配分したが、ゲノムスキャン用試薬の研究費に占める割合が高いため、全体予算の大部分を京都大学に配分した。2年目以降は、東京大学山田亮准教授の京都大学への異動に伴い、研究項目毎に予算を配分せず研究代表者で一括管理、執行した。

#### ②課題実施のためのプロジェクトマネジメントについて記載してください。

京都大学では、研究代表者の松田文彦が全体の総括をおこない、DNA 検体を用いたタイピング実験は、高橋めい子がゲノム医学センターの実験チームを指導しながら実施した。2008年度は、センターの日本人スタッフに加えて、マヒドン大学シリラ病院より派遣された Monthikan Aksornworanart 研究員が事業に加わった。また、統計解析は実施機関を通して山田亮が解析責任者として、2008年度は東京大学医科学研究所ヒトゲノムセンターで、また2009年7月の山田の京都大学教授就任にともない、それ以降は、京都大学ゲノム医学センターで、センターのゲノムインフォマティクスのスタッフを指導しながら実施した。臨床情報を加味した解析には、シリラ病院から Worachart Lertittiporn 研究員が1年間滞在し、最新の統計解析法の修得と実データを用いた試験研究を山田のもとで実施した。ゲノム医学センターには外国人客員研究員のポストがあるが、それを活用して、2009年度、2010年度にマヒドン大学の臨床情報データベース構築の責任者である Prapat Suriyaohol 博士をのべ5ヶ月間(2009年7月1日～9月30日、2010年9月1日～10月30日)招聘し、また2010年度末からは、Anavaj Sakuntabhai 博士を3ヶ月間(2011年2月21日～4月20日)招聘し、共同研究をおこなった。

相手国では、マヒドン大学シリラ病院の Prida Malasit 博士が、コンケン、ソククラ両病院との共同研究体制の構築を含め全体を統括し、シリラ病院では Prapat Suriyaphol 博士のもとで研究スタッフが検体の収集、管理とバイオマーカー測定を実施した。また、ラマティボディ病院では、Anavaj Sakuntabhai 博士が、小児科の Ampaiwan Chuansumrit 博士の率いる臨床チームと共同して、検体と臨床情報の収集につとめた。

#### 4. 実施期間終了後における取組の継続性・発展性

①実施期間終了後、課題実施により培われた研究及びネットワークを継続する体制や仕組みに対する工夫について記載してください。

京都大学医学研究科とマヒドン大学医学部は、2004年11月にゲノム医学を中心とした研究協力の覚書を締結して以来、共同研究および人的交流を積極的におこなってきた。研究代表者が2003年より2008年度まで参画した拠点大学交流事業(東京大学-マヒドン大学間)により、マヒドン大学の研究者の長期の招聘(過去5年間で5人、延べ招聘期間4年以上)を含むイコールパートナーシップに基づく共同研究の基礎が培われた上に、本事業で研究プロジェクトの課題を明確にした共同研究を実施した。本事業に参画した相手国からの招聘研究者は以下の通りである。

- Monthikan Aksornworanart 研究員 (2008年4月～2009年3月 拠点大学交流による招聘)
- Worachart Lertittiporn 研究員 (2010年4月～2011年3月 マヒドン大学と本事業の50%ずつの負担で招聘)
- Prapat Suriyaohol 博士 (2009年7月1日～9月30日、2010年9月1日～10月30日 京都大学外国人客員研究員として招聘)
- Anavaj Sakuntabhai 博士 (2011年2月21日～4月20日 京都大学外国人客員研究員として招聘)

特に外国人客員研究員2名に関しては、感染症の臨床医学および遺伝学に関する講義やセミナーを通して専門的知識の供与につとめ、京都のスタッフにとって極めて貴重な知識修得の機会となった。またこれに加え、2人のタイ人の博士課程学生がゲノム医学センターに所属し、研究に励んでいる。

