

20130300/A

厚生労働科学研究費補助金

地球規模保健課題推進研究事業

サハラ以南アフリカにおけるエイズ・結核研究ネットワーク構築

に関する研究

H23-地球規模-一般-001

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 服部俊夫

東北大学

目 次

1. 総括研究報告書	
南アフリカ共和国とウガンダへの訪問によるネットワーク構築	服部俊夫・・・ 1
2. 分担研究報告書	
サハラ以南アフリカにおけるエイズ・結核研究ネットワークの構築に関する研究	鈴木定彦・・・ 6
ガーナにおける現行抗エイズ治療薬(ART)の評価に関する研究とアフリカ中央部 における HIV 分子疫学の研究	山岡昇司・・・ 9
ケア拠点を活用したネットワーク構築	一瀬休生・・・ 14
MSM (Men who have sex with men)を対象とした首都圏 AIDS 対策成功事例の検討 とその技術移転の可能性について	仲宗根正・・・ 20
サハラ以南アフリカにおけるエイズ・結核研究ネットワークの構築に関する研究	久保 亨・・・ 24
ネットワークの構築	垣本和宏・・・ 29
福島原発計画区域内外で採取された家畜サンプルの放射性セシウム集積に関する調査	福本 学・・・ 33
ヒトから採取した試料の国際共有の制度とその問題点 ～インフルエンザ試料共有の枠組みの紹介～	臼澤基紀・・・ 36
3. 研究成果の刊行に関する一覧表	・・・ 69
4. 研究成果の刊行物・別刷	・・・ 76

平成 25 年度厚生労働省科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業）
研究報告書

南アフリカ共和国とウガンダへの訪問によるネットワーク構築

研究代表者

服部俊夫 東北大学 災害科学国際研究所 災害医学部門 災害感染症分野 教授

研究協力者

白澤基紀 東北大学 災害科学国際研究所

ホルロ 東北大学 災害科学国際研究所

白鳥ベアタ 東北大学 災害科学国際研究所

芦野有悟 東北大学 大学院医学系研究科

研究要旨

サハラ以南のアフリカにおける保健衛生上の最大の課題であるエイズ・結核研究ネットワーク構築を目的として、研究プロジェクト間の交流を目的とし、研究プロジェクト間の交流を実施した。今年度は情報の収集と交流、教育プログラム、研究成果の公表を昨年度に引き続いて実施した。

A. 研究目的

感染症の研究においては国際的な共同研究が重要である。我が国においてもアジア・アフリカ諸国との共同研究プロジェクトが実施されている。個別の国際共同研究相互の交流は、複数の共同研究を統括するプログラムが実施されているものの、異なる研究プログラム同士の交流を促進し、研究ネットワークを構築するという試みはこれまであまり行われていない。そこで、アフリカに拠点を持ち感染症研究を行っているプロジェクト間の研究交流を促進するためのネットワーク構築を過去二年間試みてきた。これらのエイズ・結核の両疾患を標的としてサハラ以南の

様々な国が関与しているネットワーク研究は世界で唯一と思われる。

B. 研究方法

今年度は、ネットワーク構築の具体的な実施項目として、交流、研究会、情報発信、新しい研究テーマ創出によるネットワーク化と HIV, 結核菌の薬剤耐性の解析 LAMP の導入 バイオマーカーの研究を継続実施した。

C. 研究結果

1. 南アとのネットワークの強化

アフリカでの会議を恒常化する目的で今年度は南ア K-RITH での会議を企画した。昨年より当班の南ア側のパートナーとなって

頂いた Alexander Pym 博士の企画で久保班員と K-RITH でセミナーを開くことができた。気象の変動で鈴木班員と中島研究協力者の参加が不可能となった。私のタイトルは Detection of Galectin-9 in MTB infection で久保班員は Rapid detection of TB drug resistance using real-time PCR system という演題で講演を行った。この訪問により南アとの二国間共同事業の予算申請を行うことができた。

2. 新たにウガンダとの共同研究体制の構築

さらに友人の紹介でウガンダのメッケレル大学・ムラゴ病院を訪問した。本病院のエイズ・結核治療は本年度の野口英世アフリカ賞を受賞された Alex Coutinho 学部長によりリードされている治療体系で、感染者が治療を受ける機会を増やす先駆的な活動を行った。彼は、アフリカで長く活動を続けている HIV 感染者支援団体である T A S O と共に現場で活動し、HIV/エイズの予防、治療・ケアの仕組みを構築し、アフリカで広く適用できるモデルとして普及させることで、患者家族及びコミュニティに大きな力を与えた。その普及モデルは、アフリカの最貧困層のニーズに焦点を当て、長い間医療が行き届いていなかった人々に対し HIV/エイズの治療・ケア及び支援を施すことに成功し、アフリカのニーズに応えることのできるモデルとして広く活用された。更にコウティニー博士は T A S O のコミュニティ・モデルを採用し抗レトロウイルス療法がウガンダ中に行きわたるようにそのモデルを拡大して適用した。このモデルは現在世界的に広がり、貧困者でも居

住地域で治療を受けられるようになっている。また精神科医師である Nakasujja 医師と今後の共同研究について討議し、ムラゴ病院において、結核よりも多いとされている、クリプトコッカス脳炎の診断治療に関する共同研究を行うことで合意した。

