

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05283

研究課題名(和文) 省力的空間分布把握システムによる糸状虫症根絶の確認と再燃の早期発見

研究課題名(英文) Confirmation of eradication and early detection of relapse of lymphatic filariasis by labor saving spatial distribution grasp system

研究代表者

伊藤 誠 (Itoh, Makoto)

愛知医科大学・公立大学の部局等・客員教授

研究者番号：90137117

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,000,000円

研究成果の概要(和文)：世界規模でリンパ系フィラリア症根絶計画が進行し、この段階では根絶の確認と再燃の早期発見のためのシステム作りが必要とされている。スリランカにおけるフィールドでの、(1)小学校児童の尿中抗フィラリア抗体検査、(2)フィラリアDNA検査による媒介蚊の検査、(3)得られたデータの位置情報取得から、感染リスクの高い場所が推定できるシステムを構築することができた。このシステムにより、新たな流行地、残存している感染を見つけることができた。

研究成果の概要(英文)：The plan to eradicate lymphatic filariasis progresses on the global scale, and establishment of a system to confirm the eradication and to detect relapse promptly is necessary at this stage. We made a system to estimate the risk of filarial infection with (1) urinary anti-filarial antibody detection among school children, (2) examination of vector mosquito by filarial DNA detection, (3) acquisition of location information of the obtained data in Sri Lanka. With this system, we were able to find a new epidemic focus and remaining infection.

研究分野：寄生虫学

キーワード：リンパ系フィラリア症 スリランカ 尿診断 GPS ロガー Culex quinquefasciatus IgG4 小学生 非侵襲性

1. 研究開始当初の背景

WHO 主導によるリンパ系フィラリア症根絶計画は 2000 年に開始され 2020 年までの達成を目指す世界規模の壮大なプログラムである。流行地域住民 (総計 13 億人) の集団治療を基本戦略とし、これまでの 13 年間に 60 ヶ国で集団治療が開始された。そのうち 15 ヶ国ではすでに集団治療が終了しているが、「根絶」を如何にして確認するか、感染の再燃を如何に効率よく発見するか、が最大の課題である。

2. 研究の目的

WHO は 2011 年夏に、今後 10 年間の方針・戦略を発表した (WHO, Lymphatic Filariasis, 2011)。その基本は、現在使用されている簡便な診断キットを利用するものであるが、この ICT test には感度面での問題があり (Dreyer et al., 2008)、高価なため世界規模の計画には膨大な費用を要する。

我々は、尿を検体とするフィラリア免疫診断法 (Itoh et al. 2001) を開発した。それらは根絶/再燃の調査に必要な高い感度を持つこと、検体採取が容易で住民の協力が得られ易いことなどから世界的に注目されている。また、我々は、媒介蚊 60 匹中に 1 匹のミクロフィラリアが存在すれば確実に検出できる LAMP 法を世界に先駆けて開発した。高価な機器を要せず、PCR 法より短時間、低コストで結果が得られる (Takagi et al. 2011)。

バングラデシュにおける内臓リーシュマニア症対策プロジェクト (SATREPS, 2010-15) で確立した、住民の登録・尿検体採取・位置情報の取得を短時間で得られる画期的なシステムを、スリランカにおけるリンパ系フィラリア症の調査に取り入れ、感染者数が大きく減少した段階での、省力的な対策の評価、根絶・再燃の確認のために導入することを目的とした。

3. 研究の方法

2009 年まで 26 年間にわたって内戦が続き、フィラリア症流行のデータがほとんどないスリランカの北部・東部 (Jaffna, Trincomalee) と、かつての流行地であり、集団投薬が終了した南部 (Matara) において (図 1)、以下の (1) ~ (4) の方法を組み合わせた調査を行った。

(1) 小学校を訪問し児童から採取した尿に含まれるフィラリアに対する抗体を測定し、(2) 抗体陽性の児童が見つかった場合には、陽性者の家族と周囲の住民の血液中のフィラリア抗原を Filariasis Test Strip (FTS) キットで検出した。(3) GPS ロガーを配布して、児童の位置情報を取得し、尿中の抗フィラリア抗体価の情報と連結することで、感染リスクマップを作製した。(4) スリランカにおけるフィラリアの媒介蚊である *Culex quinquefasciatus* を Gravid Trap で採取し、フィラリア幼虫の有無を DNA で検査した。