こういった研究交流は両研究機関の信頼関係をいっそう強固なものとした。その一例として、2010年12月に、マヒドン大学シリラ病院において、京都大学医学研究科のグローバルCOEプログラムの一環の「Mahidol-Kyoto Universities International Symposium 2010」の開催が挙げられる。京都大学医学研究科より12人の教授が、またマヒドン大学より8人の教授が参加したことに加え、マヒドン大学の大学院生、京都大学で研究をおこなうタイ人の博士課程学生にも講演の機会が与えられた2日間にわたるシンポジウムは、京都大学医学研究科の研究活動をマヒドン大学の学生に知ってもらいたいへん良い機会となり、数人の学生より京都での学位取得の希望が出された。さらに会議期間中に今後の両研究機関の研究協力の方向性についての活発な討議があり、熱帯医学、腫瘍生物学、ゲノム医学等の基礎医学分野に加え、臨床医学分野での交流も今後積極的に進めることが確認された。

東南アジアとの交流でネックとなるところは、わが国の研究者で相手国での研究活動を希望する者がほとんどいないことである。感染症を含む熱帯医学分野は、臨床医学的研究、疫学的研究においてタイ国はわが国より進んでいるため、京都大学からの研究者の派遣もふくめた交流を計画したが、成功に至らなかった。この点は今後の学術交流においても重要な課題の一つとなると思われる。

②これまでの研究成果を発展させる明確な研究・交流のビジョンがあれば記載してください。

タイ国において、Prida 博士の率いる Dengue 熱研究グループが、強い国際ネットワーク(京都大学、Imperial College)を持つ国際共同研究の成功例として、The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program の実施機関として選ばれた。このプログラムは、毎年5名の成績最優秀の博士課程学生を5年間にわたり支援するもので、博士課程の期間中の外国留学も支援の対象となる。マヒドン大学はこのプログラム

を利用して、本事業をさらに発展させるために京都への学生の派遣を検討しており、本事業のさらなる継続を希望している。

#### IV. 実施結果・成果の詳細

デング熱はフラビウイルスの一種のデングウイルスによって引き起こされ、主なベクターのネッタイシマカが生息する熱帯地方での発症が多い。ネッタイシマカは人家と密接な関係を持ち、水槽や花瓶といった場所でも繁殖可能で、主に都市に生息するため、デング熱はマラリアと異なり、都市型の感染症である。デングウイルスは蚊の吸血の際に人体内に侵入し感染者に様々な症状を起こさせるが、発熱やそれに伴う体の痛みといった一般的な症状の他に、重篤なものになると、出血傾向と循環器障害を併発し、しばしば命を落とすのがこの感染症の恐ろしいところである。デング熱はその症状の重篤度によってDF(デング熱)、DHF(デング出血熱)DSS(デングショック症候群)の三種類に分けられている。DFは感染後、発熱、体の痛みを伴う潜伏期間を経て麻疹様の発疹が身体に広がるが、10日程度で回復し、後遺症はみられない。一方DHFでは、DFの症状に加え血漿の漏出が起これ、それに加えて循環器障害と全身のショック症状をきたす場合をDSSと呼ぶ。DHFは平熱に戻りかけたときに発症することが多く、現在その予測はきわめて困難である。またDFからDHFへの移行は15歳以下の子供に多く見られ、DFの児童患者のうち1~10%がDHFに罹患するとされる。

本事業においては、タイの感染症専門家チームとの研究協力によって、最新のゲノム疫学的手法を用いてヒトゲノム中の単一塩基多型(SNP)を網羅的に検索することで、デング熱の発症、病態と関連する遺伝子を同定する。こういった遺伝子を同定できれば、早期診断、予後の予測を通して、迅速でもっとも効果的な治療を施すことが可能となる。また、遺伝子の機能解析を進めることで、より効果のあるワクチンや新たな治療法の開発も可能である。

##### 1. 小児デング熱患者の臨床情報データベースの構築と検体収集

担当者: Medical Molecular Biology Unit, Siriraj Hospital, Mahidol University • Prida Malasit • Director

