

難治性寄生虫病に関する遺伝子診断法の開発

実施予定期間：平成22年度～平成24年度
代表機関：旭川医科大学医学部寄生虫学講座
代表者：伊藤 亮
国内参画機関：京都大学霊長類研究所人類進化モデル研究センター
代表者：岡本 宗裕
国外参画機関：四川省疾病情報対策センター寄生虫病研究所（中国）
代表者：Qiu Dongchuan
国外参画機関：厚生省疾病対策環境衛生総局（インドネシア）
代表者：Wandra Toni
国外参画機関：マヒドン大学熱帯医学部（タイ）
代表者：Dekumyoy Paron
国外参画機関：モンゴル国立伝染病研究センター（モンゴル）
代表者：Nyamkhuu Dulmaa
国外参画機関：ハラマヤ大学自然科学部（エチオピア）
代表者：Mekonnen Sisay Menkir

I. 概要

テニア症と囊虫症は、アジア・アフリカで深刻な問題となっている食品媒介寄生虫疾患である。本研究では、人体テニア症の感染源となる患畜（ウシ、ブタ）の発見に必要な診断技法の開発ならびに人体囊虫症患者の迅速診断法の開発を目的とする。さらに、テニア症と囊虫症流行地における住民検診にリアルタイムで用いることができる確定診断法を確立し、流行地で実施可能な疫学研究を国際共同研究として展開する。

1. 共同研究の内容

本研究の目的は下記の4点である。

- (1) 脳囊虫症患者の発見に役立つ免疫・遺伝子疫学研究を展開し、流行地をリアルタイムで把握するための研究・調査システムを構築することにより、流行地における対策と患者の治療に貢献する。
- (2) 食の安全ならびに致死性の疾患の早期診断・治療の観点から、患畜を確認する検査法の開発と地域住民を啓発する感染阻止キャンペーンを実施する。
- (3) 人体寄生テニア条虫3種類の病原性について、アジアとアフリカに分布しているテニア条虫の比較解析に基づき解明する。
- (4) 技術移転セミナーによる若手研究者の育成をこころがけ、この研究分野におけるアジア・アフリカでのリーダーシップを確保する。

Evidence based medicine の立場から、人体寄生テニア条虫の同定、交雑個体確認法の開発、分子生物学的手法を用いる感染者の確認法の確立、流行地での囊虫症とテニア症患者の迅速検査法の開発ならびに患畜個体の検査法の確立は、地域における寄生虫感染症対策や住民の健康増進及び食品の安全管理の面で大きなインパクトを与えると期待される。

2. ネットワーク構築の実現可能性

2003～2005年の振興調整費「我が国の国際リーダーシッ

プ確保：アジアにおける難治性寄生虫病流行把握戦略」、2006～2011年の学術振興会「アジア・アフリカ学術基盤形成事業：アジア・アフリカで流行している人畜共通寄生虫病研究拠点形成」を通して、基本的な国際ネットワーク（アジア、ヨーロッパ、アメリカ）は構築されている。本事業を通して、アジアを中心とするネットワークのさらなる強化、アフリカを含むネットワークの拡大に取り組む。アフリカに関しては、これまでも南アフリカ、モザンビーク、タンザニア、カメルーン、スーダン、マダガスカルの研究者と個別の交流、研究者招聘を実施してきている。本事業に今回新たに参加するエチオピアの研究グループについては、ヨーロッパとのネットワークから情報が提供されたものである。アフリカに関しても上記の各国とのネットワークを中心に、強化できると判断している。本事業を実施する国内代表機関ならびに国内参画機関が共同研究として継続的に展開してきた免疫、遺伝子検査法の研究：基礎から臨床、疫学への展開が現在、国際的に高く評価されていることから、国際的ネットワークは基本的に構築されていると判断する。今後の課題はそれを継続的に機能させるための継続的な国際共同研究への財政支援であろう。

3. 本制度により取組を支援する必要性

本事業で取り組んでいる難治性寄生虫病（脳囊虫症）の流行阻止に必要な、囊虫症患者の検査法、環境汚染の指標であり、同時に食の安全性の指標である家畜の検査法の確立は、本疾患が国内で流行していなくても、地球規模での流行拡大の深刻な現状から、本制度により積極的に支援すべき課題である。