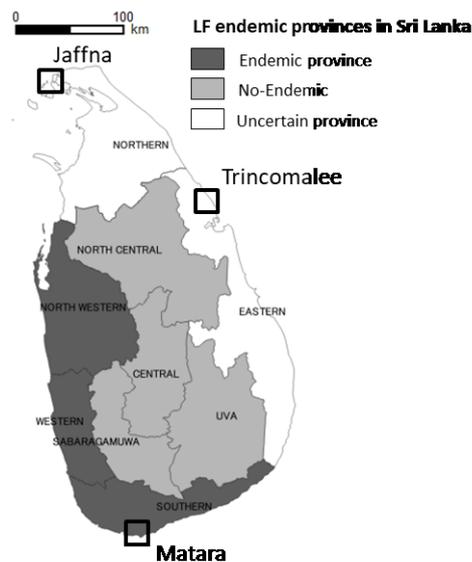


図 1. 調査地の地理的分布

4. 研究成果

(1) 隠れたフィラリア症流行地を発見するための調査

北部の Jaffna と東部の Trincomalee でそれぞれ小学校調査と、媒介蚊の調査を行った。

a) Jaffna の調査：小学校 5 校より合計 784 の尿検体を採取した。5 校の生徒の抗体陽性率は 0%~2.8% と差が認められた。全体では陽性率は 1.1% であった。陽性者は再検査されたが、すべて陰性であった。また、Gravid Trap で採集された媒介蚊 *C. quinquefasciatus* からは、フィラリア DNA は検出されなかった。これらの結果は Jaffna ではフィラリア感染は起こっていないことを示している。

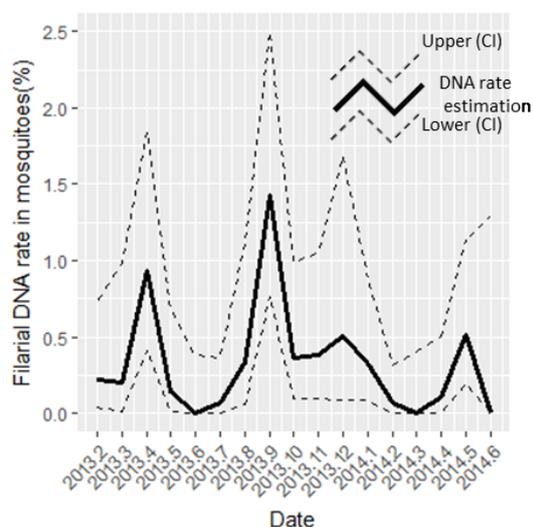
b) Trincomalee の調査：小学校 11 校の合計 1,861 人の児童を対象にした尿による抗フィラリア抗体調査を行った。生徒の抗体陽性率は小学校により 0%~4.7% と大きく異なり、全体の陽性率は 2.2% であった。抗体陽性であった児童の家族と自宅周辺の住民を対象に、尿中の抗フィラリア抗体検査と、血液中のフィラリア由来抗原の検出を行った。合計 630 人の住民を検査し、1.4% に当たる 9 人が抗原陽性と判定された。この結果は、Trincomalee では現在もフィラリア感染が継続していることを示している。しかし、集められた 11,340 匹の媒介蚊からはフィラリアの DNA は検出されなかった。

(2) 集団治療終了地域での残存・再燃を発見するための調査

前回のプロジェクトで、かつてのフィラリア症流行地であった南部の Matara 地区の小学校 5 校における、児童 736 人の尿中のフィラリアに対する抗体調査では、学校別に 0~6.6% (全体で 2.7%) の陽性率であったことを示し、陽性の児童が見つかった周辺から 17 か月にわたって媒介蚊 (14,318 匹) を採取した。本プロジェクトでは、採取した媒介蚊を 20 匹づつプールし、790 余りのプールから DNA を抽出し、含まれるフィラリア由来