事業期間を通して、コンケン(Khonkaen)病院、マヒドン大学シリラ(Siriraj)病院、マヒドン大学ラマティボディ(Ramathibodi)病院、ソンクラ(Songkla)病院において、小児デング熱患者の検体(DNA、血清、血漿)と臨床情報の収集をおこなった。3年間に収集された検体数は以下の表1に示す通りである。

Institution	Category						Total
	DF	DHF1	DHF2	DHF3	DHF4	Control	
Khonkaen	197 (193)	114 (70)	111 (69)	83 (78)	4 (4)	184 (0)	693 (414)
Siriraj	76 (76)	16 (16)	50 (50)	28 (28)	9 (9)	183 (0)	362 (179)
Ramathibodi	64 (0)	80 (0)	131 (0)	44 (0)	16 (0)	276 (0)	611 (0)
Songkla	96 (0)	34 (0)	41 (0)	3 (0)	1 (0)	0 (0)	175 (0)
Total	433 (269)	244 (86)	333 (119)	158 (106)	30 (13)	643 (0)	1841 (593)

表1 小児デング熱患者の検体数。かっこ内はゲノムワイド解析を実施した検体数をあらわす。

検体収集時に、各検体に付随する臨床情報の収集も実施した。収集情報を集約する臨床情報データベースは、マヒドン大学シリラ病院において、Prapat Suriyaphol 博士が中心となって構築をおこなっ



た。このデータベースをもとにして、臨床情報のゲノム解析における活用と研究情報の共有のために、臨床情報とゲノム情報を統合したデータベースを京都大学ゲノム医学センターにおいて構築した。この目的のために、ゲノム医学センターの外国人客員研究員の枠を利用して、Suriyaphol 博士を、2009年度、2010年度にそれぞれ3ヶ月間招聘した。データベースに収集した臨床情報は以下の通りである(表2)。

大項目	項目	診断または単位	備考
患者基礎情報	年齢 (入院時)	yrs	入院時
	性別	M/F	
身体測定	身長 (入院時)	cm	
	体重 (入院時)	kg	
	体重変化	kg	入院時と入院 2 日目の差
	腹囲 (入院時)	cm	
	腹囲変化	cm	入院時と入院 2 日目の差
診断	診断	DF, DHF1~DHF4	
	Day 0	整数	体温低下 (ショック) を起こした日
内科的所見	黄疸	有無	
	腹水	有無	
	下痢	有無	
	腹痛	有無	
生化学	AST	units/L	
	ALT	units/L	
血液学	ヘマトクリット値	%	1 日の最大値
	ヘマトクリットの変化	Point	入院時と入院 2 日目の差
	白血球	$\times 10^3/\mu\text{L}$	
	多型核白血球	%	白血球中の割合
	異型リンパ球	%	白血球中の割合
	血小板	$\times 10^3/\mu\text{L}$	
	総タンパク質	g/dl	
	アルブミン	g/dl	
ウイルス学	セロタイプ	DEN1~DEN4	PCR による判定
	ウイルス感染歴	primary/secondary	ELISA による判定
治療関連	総輸液量	mL	
	総輸液量/体重	mL/kg	

表 2 臨床情報データベースに蓄積された項目の一覧。この他に、38 種のサイトカインの情報が含まれる。

また、これに加え、採取した患者血清を用いてインターロイキンなど 38 種類のサイトカイン量の定量も進められており、測定が終了次第、統合解析に加える予定である。

## 2. デング熱患者ゲノムの網羅的タイピングによる病態関連遺伝子の同定

研究代表者：京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター・松田文彦・教授

## 3. タイピングデータの遺伝統計学的解析

担当者：京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター・山田亮・教授

ゲノムワイド関連解析においては、以下の2段階のタイピングを実施する戦略でおこなった。

- 1) 検体収集が事業開始時より効率よく実施されたコンケン病院、マヒドン大学シリラ病院の検体を用いて、ゲノムスキャンを実施
- 2) 解析結果より候補遺伝子群（多型群）を決定して、マヒドン大学ラマティボディ病院、ソククラ病院の検体を用いた再現性の検証を実施