地球規模での感染症流行に関する ODA を通した国際支援機構が存在するが、日本で開発された優れた検査法、診断法、治療法等の情報を感染症が蔓延している流行国（おもに発展途上国）に伝えるシステムが確立されていないのが現状である。その点では本事業を始め、国内で開発されてきている有用な技術成果を政府が把握し、ODA 事業情報として日本側から発展途上国に提示するシステムを構築すべき時期に来ている。最近、レアメタルの確保で資源国との経済協力が大きな問題になっているが、そのような資源国は慢性の寄生虫疾患をはじめとする感染症、環境整備の問題が山積している。資源の確保だけに血眼になるのではなく、相手国の国民の健康増進に役立つ技術支援も組み込む形での経済支援に切り替える必要がある。そのような地球規模で問題になる慢性疾患（ここでは脳囊虫症）対策を研究対象とする本事業への継続的な支援は上記の国策としての経済支援活動を将来的に支える活動になると判断している。

4. 継続性

上記のように、アジア各国の協力機関とは学術交流に関する覚書の調印を終えている。インドネシア、モンゴルに関しては JST-JICA 事業、地球規模研究課題「感染症」に申請した経緯もある。相手国におけるプライオリティが高くないとして採択されていないが、ほとんどの発展途上国で蔓延している感染症が寄生虫病であり、本事業で展開している囊虫症であり、また別の予算で展開しているエキノコックス症である。相手国側への日本からの情報提供なしに、相手国側からの提案のみを待つシステムでは折角国内で

開発されつつある実用可能な技術も埋もれてしまう危険が付きまとう。国内のみに目を向けることなく地球規模での感染症対策に目を向け、国内で開発されてきた技術を海外で利用可能な形での実用化を含む研究支援が不可欠である。旭川医科大学での中期計画に明記されている活動であり、継続性が保たれると期待している。

5. 相手国・地域との政府レベルでの協力関係の強化・構築への発展性

- (1) 中国：四川省疾病情報対策センターが現在中国国内で最も信頼性が高い研究を展開してきている。本事業においてはテニア症、囊虫症対策に向けたネットワーク構築が目的であり、四川省疾病情報対策センターから中国疾病情報対策センターに連絡していただき、中国疾病情報対策センターと協力して 2012 年に本事業による国際会議を四川省で開催したいと考えている。なお、本事業代表者、伊藤は中国疾病情報対策センターの前センター長ならびに現センター長とは旧知の仲である。
- (2) インドネシア：インドネシア厚生省疾病環境衛生総局の Dr. T. Wandra が代表であり、インドネシア政府とのネットワークが自動的に構築される。Dr. Wandra は旭川医科大学で学位を取得し、インドネシアにおける囊虫症対策研究の中心的存在である。本事業申請にあたり、インドネシア代表を Dr. T. Wandra から局長 Prof. T Y Aditama に変更するよう要請が来ている。これは Dr. Wandra が現在、寄生虫病対策の責任者でなく、心臓病対策の責任者であり、総局内での活動の円滑化を進める上で局長が代表になる提案である。局長が代表になれば、インドネシア政府との協力関係がさらに強化されると期待している。
- (3) タイ：本事業代表者、伊藤は 1999 年から 2003 年までマヒドン大学の客員教授として、学位審査等に参画し、共同研究を実施してきている。また、バンコックで開催される国際熱帯病・マラリア会議(毎年)ならびに食品、飲料水媒介人獣共通寄生虫病会議(3 年ごと)で主要なシンポジウムを世話してきており、毎年、タイ国内での調査を実施し、毎年若手研究者を招へいしてきている。
- (4) モンゴル：国立伝染病研究センターが代表機関であり、インドネシア同様、モンゴル政府とのネットワークが自動的に構築される。
- (5) エチオピア：ハラマヤ大学との共同研究を通しての新たなネットワーク構築になる。これまで、カメルーン、南アフリカ、モザンビーク、タンザニア、マダガスカルとの共同研究を実施した経験があり、エチオピアをコアに、これまでに展開してきた 5 か国を加えた地域でのネットワークの構築を考えている。本年パスツール研究所(パリ)からマダガスカルパスツール研究所における囊虫症診断法開発案件についての審査を要請されており、今後さらなる展開が期待できる。