3. エルトリア、マリなどからの留学性の受け入れ。

今年度はエルトリア及びマリから国費留学性を受け入れて、それぞれ、感染症に拘わるバイオマーカーの研究を開始している。

4. 結核感染における Galectin-9 の作用

結核における matricellular 蛋白質の役割はまだ十分に検討されていない。Galectin-9(Gal-9)は免疫学的に Th1 細胞にその受容体免疫グロブリンDメイン含有分子-3、TIM-3 を介してアポトーシスを引き起こす。一方で Gal-9 は β -ガラクトシド結合ファミリーのメンバーで、Galectin は自然免疫を担う Pattern recognition molecule (PRM)でもあり、様々な病原体の糖蛋白、糖脂質に結合することが知られている。我々は急性 HIV 感染症で Gal-9 が著増していること、また急性 HIV 感染症と結核合併例の報告が極めて少ないことより、Gal-9 の抗結果得免疫能について興味を持った。Gal-9 の受容体である Tim-3 は、マクロファージ殺菌活性を刺激することがマウスでは知られている。また活性 TB 患者の Tim-3 またはガレクチン 9 を発現する CD4+および CD8+ T 細胞の数の増加することが知られている。我々の結核患者症例は発熱、腹痛、嘔吐を伴った、バングラデシュ人であった。試験的開腹を行い、結核

による癒着が認められた。その後胸水が出現したが、血中、腹水、胸水のどれからも結核菌は培養されず、なおかつ、PCR、LAMPともに陰性であった。その胸水の性状を表に示す。ここに示すように血漿中よりも胸水中の Gal-9 が極めて高値であることを発見している。さらに免疫組織染色でも肉芽腫中に強い Gal-9 の発現を認めている。これらの事実は結核感染において、Gal-9 が誘導されていることを証明している。この発現細胞の種類と他の肉芽腫における Gal-9 の発現の検索が重要と思われる(表 1)。

5. 教育用映像資料の作成

国際保健学の入門教材あるいは、サブサハラアフリカに旅行・居住する人に対する情報提供を意図し、DVD を作成した(サハラ以南アフリカにおける感染症～グローバル感染症入門～, 医学映像教育センター)。

D. 考察

サブサハラのエイズ・結核に関するネットワーク研究を三年間行わせて頂いた。テーマから班員の方々は既にアフリカで先駆的な活動をしている基礎研究者が多く、その研究者間における交流を促進することはできた。特に結核においてはRifampicin薬剤耐性も同時に発見できるGene Xpertがアフリカ全土に導入され、その有効性に関する最初のreportがPym博士も共著として発表されている。結論としては一日訓練を受けた看護婦により簡単に行うことができるが、結核患者の死亡率を有意に低下させる結果は得られなかった、という。最後はThe cost-effectiveness of this deployment strategy needs to be assessed and our

trial will provide input data for such planned analyses. (Lancet383:424-435, 2014) という言葉でしめくくられていた。一検体100円という鈴木班員達の開発しているLAMPをザンビアの会議で同席したウガンダの研究者が臨床研究を始めていた。このように我々のネットワークは広がっていることを確信して、次の機会を待ちたい。

E. 結論

南アフリカ共和国との既存のネットワークを強化し、結核における matricellular 蛋白質の役割を解明するための研究を継続している。新たな成果として、ウガンダとの研究ネットワークの拡充を行った。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. Nakajima C, Tamaru A, Rahim Z, Poudel A, Maharjan B, Aye K, Ling H, Hattori T, Iwamoto T, Fukushima Y, Suzuki H, Suzuki Y, and Matsuba T: A simple multiplex PCR for the identification of Beijing family of Mycobacterium tuberculosis with a lineage-specific mutation in Rv0679c. J Clin Microbiol. 2013 Apr 17
2. Usami O, Saitoh H, Ashino Y, Hattori T: Acyclovir reduces the duration of fever in patients with infectious mononucleosis-like illness. Tohoku J. Exp. Med. 229(2): 137-42, 2013.
3. Izumi K, Kawaji K, Miyamoto F, Shimane K, Shimura K, Sakagami Y, Hattori T, Watanabe K, Oishi S, Fujii N, Matsuoka M, Kaku M, Sarafianos SG, Kodama EN: Mechanism of resistance to S138A substituted enfuvirtide and its application to

- peptide design. *Int J Biochem Cell Biol.* 45(4):908-15, 2013.
4. Shiratori B, Osamu O, Hattori T, Yugo A. A man from South Asia presenting with abdominal pain. *BMJ Case reports*, in press.
 5. Chagan-Yasutan C, Ndhlovu LC, Lacuesta TL, Kubo T, Leano PS, Niki T, Oguma S, Morita K, Chew GM, Barbour JD, Telan EF, Hirashima M, Hattori T, Dinaano EM. Galectin-0 plasma levels reflect adverse hematological and immunological features in acute dengue virus infection. *J. Clin. Virol.* 58: 635-40, 2013.
 6. Kadowaki T, Morishita A, Niki T, Hara J, Sato M, Tani J, Miyoshi H, Yoneyama H, Masaki T, Hattori T, Matsukawa A, Hirashima M. Galectin-9 prolongs the survival of septic mice by expanding tim-3-expressing natural killer T cells and PDCA-1+ CD11c+ macrophages. *Crit Care.* 2013 Dec 9;17(6):R284 epub
 7. POEM 症候群～発見の経緯から最近の話題まで～服部 俊夫: 血液フロンティア 23 巻 6 号 844(110)-849(115)(2013)
 8. オステオポンチンは成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATL) の予後因子である。服部 俊夫、ホルロ 医学のあゆみ 印刷中
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- 該当無し
 2. 実用新案登録
該当無し
 3. その他
該当無し