### 1) ゲノムスキャン

コンケン病院よりの検体 414 例 (DF193 例、DHF221 例)、マヒドン大学シリラ病院の検体 179 例 (DF 熱 76 例、DHF103 例) を用いて、ヒトゲノム上のタグ SNP 55 万個を搭載した遺伝子多型チップ (Illumina 社 HumanHap610K) によりゲノムスキャンを実施した。得られた結果を、SNP 毎、検体毎の実験成功率 (各々 95% 以上の成功率のものを採用)、ハーディー・ワインバーグ平衡値 ( $10^{-7}$  以上のものを採用)、アレル頻度 (マイナーアレルが 1.0% 以上) などを指標として品質管理をおこない、上の条件を満たした DF261 検体 (コンケン病院 186 検体、シリラ病院 75 検体)、DHF364 検体 (コンケン病院 215 検体、シリラ病院 102 検体) と 504,736 マーカーのタイピングの最終結果をゲノム医学センターの遺伝子解析データベースに格納した。

データベースにおさめられたタイピング結果を用いて、まずは最も明確で重要なフェノタイプである血漿の漏出に着眼して、DF 集団と DHF 集団の間でアレル頻度、ジェノタイプ分布を考慮に入れた統計解析をおこなった。さらに集団の構造化を補正するプログラムも使い、より正確な検定を試み、二集団での頻度差が統計学的有意に達する SNP があるか検討した (図 1)。全ゲノム関連解析においては、SNP マーカーの数だけ独立した多重検定をおこなうため、得られた p 値に対する補正が必須である。通常は、得られた p 値に検定数を乗じた p 値を補正後の p 値として用いる、Bonferroni の補正がおこなわれる。今回のゲノムスキャンに関しては、Bonferroni の補正後に有意差を持つためには、 $p < 1.0 \times 10^{-7}$  を得る必要があるが、得られた結果でそのような p 値を示すマーカーは得られなかった (図 1)。

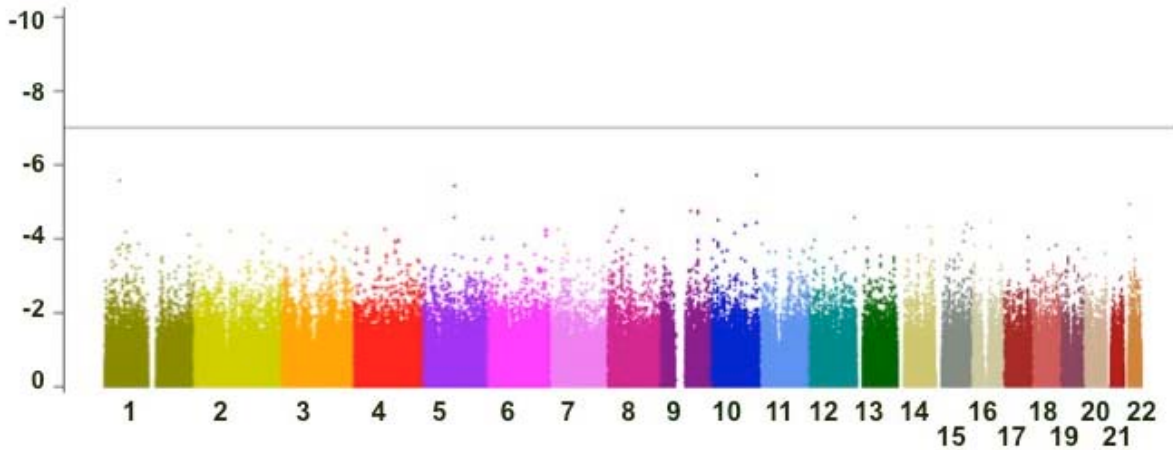


図1 ゲノムスキャンデータを用いた関連解析のp値の分布。横軸は染色体1番から22番までの染色体上の位置を表し、縦軸は関連解析のp値(-log<sub>10</sub>)を表す。水平線は、多重検定の補正後に有意差を持つp値のレベル(1.0x10<sup>-7</sup>)を表す。