本事業で重要視している活動は、上記の各国との個別の協力体制構築のみならず、各国から招へいしている若手研究者間での多国間交流推進である。

発展途上国側の要請は研究ではなく対策事業である。申請代表者をはじめ、日本側からのメッセージは、対策に結び付く Evidence based Control の重要性である。その意味では、相手国で必要とする技術支援を通して、研究する姿勢を身につけさせていくのが基本であろうと判断している。

6. 生命倫理・安全面への配慮について

ヒトゲノム解析は研究対象外であるが、疫学研究が含まれるため、ヘルシンキ宣言、疫学研究に関する倫理指針に沿って、旭川医科大学の倫理委員会で承認を得て実施している。相手国の代表、協力機関は各国研究機関の倫理委員会、流行地政府倫理委員会の承認を得た上で住民検診を実施し、疫学と伝搬生態学的研究を実施している。当該国の医師が倫理委員会の承認を得た上で調査に参加、実際の診断、治療にあたっており、生命倫理、安全面での問題は無い。

7. 研究実施体制

研究代表者が研究交流担当責任者を兼務する。事務局は研究支援室を中心に全面的な支援体制を確立している。

役割分担：疫学調査、調査に必要な免疫、遺伝子診断、検査法の開発総括(旭川医科大学)、患畜検出に必要な免疫、

遺伝子診断、検査法の開発分担、テニア条虫の交雑個体検出法の確立(京都大学)、流行地における予備調査、合同調査企画、実施(各国の研究機関)

- (1-1) 囊虫症患者の検出に必要な免疫診断法の簡便化と疫学調査への応用(総括)
 - (1-2) 囊虫症の感染源となるテニア症患者の検出に必要な糞便内遺伝子検査法の確立(総括)
 - (1-3) 海外での疫学調査(総括ならびに分担)
 - (1-4) 流行国研究者招聘、技術移転、若手研究者育成(総括)
 - (1-5) 流行国における囊虫症対策指針策定、全世界への発信(総括)
- (旭川医科大学)

- (2-1) テニア症患者から排出される虫体の遺伝子鑑別(総括)
 - (2-2) 患畜個体確認に必要な免疫、遺伝子検査法開発(総括)
 - (2-3) 疫学調査(分担)
- (京都大学霊長類研究所)

- (3-1) 流行地における疫学調査
(中国、モンゴル、インドネシア、エチオピア、タイ各国の研究機関ならびに協力機関)
- (3-2) 当該国で入手した寄生虫サンプル、血清、糞便を用いる免疫、遺伝子解析とそれに必要な技術移転(分担)
- (3-3) 旭川医科大学での合同会議、合同解析、共同研究論文作成(分担)

氏名	所属部局・職名	提案課題における役割
◎伊藤 亮	旭川医科大学・医学部・教授	研究代表者
○西條 泰明	旭川医科大学・医学部・教授	疫学総括
○中谷 和宏	旭川医科大学・医学部・准教授	動物モデル作成総括
○中尾 稔	旭川医科大学・医学部・准教授	遺伝子診断法総括
○迫 康仁	旭川医科大学・医学部・講師	免疫診断法総括
○柳田 哲矢	旭川医科大学・医学部・助教	遺伝子診断法開発、疫学調査
○岡本 宗裕	京都大学・霊長類研究所・教授	遺伝子診断法開発、患畜検査法開発総括
○Qiu DC	四川省疾病情報対策センター・寄生虫病研究所・所長	四川省における疫学総括
○Wandra T	インドネシア厚生省疾病対策環境衛生総局・室長	インドネシアにおける疫学総括
○Dekumyoy P	マヒドン大学熱帯医学部・准教授	タイにおける疫学総括
○Nyamkhuu D	モンゴル国立伝染病研究センター・所長	モンゴルにおける疫学総括
○Mekonnen SM	ハラマヤ大学自然科学部・准教授	エチオピアにおける疫学総括
○Craig PS	サルフォード大学生命科学部・教授	疫学専門家としての助言(研究顧問)
○Giraudoux P	フレンチコムテ大学医学部・教授	感染症伝播生態学の専門家としての助言(研究顧問)

8. 各年度の計画と実績

a. 平成 22 年度

・計画

[旭川医科大学]