表1 結核患者における胸水と血漿の検査値の比較

	Pleural fluid	plasma
OPN (ng/ml)	95	37
Gal-9 (pg/ml)	936	3
CRP (mg/dl)		4.3
SAA (µg/ml)		18.7
Total protein (mg/dl)	5.5	7.7
Glucose (mg/dl)	83	110
LDH (U/l)	153	217
ADA (U/l)	46.9	
TBGL-IgG (U/ml)	6.1	3.9
TBGL-IgA (U/ml)	0.4	0.3

平成25年度厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進事業）
分担研究報告書

「サハラ以南アフリカにおけるエイズ・結核研究ネットワークの構築に関する研究」

研究分担者 鈴木定彦 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター
研究協力者 中島千絵 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター

研究要旨

サハラ以南アフリカ地域における結核菌群菌の伝播動態を調査し、これらの制圧のための基礎データを蓄積するためのネットワークの構築を目的とする。この地域の国々の結核研究・検査担当者と結核研究ネットワークを構築し、結核菌群菌株を収集するとともに、これらの詳細な解析により対象国における結核菌群菌の蔓延状況ならびに薬剤耐性結核の伝播状況を明らかにする事を目的としている。本年度の研究では、ザンビアにおいてヒト患者より分離された結核菌群菌の薬剤感受性試験を実施し、薬剤耐性菌の蔓延状況について調査した。

A. 研究目的

結核は地球規模で蔓延している感染症である。世界保健機構（WHO）より発行された「Global Tuberculosis Report 2013」では、2012年の全世界での新規患者を約860万人、死亡者を約94万人と推定している。このことから結核は、マラリア、エイズと並んで最も重要な感染症の一つと考えられている。特にサハラ以南アフリカにおいてはエイズの蔓延に付随した結核が大きな問題となっており、この地域において適切な対策を講じ、結核を減少させる事は喫緊の課題である。

B. 研究方法

1. 結核菌群菌の分離

検体は2011年から2013年の間にザンビアにおいて患者から得られた喀痰を用いた。喀痰は常法に従ってN-Acetyl-L-Cystein-苛性ソーダ溶液により処理して可溶化・汚染除去を行った。その後、3,000 x g、15分間の遠心分離によりはホモジナズした後Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) 培地に添加し、37℃で4から8週間培養した。増殖が見られたものは、菌液を用いて塗抹・検鏡ならびにキャピリアTB法により結核菌群菌とそれ以外に鑑別した。

2. 薬剤感受性試験

培養により得られた菌液0.1mlをリファンピシン、イソニアジド、エタンブトールならびにストレプトマイシンを含むMGIT培地に添加し、更に2から4週間培養した。培養期間中に結核菌の増殖が見られたものを耐性と判定した。

C. 研究結果

薬剤感受性試験の結果を表1に示す。125の被検結核菌株のうち103株(82.4%)は主要4抗結核剤（リファンピシン、イソニアジド、エタンブトールならびにストレプトマイシン）の全てに感受性を示すものであった。リファンピシン、イソニアジド、エタンブトールならびにストレプトマイシンの単剤に対する耐性菌はそれぞれ5、2、4、2株であった。2剤以上に耐性を示す結核菌は9株(7.2%)、そのうち6株(4.8%)はリファンピシン、イソニアジドを含む2剤以上に耐性を示す多剤耐性結核菌であった。4株(3.2%)は主要4抗結核剤の全てに耐性を示していた。

D. 考察

125の被検結核菌株のうち6株(4.8%)が多剤耐性結核菌と判定された事は、ザンビアにおいて多剤耐性結核が広がり始めて

いる事を示すものであった。本研究では母数が 125 と小さい事から、今後更なる調査が必要なものと考えられた。5 株 (4.0%) がリファンピシン単剤耐性である事は興味深い。現在 WHO 推奨の元に世界規模で評価試験が実施されている GeneXpert MTB/RIF では、リファンピシン耐性と判定された場合にはこれを多剤耐性と理解して治療方針に反映させるものであるが、ザンビアの耐性結核の状況はこの考え方の再考を示唆するものである。

E. 結論

ザンビアにおいては 4.8% の結核が多剤耐性であり、今後の更なる広がりが見込まれる。また、4.0% がリファンピシン単剤耐性である事は GeneXpert MTB/RIF による多剤耐性判定が正しくない事を示すものであった。今後更なる耐性結核の調査が必要である。

F. 健康危険情報

125 の被検結核菌株のうち 6 株 (4.8%) が多剤耐性結核菌と判定された。この事は、ザンビアにおいて多剤耐性結核が広がり始めている事を示すものであった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・ Nakajima C, Tamaru A, Rahim Z, Poudel A, Maharjan B, Aye KS, Ling H, Hattori T, Iwamoto T, Fukushima Y, Suzuki H, Suzuki Y, Matsuba T. (2013) A simple multiplex PCR for the identification of Beijing family of *Mycobacterium tuberculosis* with a lineage-specific mutation in *Rv0679c*. *J. Clin. Microbiol.* 51(7):2025-2032
- ・ Phetsuksiri B, Rudeeaneksin J, Srisungngam S, Bunchoo S, Roienthong D, Mukai T, Nakajima C, Hamada S, Suzuki Y. (2013) Applicability of in-house loop-mediated isothermal amplification for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex grown on solid media. *Jpn. J. Infect. Dis.* 66 (3):249-251

2. 学会発表

- ・ Suzuki Y. Current situation of drug resistant

tuberculosis. The 21st Annual Medical Sciences Conference, Department of Medical Sciences (DMSc), Ministry of Public Health, Thailand. June 17, 2013. Centra Government Complex Hotel & Convention Centre Chaeng Watthana, Nontabri, Thailand