DF、DHF間の単純なケースコントロール関連解析に加え、臨床情報データベースに含まれる種々の臨床情報を用いた量的形質(Quantitative Trait Locus, QTL)解析を開始した。解析手法は、

1. SNPマーカーのジェノタイプ分布をDF、DHF1、DHF2、DHF3、DHF4群間で比較し、重症度に応じたジェノタイプの頻度や分布の変化を示すSNPマーカーの探索を実施する。
2. 各測定値の分布をDF、DHF1、DHF2、DHF3、DHF4群間で比較し、重症度と関連するバイオマーカー/身体測定値を同定する。その後、関連を示したバイオマーカー/身体測定値とSNPマーカーの間での関連解析をおこない、重症度と関連する遺伝子の同定を試みる。
3. 1、2のいずれにおいても、関連が見いだされたSNPマーカーに関してはゲノムスキャンを実施しなかった検体を用いた再現性検証を実施する。

これらについては、現在解析が進行しており、候補となるSNPマーカーとバイオマーカーが同定されている。今後再現性検証を実施し、2011年中に解析を終了する予定である。

## 2) 候補遺伝子群の選定と再現性検証

上に述べたBonferroniの補正は極めて厳しい条件の補正であり、補正後でも有意差が得られた場合極めて有力な疾患関連マーカーである可能性が高いが、一方補正後に有意差が残らなかったからと言って有意なマーカーが存在しないと結論づけることは不可能である。そこで、p値の低いものから順に候補マーカーとして選び、独立検体群で再現性の検証をおこなう、機能から関連が推測される遺伝子群のタイピング結果を抽出し、補正前のp値に有意差がみられた場合、独立検体群での再現性検証をおこなう、の2法を選択した。後者における候補遺伝子群は、DHFにおいて急激なリンパ球の減少が起こる現象に関連していると考えられている、補体遺伝子群を選んだ。

### ● p値による候補多型の選定と再現性検証

ゲノムスキャンにおいて補正前のp値が10<sup>-4</sup>を下回るものは24領域(34マーカー)存在し、そのうち10<sup>-5</sup>を下回るものが3領域(4マーカー)であった(表3)。そこで、各領域から最も強いp値を示すマーカーを各一個選び、24個のマーカーについてタックマン法を用いたタイピングを実施した。現在、結果を解析中である。