(1-1) 囊虫症診断に必要な免疫診断法の簡便化: 流行地で利用可能な寄生虫を材料とする診断抗原の簡便な精製法を確立した。遺伝子組み換え抗原作製はまだ完成していない。

(1-2) テニア症診断に必要な遺伝子診断法の確立: 流行の現場でリアルタイムに実施可能な LAMP の基礎技術を開発した。

(1-3) 流行地での疫学調査: 上記計画(1-2)で開発された検査法を中国の流行現場で実施し、問題点を検討した。2011 年 1 月にインドネシア、3 月にタイでも実施予定。

(1-4) 免疫、遺伝子検査、技術移転セミナー: 2 月から 3 週間の予定で実施計画中である。

(1-5) 代表者会議: 2 月に 1 週間の予定で実施計画中である。何人かの代表者は引き続き、技術移転セミナーへの積極的参加を表明しており、セミナーならびに共同研究を実効性の高いものにするためにも、これらの研究者の参加は不可欠であると判断。

[京都大学]

(2-1) テニア条虫の遺伝子解析: 人体寄生テニア条虫、無鉤条虫とアジア条虫の交雑個体をタイのみならず、中国からも確認。

(2-2) 疫学調査: 2011 年 1 月にインドネシアで実施予定。さらに 2 月か 3 月にタイでの調査を計画中で、調整中。

(2-3) 患畜診断法の開発と評価: インドネシアで無鉤条虫虫卵を実験感染させた牛の血清検査法をほぼ確立できたが、細かな改善が必要。2 月のセミナー時に確認予定。

[国外参画機関]

- ・中国、インドネシア、タイでの合同調査を予定通りに実施し、サンプルを採取、モンゴルならびにエチオピアでは独自の調査を実施し、サンプルを採取、2 月の技術移転セミナー時に各国の研究者がサンプルの解析を行う予定。代表者会議も同時に開催予定。

・実績

(1-1) 遺伝子組み換え抗原作製では、2 種類ある診断抗原、Ag1V1 および Ag2 の内、Ag1V1 抗原を Ag2 抗原の中央部に挿入し Ag2 の立体構造を破壊し、組換え抗原の大量発現を可能にした。

(1-2) 流行の現場で実施可能な LAMP の基礎技術を改良した。

(1-3) 疫学調査を中国、インドネシア、タイで実施した。2 月から 3 月にかけて実施した技術移転セミナーで、すべての参加国の若手研究者が旭川医科大学で遺伝子診断法の習得と自分のサンプルの検査を実施した。

(1-4) 上記のように、2 月から 3 週間技術移転セミナーを実施した。

(1-5) 上記のセミナーと同時に代表者会議を実施した。

(2-1) 2008 年にサンプリングした条虫の遺伝子の解析を実施した。2010 年のサンプルについても 2008 年に見つかった雑種個体とは遺伝子構成を異にする雑種個体を発見した。

(2-2) (1-1) に記したように、バリ島での調査で、9 歳児から眼囊虫症を確認した。この囊虫症患者の隣人、従妹が感染源となる有鉤条虫に感染していたことも 1 月の調査ならびに 2 月の技術移転セミナーで確認した。タイ北部、ミャンマーとの国境地域で調査し、有鉤条虫症患者が非常に多いことを、セミナーでの遺伝子解析から確認した。

(2-3) セミナー時に家畜における囊虫感染確認に有用な診断抗原精製法の論文を作成することで合意した。[国外参画機関]

各国の研究者達が中心になって入手したサンプル(寄生虫、ヒトの糞便、血清)を用い、旭川でのセミナー時に解析した。①中国ではテニア症、囊虫症伝搬疫学研究を展開した。中国の伝統的治療法により有鉤条虫症例から 20 条寄生を確認した。②インドネシアでは 9 歳児の眼囊虫症症例を、専門誌(New England Journal of Medicine)に再投稿した。③タイではミャンマーからの難民が環境汚染源になっていること、感染者がいつも簡単にバンコックに移住できている危険な背景を確認した。④モンゴルにおいてはエキノコックス症(単包虫症)を引き起こす病原体が 2 種類であること、多包虫症症例を追加した。⑤エチオピアのエキノコックス症(単包虫症)を引き起こす病原体が 2 種類であること、ハイエナに寄生しているテニア属条虫にはこれまで報告されていない新種が含まれていることを確認した。