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許
該当無し
2. 実用新案登録
該当無し
3. その他
該当無し

表1 ザンビアにおいて分離された結核菌の主要4剤に対する耐性

	No. of Isolates
none	103
Rifampicin	5
Isoniazide	2
Ethambutol	4
Streptomycin	2
Rifampicin + Isoniazide	2
Isoniazide + Ethambutol	1
Isoniazide + Streptomycin	1
Isoniazide + Ethambutol + Streptomycin	1
Rifampicin + Isoniazide + Ethambutol + Streptomycin	4
Total isolates	125

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業）
分担研究報告書

ガーナにおける現行抗エイズ治療薬(ART)の評価に関する研究と
アフリカ中央部における HIV 分子疫学の研究

研究分担者 山岡昇司 東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究科・教授
研究協力者 井戸栄治 東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究科・特任教授
(ガーナ大学野口記念医学研究所)

研究要旨

アフリカを始めとする多くの発展途上国においてエイズ患者に対して現在処方されている WHO が第一選択肢として推奨している抗ウイルス治療法(ART)の有効性を評価するため、ガーナのある地方病院を定点観測地点として選定し、前年度に引き続き 270 名の患者の追跡調査を行った。血中ウイルス量と CD4 陽性細胞数を指標として ART 評価を行ったところ、Failure ケースは 8.1%と前年の 17.3%より更に減少し、現行の ART は概ね有効性を保持していることが明らかとなった。しかしながら、血中ウイルス量が抑制されていながら CD4 細胞数の回復が見られないケースが前年度の 14.6%から 30.0%に増加していた。NRTI 等の長期服用によって免疫細胞系に慢性的な障害が生じ始めていることが疑われ、この現象の原因究明が新たな課題として浮上して来た。また分子疫学の研究として今年度は、西アフリカに局在して存在していると言われている HIV の 2 型について最近の動向を調べてみた。ガーナから得られた HIV 陽性の 500 検体の内、Westernblot 法によって血清学的に HIV-2 と HIV-1 の重複感染と確認されたのは 14 症例 (2.8%) で、HIV-2 の単独感染は 1 症例 (0.2%) であった。この HIV-2 単独感染の患者については遺伝子解析によって prototype の HIV-2 株である GH1 に近い株であることが確認され、ほとんど消滅しつつあると思われる HIV-2 が未だにエイズの病因として根強く残っており、存在比は低いながらも確実に流行を続けていることが明らかとなった。

A. 研究目的

エイズ患者の抗ウイルス治療(ART)に際しては、先進国の場合、種々の逆転写酵素が臨床に使われているばかりでなく、インテグラーゼ阻害薬や融合阻害薬など新しいメカニズム抗ウイルス剤など様々な新薬の使用が可能である。しかし、アフリカを含む大半の発展途上国においては、そうした

高価な新薬は無論のこと、様々な副作用が起こるため今ではあまり使われなくなったプロテアーゼ阻害剤すら入手は困難である。ほぼ唯一の選択肢が、国際機関等からの援助によって配給される NRTI 2 剤と NNRTI 1 剤からなる混合薬剤であるが、この組み合わせの薬剤もガーナに導入されてからほぼ 10 年が経過しており、その有効性

がどこまで保持されているのか、きちんと科学的エビデンスに基づいて評価されて来なかったため明らかではないのが現状である。こうした背景から、本研究ではガーナで主に採用されている薬剤が実際どのくらいウイルス制御に働いているのかをより正確に評価するために、ある地方病院に登録されている患者集団を毎年追跡調査することにした。また本研究では、ダイナミックに変動しつつあるアフリカ大陸における HIV の遺伝子型プロフィールを明らかにする研究も行っている。本年度はアフリカ大陸の主に西部地域に限定して存在していると言われる HIV-2 についてガーナを例に取り上げ、その最近の実態を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

ART 評価のフィールドとしては、昨年度に引き続きガーナ共和国の首都アクラの北方に位置するイースタン州にあるコフォリデュア州立病院で調査を行った。本研究グループが同病院との共同研究を開始した 2009～2010 年には延べ約 1,100 人分の検体を収集しており、これらの臨床データと血漿や末梢血リンパ球(PBMC)が研究所内に保管され、それ以後同一の患者グループより毎年 300 人分の検体を集めることにした。平成 25 年度 (2013 年) は、前年度と同様、特にフォローアップ患者に限定して 270 検体を再採血し、それらの CD4 細胞数と血中ウイルス量を測定した。検体数を少し減らしたのは、多少死亡したこともあるが、主にはコフォリデュアの町から他の都市へ流出したりなどして、患者の追跡が幾分か困難になったことが理由で、収集の効

率を考慮して 270 検体としたに過ぎない。CD4 細胞数は BD 社の FACSCount を用いコフォリデュア州立病院にて測定し、後者は血液検体を野口研究所に持ち帰り、血漿と PBMC に遠心分離後、血漿中のウイルス量を自家で確立した LTR 領域にプライマーが設定された定量的 RT-PCR 法で測定した。薬剤耐性変異の有無については、ウイルス遺伝子の RT 領域 5'側部分を配列分析することで解析した。また分子疫学研究については、このガーナのコフォリデュア州立病院で収集した 500 検体について、Bio-Rad 社の Westernblot キットである Lavblot I と Lavblot II を用いて血清学的な確認試験を行い、HIV-1 と HIV-2 の鑑別診断を行った。また pol 領域のユニバーサルプライマーを用いて、1 型も 2 型も検出できる PCR を行い、遺伝子配列に基づく分子系統解析を行った