Chromosomal Region	Marker ID	Allele		Allele frequency		p-value	Odds ratio
		Ref.	Var.	DHF	DF		
Chr.10-1	K944893*	A	G	0.176	0.088	1.85E-06	2.21 (1.55-3.15)
Chr.1-1	K1028563*	G	A	0.921	0.838	2.61E-06	2.28 (1.55-3.34)
Chr.5-1	K1171805*	A	G	0.927	0.983	3.58E-06	0.22 (0.11-0.44)
Chr.5-1	K1174405	A	G	0.927	0.983	3.58E-06	0.22 (0.11-0.44)
Chr.22-1	K866104*	A	G	0.255	0.155	1.14E-05	1.07 (1.40-2.50)
Chr.8-1	K1260321*	C	T	0.831	0.729	1.74E-05	1.84 (1.38-2.45)
Chr.8-1	K992379	T	C	0.831	0.729	1.74E-05	1.84 (1.38-2.45)
Chr.9-1	K987040*	C	T	0.960	0.894	1.75E-05	2.82 (1.70-4.67)
Chr.9-2	K955660*	C	T	0.603	0.484	1.77E-05	1.62 (1.28-2.05)
Chr.9-2	K1224454	C	T	0.582	0.464	2.15E-05	1.61 (1.28-2.04)
Chr.12-1	K1066244*	G	A	0.598	0.719	2.63E-05	0.58 (0.45-0.74)
Chr.5-1	K1174928	A	G	0.860	0.934	2.68E-05	0.44 (0.29-0.65)
Chr.10-2	K1041353*	C	T	0.473	0.596	3.05E-05	0.61 (0.48-0.77)
Chr.16-1	K1094666*	G	A	0.791	0.877	3.56E-05	0.53 (0.39-0.73)
Chr.10-1	K1048310	C	T	0.826	0.902	3.69E-05	0.51 (0.36-0.73)
Chr.15-1	K1086836*	C	A	0.630	0.741	4.14E-05	0.59 (0.46-0.76)
Chr.10-3	K1256616*	T	C	0.935	0.981	4.47E-05	0.28 (0.14-0.54)
Chr.10-3	K1302896	C	G	0.935	0.981	4.47E-05	0.28 (0.14-0.54)
Chr.8-2	K987414*	G	A	0.731	0.620	4.60E-05	1.66 (1.29-2.14)
Chr.14-1	K781591*	T	C	0.626	0.738	4.70E-05	0.59 (0.46-0.76)
Chr.14-2	K679158*	A	C	0.365	0.484	4.83E-05	0.61 (0.48-0.78)
Chr.15-2	K1091703	A	G	0.506	0.620	5.30E-05	0.63 (0.50-0.79)
Chr.7-1	K823403*	C	A	0.102	0.041	5.41E-05	2.64 (1.63-4.29)
Chr.6-1	K1295212*	G	A	0.441	0.325	5.72E-05	1.64 (1.29-2.08)
Chr.6-1	K497933	C	T	0.439	0.323	5.88E-05	1.64 (1.29-2.08)
Chr.6-1	K775237	C	A	0.439	0.323	5.88E-05	1.64 (1.29-2.08)
Chr.2-1	K1282392*	T	G	0.704	0.593	6.14E-05	1.63 (1.27-2.08)
Chr.8-3	K917208*	T	C	0.177	0.274	6.81E-05	0.57 (0.43-0.76)
Chr.10-4	K920510*	T	C	0.236	0.339	7.30E-05	0.60 (0.46-0.78)
Chr.2-2	K804373*	C	T	0.600	0.708	7.72E-05	0.62 (0.48-0.79)
Chr.6-1	K867904	T	G	0.439	0.325	7.75E-05	1.62 (1.28-2.06)
Chr.3-1	K1001381*	A	G	0.887	0.953	7.91E-05	0.39 (0.25-0.61)
Chr.6-1	K1295254	C	G	0.443	0.328	8.33E-05	1.63 (1.28-2.07)
Chr.6-2	K638694*	C	T	0.870	0.940	9.65E-05	0.43 (0.28-0.64)

表3 ゲノムスキャンで得られた候補 SNP。関連解析における p 値が  $1.0 \times 10^{-4}$  を下回る上位 34 マーカーを示した。

- 補体遺伝子群の解析

表 4 に示す 37 個の補体遺伝子群をふくむ連鎖不平衡ブロック内に存在する合計 2255 個の SNP マーカーに関するタイピング結果をゲノムスキャンデータより抽出し、関連があるか否かを検討した。その結果、 $p < 0.01$  以下のマーカーは存在せず、 $0.01 < p < 0.05$  のマーカーが 4 個 (C4A 遺伝子の rs8111、rs9267803、rs2228628、FCN2 遺伝子の rs3128621) 得られたのみであった。これら 4 個を、ラマティボディ病院の検体を用いてタイピングし、関連をみたところ、いずれにおいても  $p < 0.05$  が得られた (表 5)。これらの結果は論文化し、近く投稿予定である。

Gene	Chromosome	Number of markers tested	Gene	Chromosome	Number of markers tested
C1QA	1	39	C8B	1	45
C1QB	1	45	C8G	9	19
C1QBP	17	39	C9	5	66
C1QG	1	43	CR1	1	68
C1QR	20	65	CR2	1	40
C1R	12	36	BF	6	152
C1S	12	21	DAF	1	22
C2	6	158	DF	19	40
C3	19	66	FCN1	9	80
C3R1	12	42	FCN2	9	80
C4A	6	159	FCN3	1	20
C4B	6	157	HF1, HF2	1	30
C4BPA	1	49	IF	4	53
C4BPB	1	47	MASP1	3	98
C5	9	52	MASP2	1	36
C5R1	19	29	MBL2	10	66
C6	5	84	MCP	1	39
C7	5	82	SERPING1	11	31
C8A	1	57			
			Total		2255