DNA を PCR で検出した。その結果、*W. bancrofti* の DNA が検出され、WHO による Elimination が認証された後も少なからずフィラリアが残存していることがわかった。また、陽性率が月によって大きく変動していたことから、今後の調査時期の選定に注意が必要であることがわかった (図 2)。

図 2. 蚊体内の *W. bancrofti* DNA 陽性率推移



(3) フィラリア感染を予測するリスクマップの作成

Trincomalee で抗体・抗原陽性者が見つかったことから、範囲を広げて小学校調査を行った。全生徒 358 人から尿を採取するとともに、GPS ロガーを全生徒に配布し各生徒の住居を地図上にプロットした。抗体価分布の地理的集積域をローカルモラン統計量により算出、可視化することを通して、この地区での感染リスクマップを作成することができた (図 3)。

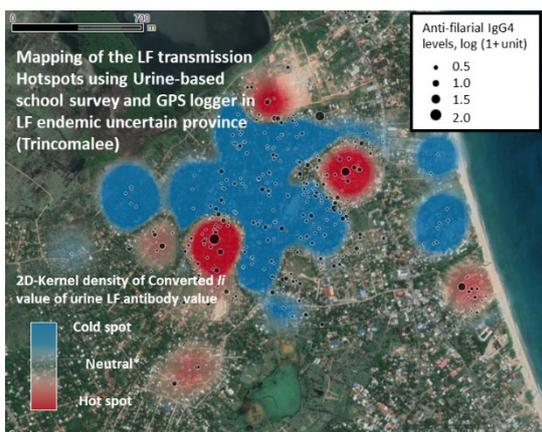


図 3. Trincomalee におけるフィラリア感染リスクマップ：赤の部分に尿中抗フィラリア抗体陽性学童の地理的集積が確認された。

(4) 消滅したと考えられていたもう一つのリンパ系フィラリア、*Brugia malayi* の発見

Galle 周辺で発見されたフィラリアの遺伝子解析をした結果、*W. bancrofti* とは異なる *B. malayi* であることがわかった。他の地域で

採取された蚊からも *B. malayi* を検出しており、低い感染率ながら広い範囲に分布していることを予想させる結果であった。これまでの WHO が推奨してきた抗原検査では *B. malayi* が検出できないため、尿中抗体検出のための抗原として、*B. malayi* 感染も同時に検出できるように、SXP1 とマレー糸状虫診断用の BmR1 抗原の融合タンパクを作成した。

(5) 現地での検査体制の確立

長年にわたる Galle のルフナ大学とのフィラリア症疫学についての共同研究では、現地の研究室の設備が整備できておらず、抗体測定などは日本で実施せざるを得なかったが、本プロジェクトの間に整備が進み、技術移転も完了し、集められた検体はすべて現地の研究室で測定することができた。

本プロジェクトの計画時に含まれていたケニアならびにバングラデシュのフィラリア症調査は、予算とダッカ襲撃テロ事件の影響でとりやめ、スリランカの調査・研究に集中する結果となったが、当初の目的はほぼ達成された。

<引用文献>

- [1] WHO, Lymphatic Filariasis: Monitoring and epidemiological assessment of mass drug administration, 2011
- [2] Dreyer et al., Am J Trop Med Hyg, 78:28-34, 2008
- [3] Itoh M, et al., Sensitive and specific ELISA for the diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection using urine samples. Am. J. Trop. Med. Hyg. 65, 2001, 362-5
- [4] Takagi et al., Development of loop-mediated isothermal amplification method for detecting *Wuchereria bancrofti* DNA in human blood and vector mosquitoes. Parasitol Int. 60, 2011, 493-7

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① Eamudomkarn C, Sithithaworn P, Sithithaworn J, Kaewkes S, Sripa B, Itoh M. Comparative evaluation of *Strongyloides ratti* and *S. stercoralis* larval antigen for diagnosis of strongyloidiasis in an endemic area of opisthorchiasis. Parasitol Res. 査読有、2015 Jul; 114 (7): 2543-51. doi: 10.1007/s00436-015-4458-3. Epub 2015 Apr 17.
- ② Kobayashi T, Hayakawa K, Mawatari M, Itoh M, Akao N, Yotsu RR, Sugihara J, Takeshita N, Kutsuna S, Fujiya

Y, Kanagawa S, Ohmagari N, Kato Y. Loiasis in a Japanese Traveler Returning from Central Africa. Trop Med Health. 査読有、2015 Jun; 43 (2): 149-53. doi: 10.2149/tmh.2015-05.