(倫理面への配慮)

患者からの検体採取に際しては、ヘルシンキ宣言の精神に基づき本人からの同意書を得た上で採血している。また本研究は、ガーナ大学野口記念医学研究所、東京医科歯科大学、および該当するアフリカ諸国の倫理委員会、またはそれに相当する機関の承認を受けて行われている。

C. 研究結果

ART 評価に関して、初めに血中ウイルス量の分布状況を調べたところ、検出限界 (160 copies/ml) が 248 人 (91.8%)、検出限界以上～ 10^3 copies/ml が 18 人、 10^3 ～ 10^4 copies/ml が 4 人、 10^4 copies/ml 以上の患者は 0 人となり、前年度に比べても全体的

にウイルス量はかなり抑制されていることが分かった。本研究開始時のデータと比べ、ウイルス量が抑制され、CD4 細胞数が回復している場合は治療が Success (S) のケース、逆にウイルス量が増加、CD4 細胞数が減少すれば Failure (F) のケース、またウイルス量は抑制されているが CD4 細胞数の回復が見られないような場合は Moderately Success (M) のケースという 3 つのカテゴリーに分けることにすると、270 ケースの内、S が 167 (61.9%)、M が 81 (30.0%)、F が 22 (8.1%) であった。過去 3 年間 (2011/2012/2013) のそれぞれのカテゴリー別の割合を%で示すと、S については 68.8/68.0/61.7、M については 18.4/14.6/30.0、F については 12.8/17.3/8.1 であった。F が前年度の 17.3% に比べ 8.1% と大幅に減少しており、これは昨年度の結果から臨床医を通じて特に Failure 患者に対して服薬指導を行った効果が出たものと考えられた。しかしながら、ウイルス量は抑制されているのに CD4 細胞数の回復が見られない M のケースが前年度の 14.6% から 30.0% に大幅に増加したことが顕著である。

ウイルス遺伝子の RT 領域 5'側の配列分析による NNRTI に対する耐性変異の出現状況も昨年引き続き調べたが、AZT や d4T 単剤に対する変異はかなり広範に見られたものの、NVP や EFV に対する耐性変異としてよく知られる変異は未だ出現頻度が少なく、多剤耐性と考えられる株の出現は現時点ではほとんど起こっていないことが分かった。

アフリカ大陸における HIV の分子疫学に関して、今年度は西アフリカを中心に限局

的に存在していると言われている 2 型のエイズウイルス (HIV-2) について調べた。対象検体は基本的に上記 ART 評価のためにコフォリデュア市立病院で 2011~2012 年に収集したものの中から、重複を避けた 500 検体である。ガーナではエイズが疑われる患者が来院すると、1 型と 2 型の簡易判定が出来るインド製のイムノクロマトグラムキット (Fast Response Card Test 1-2.0) を用いて鑑別診断を行い、この時 1 型の反応しか示さなかった場合、HIV-1 の単独感染として CD4 数の測定結果如何によって即治療開始か否かが判断される。2 型の反応が見られた場合は、更に Westernblot による確認試験に移ることになっているが、現実にはキットが十分に手に入らないため、そのまま CD4 細胞数のみを判断材料に治療が行われているのが実情である。Card Test では、おおよそ 1 割くらいが 2 型のバンドとの反応性を示し、これが本当に HIV-2 感染なのか、あるいは HIV-1 との交差反応がそのような結果を示すのかが問題となっていた。そこで我々が Lavbplot I および Lavbplot II を用いてきちんと Westernblot を行った結果、HIV-2 の gp140 等のバンドなど確実に HIV-2 と判定出来た症例は 500 検体中、15 であり、その内 1 検体だけ (0.2%) が HIV-2 の単独感染 (患者は 37 才の女性)、残りの 14 (2.8%) は HIV-1 と HIV-2 の重複感染であることが明らかとなった。pol 領域に設定された 1 型も 2 型も検出できるユニバーサルプライマーによって、これらの検体を PCR したところ、HIV-2 単独感染からは HIV-2 の配列が増幅され、分子系統解析から 2 型の prototype であり、以前ガーナから分離された GH1

株に近い株であることが明らかとなった。HIV-1 と HIV-2 の重複感染の検体については、いずれも HIV-1 の配列のみが増幅され、HIV-2 の配列は検出されなかった。このことがかつては HIV-2 に感染していたが、現在は HIV-1 に感染しただけなのか、あるいは検出効率が異なっているために HIV-2 が増幅出来なかったのかは現時点では不明である。しかし、興味深いことはこれら HIV-2 に感染している患者たちも少なくとも CD4 細胞数的には現行の ART が 15 人中 12 人まで有効であるように見えたことである。

D. 考察

3 年間に亘って継続して行った追跡調査の結果、ガーナにおける現行の ART は概ねその効果を保持していることを確認するものではあったが、特に今年度ウイルス量は一見抑制されているように見えながら CD4 細胞数の回復が見られないケースが大幅に増加した点が非常に気になった。もしかすると NRTI などヌクレオチドアナログを長期に摂取すると、免疫担当細胞等は慢性的な障害を受け、死滅したりして新たな細胞の供給に齟齬を来すことがあるのではなからうか。今後、この現象の原因究明が急がれねばならないと考えられた。