表4 候補遺伝子解析に用いた補体遺伝子と各遺伝子に属する SNP マーカー数。

Gene	Chr.	dbSNP ID	Allele		Genome Scan			Replication			Pooled p-value
			Ref.	Var.	Allele Freq.		p-value	Allele Freq.		p-value	
					DHF	DF		DHF	DF		
C4A	6	rs8111	C	T	0.765	0.841	0.025	0.800	0.882	0.041	0.003
C4A	6	rs9267803	C	T	0.761	0.838	0.025	0.800	0.882	0.041	0.003
C4A	6	rs2228628	G	C	0.761	0.835	0.032	0.793	0.882	0.028	0.003
FCN2	9	rs3128621	G	T	0.756	0.832	0.025	0.740	0.848	0.019	0.001

表5 一次解析、二次解析の両方で疾患との関連 ( $p < 0.05$ ) が示唆された SNP のリスト。

## V. 自己評価

### 1. 目標達成度

ゲノム解析による疾患感受性遺伝子、バイオマーカーの同定には至らなかった。主たる原因に、患者検体の収集が当初の予定通り進まなかったことでゲノム解析が進まなかったことがあるが、実施期間内に計画した数の患者DNA検体の収集を達成できたこと、また候補遺伝子を選択して再現性検証を現在も継続しておこなっているため、疾患感受性遺伝子の同定が期待できると考えている(詳細はIV. 実施結果・成果の詳細を参照)。また、もう一つの大目標であった、ゲノム/臨床情報統合データベースの構築は期間内に終わることが出来た。このデータベースは、千人以上の Dengue 熱患者の臨床情報を経時的に捕捉し、加えてゲノム情報とバイオマーカー情報(サイトカイン)を有する、世界で例のないもので、今後の研究の標準になるデータセットとして、創薬、新規マーカーの同定等に広く活用されることが期待される。

### 2. 成果

本事業では、患者の入院時の経時的な臨床情報とバイオマーカー測定にゲノム解析を組み合わせた、これまでにない新しく革新的な疾患解析のモデルを樹立することが出来たと考えている。今後、こういった解析が多様な疾患で実施されるようになることが予想されるが、そういった解析に応用可能な解析手法であると自負している。

二国間の交流に関しては、本事業を通して京都大学とマヒドン大学の研究連携体制がより強固なものとなり、今後の両研究機関間の交流がより活発になると期待される。また、イコールパートナーシップに基づくわが国と東南アジア・アフリカの研究協力の好例になったと考えている。

### 3. 計画・手法の妥当性

計画・手法は妥当であったと考えているが、解析に遅れが生じ、それに対する方策を立てたものの結果として実施機関内に遅れを取り戻すことが出来なかったことが悔やまれる。

### 4. 実施期間終了後における取組の継続性・発展性

本事業の研究協力が高く評価され、マヒドン大学のグループがタイ王室の The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program の実施機関に選ばれ、今後マヒドン大学から京都大学へ博士課程学生を定期的に派遣して研究を継続することが可能となった。マヒドン大学はこのプログラムを利用して、本事業をさらに発展させるために京都への学生の派遣を検討しており、本事業のさらなる継続を希望している。

### 5. その他

(1. ~4. の項目以外の内容で、自己評価としても何か示されたい点がありましたら、簡潔にお示しください)

特になし

## VI. その他

### 1. 代表研究者・国内参画機関研究者への質問

①課題実施また推進において、直面した困難、障害となった事柄について、ご説明ください。

特になし。

②アジア・アフリカ地域における国際共同研究推進に向けて、提案事項があればお示しください。

東南アジアの医学研究、特にゲノム医学の研究は、ここ数年シンガポールのゲノム研究所がイニシアティブをとって、華僑のネットワークを利用した多国間研究が多く開始されている。そのため、多くの研究者がシンガポールとの共同研究を始めており、わが国の東アジア地域におけるプレゼンスが弱くなりつつある。過去の研究協力のように最新技術は日本からという構図は崩れつつあり、そういった状況下でわが国がどのように指導力を発揮するかを真剣に考える必要がある。具体例として、デング熱のゲノム解析は、ベトナム人の患者の検体を用いた解析がすでにシンガポールで開始されており、タイの研究者の一部もそれに参加していると聞く。したがって、東アジアの研究コミュニティから孤立しないような協力関係の構築と共同研究体制の見直しをはかることが必須であろう。