以上の 22 年度活動の目的、総括を **Ito A and working group members on cestode zoonoses in Asia and Africa. The first workshop on towards the control of cestode zoonoses in Asia and Africa.** として国際専門誌 **Parasites and Vectors** 4,114, 2011 に発表した。国外研究機関の若手研究者が主体的に研究活動を実施、展開でき始めており、十分な成果が得られた。

b. 平成 23 年度

・計画(1-1) 囊虫症診断に必要な免疫診断法の簡便化: 遺伝子組み換え抗原作製、迅速イムノクロマトキット開発。

・計画(1-2) テニア症診断に必要な遺伝子診断法の確立: 流行の現場でリアルタイムに実施可能な LAMP の評価。

・計画(1-3) 流行地での疫学調査: 上記計画(1-1, 1-2)で開発された検査法を中国(10 月)、タイ(11 月)、インドネシア(2012 年 1 月)の流行現場に導入、問題点の点検。

・計画(1-4) 免疫、遺伝子検査、技術移転セミナー: 前年同様 2 月から 3 週間の予定で実施計画中。

・計画(1-5) 代表者会議: 前年同様 2 月に 1 週間の予定で実施計画中。

京都大学

・計画(2-1) テニア条虫の遺伝子解析: タイ、中国から確認された 2 種条虫の交雑個体の遺伝子多型解析、交雑個体鑑別遺伝子マーカー確立。

・計画(2-2) 疫学調査: 2012 年 10 月に中国(交雑個体発育に必要な中間宿主動物調査、環境調査)、11 月にタイ、2013 年 1 月にインドネシアで感染家畜の調査を実施。研究顧問として新たに Francis Raul 准教授を招へい(京都大学)。

・計画(2-3) 患畜診断法の開発と評価: 無鉤条虫感染ウシ、アジア条虫感染ブタにおける血清検査法の確立。海外機関

- ・前年同様、中国、インドネシア、タイでの合同調査を予定。モンゴルならびにエチオピアでは独自の調査によるサンプル採取、2月の技術移転セミナー時に各国の研究者がサンプルの解析を行う予定。代表者会議も同時に開催予定。
- c. 平成24年度
- ・計画(1-3) 流行地での疫学調査: 上記計画(1-1, 1-2)で開発されたリアルタイム検査法を中国(10月)、タイ(11月)、インドネシア(2014年1月)の流行現場に導入、問題点の点検。
 - ・計画(1-4) 免疫、遺伝子検査、技術移転セミナー: 前年同様2月から3週間の予定で実施計画中。
 - ・計画(1-5) 代表者会議: 10月の中国での調査直後に中国で「アジアにおける食品媒介寄生虫病、テニア症・囊虫症会議」(中国政府CDC、四川省CDCと共催)

- を計画。
- 京都大学
- ・計画(2-2) 疫学調査: 2013年10月に中国で新しい遺伝子マーカーを用いる中間宿主調査。
 - ・計画(2-3) 患畜診断法の開発と評価: 新しい検査法を用いた検査法の総括。
- 海外機関
- ・前年同様、中国、インドネシア、タイでの合同調査に加え、モンゴルならびにエチオピアでも合同調査を実施。10月末に中国四川省で、中国政府CDC、四川省CDCと共催と共催で「アジアにおける食品媒介寄生虫病、テニア症・囊虫症会議」開催予定、2月の技術移転セミナー時に各国の研究者がサンプルの解析、同時に代表者会議を開催し、本事業総括を予定。

9. 年次計画

研究項目	1年度目	2年度目	3年度目
旭川医科大学			
(1-1) 囊虫症診断に必要な免疫診断法の簡便化	→		
(1-2) テニア症診断に必要な遺伝子診断法の確立	→		
(1-3) 流行地での疫学調査	→		
(1-4) 免疫、遺伝子検査、技術移転セミナー	→		
(1-5) 代表者会議	→		
京都大学霊長類研究所			
(2-1) テニア条虫の遺伝子解析	→		
(2-2) 疫学調査	→		
(2-3) 患畜診断法の開発と評価	→		
国外参加全機関			
(3-1) テニア症、囊虫症疫学予備調査、合同調査	→		