HIV 分子疫学の研究においては、HIV-1 の席捲によってやがては消滅するのではないかと思われていた HIV-2 が西アフリカのガーナでは未だに根強く残っており、割合は少なくなっているものの、新たな感染者を生じているほど active に流行していることが明らかとなったことは極めて重要である。これまでの血中ウイルス量の測定技術は HIV-1 のみを標的として開発されており、

HIV-2 の診断並びに同ウイルスの定量法の確立が急務と考えられた。

E. 結論

先進諸国とは異なり、エイズ治療薬が WHO が推奨している発展途上国向け 3 剤混合の ART 以外には現状他の選択肢がない特にアフリカのような貧しい発展途上国では、現処方限界を知ることは極めて重要なグローバルレベルの課題である。これまでは多剤耐性株の出現が最も警戒すべき関心点であったが、今回長期服用による細胞障害と思われるような結果が得られたことは特に注目すべきで、その現象の解明が一刻も早くなされることが肝要と思われた。分子疫学研究から、HIV-2 が今もガーナ（西アフリカ）のエイズの病原因子として少なからぬ役割を演じていることが分かったことは、これまた重要な知見である。近年日本でも複数の HIV-2 感染の報告がなされたこともあり、HIV-2 がただ消えつつあるのではなく、何らかの変異等により強い感染性を獲得する可能性を全く否定することはできない。本研究のように流行地における研究はそうした事態に備えるためにも続行しなければならないと思われた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Nii-Trebi NI, Ibe S, Barnor JS, Ishikawa K, Brandful JA, Ofori SB, Yamaoka S, Ampofo WK, Sugiura W. HIV-1 drug-resistance surveillance among

treatment-experienced and naïve patients after the implementation of antiretroviral therapy in Ghana. PLoS One. 2013 Aug 19;8(8):e71972. doi: 10.1371/journal.pone.0071972.

井戸栄治、山岡昇司. 東京医科歯科大学がガーナ大学野口医学研究所で展開している2つの感染症研究プロジェクト. ウイルス, 第63巻, 第1号: 79-86, 2013.

2. 学会発表等

1) Ido E, Karhemere S, Nakamura S, Nakaya T, Barnor J, Brandful J, Ampofo W, Aziati I, Agbosu E, Ebengho M, Bakuba K, Ikuta K, Yamaoka S, Muyembe JJ: Molecular epidemiology of HIV in the Congo basin (Democratic Republic of Congo) analyzed by high-throughput DNA sequencing. 6^{eme} Congres International de Pathologie Infectieuse et Parasitaire (CIPIP), June 13-15, 2013, Kinshasa, DRC.

2) 井戸栄治, Stormy Karhemere, Joseph Kayumba, Joachim-Massa Mukedi, Ishmael Aziati, Esinam Agbosu, William Ampofo, 伊吹謙太郎, 山岡昇司, Jean-Jacques Muyembe: コンゴ民主共和国北キヴ州に流行するHIVのサブタイプ解

析. 第54回日本熱帯医学会大会、2013年10月3-5日、長崎、日本.

3) 井戸栄治, Jacob Barnor, Ishmael Aziati, Esinam Agbosu, James Brandful, William Ampofo, George Danquah-Dampfey, Samuel Morton, Samson Ofori, 山岡昇司: ガーナ共和国におけるHIV-2感染の最新動向に関する研究. 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10-12日、神戸、日本.

4) 井戸栄治, Jacob Barnor, Ishmael Aziati, Esinam Agbosu, James Brandful, William Ampofo, George Danquah-Dampfey, Samuel Morton, Samson Ofori, 石川晃一, 山岡昇司: ガーナ国コフォリデュア州立病院における現行ARTの有効性評価に関する追跡調査研究. 第27回日本エイズ学会学術集会総会、2013年11月20-22日、熊本、日本.

5) 堀 恭徳, Nursarat A, Tungguyen H, 宇都拓洋, 森永 紀, 吉仲由之, 神奈木真理, 正山征洋, 山岡昇司: ガーナ産植物由来成分による潜伏HIV-1プロウイルス再活性化とサイトカイン産生誘導の解析. 第27回日本エイズ学会学術集会、2013年11月20日-22日、熊本、日本.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

ケニア拠点を活用したネットワーク構築

研究分担者 一瀬 休生

長崎大学熱帯医学研究所・アジアアフリカ感染症研究施設・教授

研究要旨

ケニアにおいても保健医療資源が十分でないのは例外ではない。CDC などの海外のドナーがケニア保健省と協力し、むしろドナーが強力にリードしながら、ケニアにおける結核の研究体制が構築されており、そのような中でケニアにおける結核研究、とくに薬剤耐性結核の発生状況の把握などこれからのケニアでの結核研究の基盤づくりを目指しながら、他研究機関とも共同研究を行う枠組みを模索している。ケニアにおいては、ケニア中央医学研究所における JICA による医療技術協力や医学分野での共同研究の先鞭を切っていたはずの日本であったが、特に結核研究の分野においては欧米勢に席卷され、ケニアとの共同研究体制の構築には乗り遅れてしまっているのが現状で、むしろ外国ドナーの支援や協力を受けていない国内の研究機関を探すのが難しいという状況ではある。しかし、さらにアフリカにおける日本の大学による結核研究の連携のためのネットワークづくりを目指していく。

A. 研究目的

研究目的はケニアにおけるエイズ・結核に関する疫学情報収集及びケニアにおける検査・治療の特性とその問題点の把握をおこない、その改善点を追及すると同時に共同研究者からサンプルの譲渡を受け、種々の菌株の性状解析し、ネットワーク間での比較・検討すべく、その道筋を模索することである。と同時に潜在性結核感染 (LTBI) についても研究を進める予定である (大阪市大研究グループ、松本