### 2. 国外参画機関への質問

Please answer to the following questions regarding the participation of institutes which you belong to the international research collaboration funded by the Special Coordination Funds for Promoting Science and Technology (SCF). The answer is not mandatory, although your input is important for the evaluation process. We appreciate your kind cooperation.

1) Please describe your evaluation of the research collaboration you have participated. Your comment may not necessarily be limited to the specific issues regarding your research project/interest, but may also be related to the concept/system of this program. Format unspecified.

We consider the research collaboration a successful one and wish to continue the collaboration. Combining the strength of each partner results in a synergy that is very useful. In addition to the scientific knowledge from the research project, the collaboration also plays an important part in capacity building of both sites, expands the research network, spawns new projects, transfers and shares knowledge and technology. With the concept of “equal partnership manner”, the relationship and responsibility between partners is smooth and clear.

We are working on the human genetic factors on Dengue hemorrhagic fever. We have a strong background on the clinical knowledge of the disease and set up a comprehensive cohort collecting clinical data and samples. Our partner in Kyoto is excellent in human genetic analysis. By working together, we make possible the search for human genes that associate with the severity of the disease. With the collaboration, we recruited scientists, graduate students and technicians, creating more skilled staff on the human genetics. The annual

meeting updates and summarizes the data for each partner and the following discussion often leads for more idea and new projects, which expand our network and collaboration. The collaboration partially play its part in the signing of MOU between Kyoto and Mahidol university.

2) Please describe specific issues that you consider as problems, difficulties or subjects for improvements in executing collaborative research. Same as the question 1), your comment may cover wide range of aspects. Please show them by a run of the item, if possible.

We do not see major issues. We are very happy with the collaboration and support from the Special Coordination Funds for Promoting Science and Technology (SCF). But we do hope to see the improvement or more support on the following issues.

1. Flexibility in fund transfer. The current situation is that funding from each partner could be spent within the same country. Although this sounds reasonable and works well most of the time, there are situations where transferring fund and working on another country are more efficient. If a system is setup to make all processes accountable, this could be helpful.
2. Encourage exchanges of staff and students from each partner. Knowledge and technology sharing works best if the learner is in the real environment and has a hand-on experience.

3) This international collaboration research has been operated under the spirit of “equal partnership manner.” Specifically, participating bodies are required to provide all the resources necessary for their own activity. In this regard, please describe what were the contributions by your side in the following categories;

- Research expense : (please describe amount(US\$) and purpose)

The major research expense from us is from

1. Set up a comprehensive cohort of Dengue hemorrhagic fever (8-year collection) – US\$ 1,000,000
2. Grant from Mahidol university to study the human genetic factors associated with the severity of Dengue hemorrhagic fever – US\$ 300,000

- Provision of research materials / field stations etc.: (please describe details)

We provide clinical samples and clinical data collected from dengue-infected patients.

- Laboratories/Equipment : ( please describe details)

In Thailand, we set up dengue clinical cohort in Thailand with all laboratory supports including serological test, nested RT-PCR, virus isolation.

- Human resource (research scientists/assistants/etc.): ( please describe details)

The following list is the name of research scientist and other who have spent time at



Kyoto University for this collaboration.

Dr.Anavaj Sakuntabhai	Visiting professor Assistant Professor, Ramathibodi Hospital, Mahidol University Faculty of Medicine (3 months)
Dr.Prapat Suriyaphol	Visiting professor Director of Bioinformatics and Data Management for Research, Mahidol University (3 months/year)
MonthikanAksornworanart	Research scientist (2 years)
WorachartLertitthiporn	Ph.D./M.D. scholar (1 year)

- Others : ( please describe details)