- ③ 伊藤誠、高木秀和 リーシュマニア症：バングラデシュの内臓リーシュマニア症を中心に。腎臓内科・泌尿器科。査読無、2015. 2(5) : 513-518
- ④ 長岡史晃、伊藤誠、角坂照貴、高木秀和 過去5年間に当教室に検査依頼のあったフィラリア感染を疑う症例について Clinical Parasitology. 査読無、2015. 26(1). 68-70.
- ⑤ Nzou SM, Fujii Y, Miura M, Mwau M, Mwangi AW, Ito M, Salam MA, Hamano S, Hirayama K, Kaneko S. Development of multiplex serological assay for the detection of human African trypanosomiasis. Parasitol Int. 査読有、2016 Apr; 65 (2): 121-7. doi: 10.1016/j.parint.2015.10.008.
- ⑥ Qiu XG, Nakamura-Uchiyama F, Nawa Y, Ito M. A tool for mass-screening of paragonimiasis: an enzyme-linked immunosorbent assay with urine samples. Trop Med Health. 査読有、2016 Jun 29; 44: 19. doi: 10.1186/s41182-016-0019-4.
- ⑦ 長岡史晃、Chia-Kwung Fan、奈良武司、高木秀和、角坂照貴、伊藤誠。フィラリア症を原因としない象皮病 -podoconiosis を疑った症例- Clinical Parasitology. 査読無、2016 27 (1): 17-19
- ⑧ 黒澤 修兵、武藤 秀治、山元 佳、北山 沙知、大西 繁、佐久間 香枝、伊藤 誠、高木 秀和、宮脇 修、大橋 一輝。陰囊腫大を主訴に来院し末梢血にマイクロフィラリアを認めたバンクロフト糸状虫症の1例。臨床血液 査読有、2017, Vol. 58 No. 3 p. 187
- ⑨ Yahathugoda TC, Weerasooriya MV, Samarawickrema WA, Kimura E, Ito M. Impact of two follow-up schemes on morbidity management and disability prevention (MMDP) programme for filarial lymphedema in Matara, Sri Lanka. Parasitol Int. 査読有、2018 Apr;67 (2): 176-183. doi: 10.1016/j.parint.2017.11.005.

[学会発表] (計 13 件)