壮吉准教授 (現新潟大学教授) との共同研究)。

B. 研究方法

1、ケニアの保健省、結核研究の実施機関からの情報収集を行い結核に関する検査・治療面の問題点に把握などを行う。疫学情報はケニア国公衆衛生省の Division of Leprosy, Tuberculosis and Lung Disease (DLTLD), CRDR、CMR (胸部疾患研究センター) JICAケニア事務所 (菅本専門

家)、KEMRIブシア支所(ムワウ所長)等から入手した。

2、ウガンダ国境のブシア県立病院における結核患者から喀痰を採取し、ナイロビの長崎大拠点のP3ラボにおいて培養を行い、PCR法およびLAMP法により検出感度の比較を行い、薬剤感受性試験を行う。

3、ケニア共和国(結核高蔓延地域)における、潜在性抗酸菌感染症の把握、および潜在性結核と寄生虫感染との関連について調査を実施した。ナイロビから約400km離れたビクトリア湖畔のビタ地区のランダムに選んだ小学校7校を選定し、小学生269名を対象として採血し、LTBIの検出を行い、寄生虫感染との相関について検討した。

C. 研究結果

1、ケニアは結核の高蔓延国の22か国のうち、その一つに位置付けられ、結核対策は取り組むべき課題である。ケニアにおける2008年の結核患者発生数は約11万人で1990年代のその約10倍に増加している。これに対し、ケニア公衆衛生省は国家公衆衛生改善戦略計画(2008年から2012年まで)で結核対策を重点課題として取り上げている。またWHO、CDC、世界銀行などからの協力を得て、その検査と診断、治療体制の強化、結核対策のモニタリング、結核検査室の整備などの取り組みを推進した結果、患者発見率70%以上、治療成功率85%以上の国際目標を達成している(2009年:患者発見

率85%、2008年:治療成功率85%)。しかし、未だHIV結核の重複感染、多剤耐性結核患の増加、治療困難な症例の増加といった問題が大きな課題である。ケニアの結核の検査体制は技術的にも財政的にも十分に機能しているとは言いがたく、CDCなどのドナーの支援が無くてはならない。JICAケニア事務所はLED蛍光顕微鏡を用いた塗沫検査法の導入支援を行ってきている。今後もさらに本法の導入支援事業を推進するべく、専門家派遣事業を継続するとの事である。しかし、結核菌培養および薬剤感受性検査に至っては、CDC、MSFなどのドナーに依存しているのが実情である。以上がケニアにおける結核の現状と検査体制の概要であり、CDC等のドナーがほとんどの主要な地域をカバーしていて、我々が参入可能な残された地域はあまりない。しかし、我々、長崎大学ケニア拠点のP3ラボも結核の培養が可能になり、ブシアKEMRI、大阪市立大学、松本准教授との共同研究に向け、調整と整備を進めている。

2、この研究の実施に当たり、研究プロポーザルの提出を試みるも、3年間の本研究プロジェクトに2年目から参加し、新たなプロポーザルによる研究開始にむけた組織構築はできず、菌株の性状解析までには至らなかった。

3、ビクトリア湖畔のビタ地区の小学校7校の小学生を対象として、ケニアにおける潜在性抗酸菌感染症の検査

を実施した結果、240 名中 75 名 (31, 3%) が検出され、潜在性結核と寄生虫感染との関連については 75 名中、hookworm 感染がみられたのは 10 名で有意な相関が確認された。

D. 考察

ケニアなどの比較的発展していると思われる途上国においても、自前の予算のみで自立しているような独立性の高い研究機関はほとんど皆無であり、とくに結核のような大きな研究テーマの場合、アメリカ CDC などの大きなドナーとの競合は不可避で、そのような状況の中で新たな研究の柱を立てることは困難であるが、しかしこの目標に向かって、継続していくことは非常に重要であり、今後の更なる研究をめざし、施設整備および研究費獲得を行って行きたい。今回判明した潜在性結核と hookworm 感染との関連のメカニズムの解析については、更に分析を行って行く必要がある。

E. 結論

本研究によってサハラ以南アフリカで行われている結核に関する疫学・検査・治療の情報を共有し、またこのネットワークから得られる結核菌の耐性情報はこれからのこの地域の結核治療戦略に大きな意義がある。ケニアにおいてもこのような大陸の各国を結ぶネットワークへの情報提供・共有が可能となるようサンプル入手と解析結果の共有化に向けて環境を整備していく予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文

- 1) Akihiro Wadaa, Pooi-Fong Wong, Hironobu Hojo, Makoto Hasegawa, Akitoyo Ichinose, Rafael Llanes, Yoshinao Kubo, Masachika Senba, Yoshio Ichinose. Alarin but not its alternative-splicing form, GALP (Galanin-like peptide) has antimicrobial activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 28 March 2013
- 2) Sheru Wanyua, Morris Ndemwa, Kensuke Goto, Junichi Tanaka, James K' Opiyo, Silas Okumu, Paul Diela, Satoshi Kaneko, Mohamed Karama, Yoshio Ichinose and Masaaki Shimada Profile: The Mbita Health and Demographic Surveillance System. *International Journal of Epidemiology*, 42, 1678-1685, 2013

学会発表

2013 年度の研究業績 (2013 年 4 月—2014 年 3 月)

- 1) Ernest W. Apondi, Koki Taniguchi, Satoshi Komoto, Yoshimasa Maeno, Mitsutaka Wakuda, Mohammad Shah, Kouichi Morita, Yoshio Ichinose

- DETECTION AND MOLECULAR
CHARACTERIZATION OF ROTAVIRUS
STRAINS FROM DIARRHOEAL CHILDREN
IN KIAMBU, KENYA, BETWEEN 2009
AND 2011
細菌学会九州支部総会 6-7, Sep.
長崎 (口頭)
- 2) Ernest W. Apondi, Koki Taniguchi,
Satoshi Komoto, Yoshimasa Maeno,
Mitsutaka Wakuda, Mohammad Shah,
Kouichi Morita, Yoshio Ichinose
DETECTION AND MOLECULAR
CHARACTERIZATION OF ROTAVIRUS
STRAINS FROM DIARRHOEAL CHILDREN
IN KIAMBU, KENYA, BETWEEN 2009
AND 2011
第 54 回日本熱帯医学会 4-5, Oct.
長崎 (ポスター)
- 3) 井上学、岡真優子、仁木満美子、
尾関百合子、一瀬休生、濱野真二
郎、松本壮吉 ケニア共和国 Mbita
地区の児童における結核菌感染と
鉤虫感染の関連
第 54 回日本熱帯医学会 4-5, Oct.
長崎 (ポスター)
- 4) 河本聡、Ernest Wandera、富田万
由祐子、前野芳正、一瀬休生、谷
口孝喜
ケニアで検出された G12 ヒトロタ
ウイルス株ゲノムの全塩基配列の
解析
第 54 回日本熱帯医学会 4-5, Oct.
長崎 (ポスター)
- 5) Risk factor and spatial
distribution of *Shistosoma*
mansoni Infection among Primary
School Children in Western Kenya
Sachiyo Nagi, Chadeka Evans, 砂
原俊彦、Chaves Luis Fernando,
Justin Yombo K. Dan, 金子聡、一
瀬休生、松本壮吉、嶋田雅暁、濱
野真二郎
第 54 回日本熱帯医学会 4-5, Oct.
長崎 (ポスター)
- 6) Ernest W. Apondi, Koki Taniguchi,
Satoshi Komoto, Yoshimasa Maeno,
Mitsutaka Wakuda, Mohammad Shah,
Kouichi Morita, Yoshio Ichinose
DETECTION AND MOLECULAR
CHARACTERIZATION OF ROTAVIRUS
STRAINS FROM DIARRHOEAL CHILDREN
IN KIAMBU, KENYA, BETWEEN 2009
AND 2011
第 61 回日本ウイルス学会学術集
会、10-12、November、神戸
- 7) 尾関百合子、武田知芳里、岡部真
裕子、井上学、岡真優子、平山幸
雄、一瀬休生、小林和夫、松本壮
吉 ケニア共和国クワレ地区小学
生を対象とした潜在性結核感染と
寄生虫感染の関連 第 87 回日本細
菌学会総会 3月 22-24 日、2014、
東京
- 国際学会
- 1) Erick Odoyo and Yoshio Ichinose,

Etiology of Diarrhoea in Kenya, 2009–2011

Cross-Sectoral Collaboration for Health and Sustainability through Research and Action in Malawi, Chancellors' College, University of Malawi, Lilongwe, Malawi, 18th April, 2013

2) Sheru Wanyua, Morris Ndemwa, Kensuke Goto, Junichi Tanaka, James Kopyo, Satoshi Kaneko, Mohamed Karama, Yoshio Ichinose, Masaaki Shimada. Trends of Active Illness Symptoms and Health Seeking Behaviour In Rural Western Kenya: A Case Of The Mbita Health and Demographic Surveillance System. The 12th Awaji International Forum on Infection and immunity Awaji, 10–13, Sep. 2013 (poster)

3) Ernest W. Apondi, Koki Taniguchi, Satoshi Komoto, Yoshimasa Maeno, Mitsutaka Wakuda, Mohammad Shah, Kouichi Morita, Yoshio Ichinose
DETECTION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF ROTAVIRUS STRAINS FROM DIARRHOEAL CHILDREN IN KIAMBU, KENYA, BETWEEN 2009 AND 2011
The 12th Awaji International Forum on Infection and immunity, Awaji, 10–13, Sep. 2013 (poster)

4) Mohammad Shah, Erick Odoyo, Amina Galata, Cyrus Kathiiko, Gabriel Miringu, Yosio Ichinose

The emergence of *Providencia alcalifaciens*, a food born pathogen causes diarrhea among children in Kiambu, Kenya, between 2012–2013, Asia-Africa Research Forum, Sendai, Jan. 2014

5) Yoshito Fujii, Satoshi Kaneko, Samson Muuo Nzou, Matilu Mwau, Sammy M. Njenga, Chihiro Tanigawa, James Kimotho, Anne Wanjiru Mwangi, Ibrahim Kiche, Sohkiichi Matsumoto, Mamiko Niki, Osada-Oka Mayuko, Yoshio Ichinose, Manabu Inoue, Makoto Itoh, Hiroshi Tachibana, Kazunari Ishii, Takafumi Tsuboi, Lay Myint Yoshida, Dinesh Mondal, Rashidul Haque, Shinjiro Hamano, Mwatasa Changoma, Tomonori Hoshi, Ken-ichi Kamo, Mohamed Karama, Masashi Miura, Kenji Hirayama
Serological surveillance development for tropical infectious diseases using simultaneous microsphere-based multiplex assays Asia-Africa Research Forum, Sendai, Jan. 2014

6) Kensuke Goto, Morris Ndemwa, Sheru Wanyua, Satoshi Kaneko,