- ① 過去5年間に当教室に検査依頼のあったフィラリア感染を疑う症例について 長岡史晃、伊藤誠、角坂照貴、高木秀和

第 26 回日本臨床寄生虫学会大会、栃木県総合文化センター、宇都宮、栃木 2015 年 6 月

- ② Benign strategies for lymphatic filariasis control. 伊藤 誠. 68 回日本寄生虫学会南日本支部大会 長崎大学医学部ポンペ会館 2015 年 10 月
- ③ 抗唾液腺抗体レベルによるサンショウバエ刺咬調査, 伊藤誠, 高木秀和, 東城文柄, 小笠原絵美, 長岡史晃, 野入英世 第 56 回日本熱帯医学会. 大阪大学コンベンションセンター 2015 年 12 月
- ④ 簡便なフィラリア症疫学調査のための ELISA プレート作成法の検討 長岡 史晃、高木 秀和、伊藤 誠 第 85 回日本寄生虫学会大会. 宮崎市民プラザ 2016 年 3 月
- ⑤ ラオスのタイ肝吸虫症：胆管癌の高リスクグループ発見のための尿検査. 伊藤 誠、サトウ 恵、Tiengkham Pongvongsa、Tippayarat Yoonuan、Surapol Sanguankiat、Jitra Waikagul、長岡 史晃、Sato Otake Marcello、門司和彦. 第 85 回日本寄生虫学会大会. 宮崎市民プラザ 2016 年 3 月
- ⑥ 内臓リーシュマニア症診断法の開発：尿中抗原の検出. 高木秀和、東城文柄、野入英世、伊藤誠. 第 85 回日本寄生虫学会大会. 宮崎市民プラザ 2016 年 3 月
- ⑦ Survey of lymphatic filariasis in the civil war disturbed areas in Sri Lanka. Rahman MA, Yahathugoda CT, Ruben J, Kannathasan S, Muruganathan A, Premarathne P, Takagi H, Nagaoka F, Weerasooriya MV, Ito M. 第 57 回日本熱帯医学会. 一橋大学 一橋講堂 2016 年 11 月
- ⑧ フィラリア症を原因としない象皮病 -podoconiosis を疑った症例-. 長岡史晃、Chia-Kwung Fan、奈良武司、高木秀和、角坂照貴、伊藤誠. 第 27 回日本臨床寄生虫学会. 石川県政記念しいのき迎賓館 2016 年 6 月
- ⑨ スリランカにおける *Brugia malayi* の再燃の可能性について. 高木秀和、Yahathugoda CT、長岡史晃、Weerasooriya MV、伊藤誠. 第 72 回日本寄生虫学会西日本支部大会 2016 年 10 月
- ⑩ 長期保存が可能な抗原吸着 ELISA プレートの疫学調査への応用. 長岡史晃、高木秀和、伊藤誠. 第 86 回日本寄生虫学会大会 北海道大学 学術交流会館 2017

年 5 月

- ⑪ スリランカにおけるリンパ系フィラリア症未調査地を対象とした省力的疫学調査. 高木 秀和、Rahman MA、Yahathugoda TC、長岡 史晃、Weerasooriya MV、伊藤誠. 第 86 回日本寄生虫学会大会 北海道大学 学術交流会館 2017 年 5 月
- ⑫ 輸入感染症としてのアフリカ風土病“ロア糸状虫症”を通して 考察する国境を越える感染症対策. 三島伸介, 西山利正, 伊藤誠, 長岡史晃. 第 58 回日本熱帯医学会大会 東京大学 本郷キャンパス 2017 年 11 月
- ⑬ バングラデシュにおける GPS ロガー配布と尿検査を併用した 小学校調査による広域的なカラアザール流行の省力的モニタリング. 東城 文柄, 伊藤 誠, 小笠原絵美, Mohammad Sohel, 長岡史晃, 野入英世. 第 58 回日本熱帯医学会大会 東京大学 本郷キャンパス 2017 年 11 月
- 〔図書〕(計 6 件)
- ① 伊藤 誠. 今日の治療指針 2015、疾患編、糸状虫症. 東京: 医学書院 2015.1408-9
- ② Sharmina Deloer, Sohel Mohammad Samad, Hidekazu Takagi, Chatanun Eamudomkarn, Kazi M. Jamil, Eisei Noiri and Makoto Itoh. Changes of Leishmania Antigens in Kala-Azar Patients' Urine After Treatment Kala azar in South Asia, Jha TK, Noiri E.(Eds) Springer, 2016, 135-140
- ③ Fumiaki Nagaoka, Hidekazu Takagi, Eisei Noiri and Makoto Itoh. Antibody Capture Direct Agglutination Test (abcDAT) for Diagnosis of Visceral Leishmaniasis with Urine. Kala azar in South Asia, Jha TK, Noiri E.(Eds) Springer, 2016, 161-165
- ④ Hidekazu Takagi, Makoto Itoh and Eisei Noiri. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP): Molecular Diagnosis for the Field Survey of Visceral Leishmaniasis. Kala azar in South Asia, Jha TK, Noiri E.(Eds) Springer, 2016, 167-171
- ⑤ Bumpei Tojo, Makoto Itoh, Mohammad Sohel Samad, Emi Ogasawara, Dinesh Mondal, Rashidul Haque and Eisei Noiri High Resolution Mapping of Kala-Azar Hot Spots Using GPS Logger and Urinary Antibody Measurements. Kala azar in South Asia, Jha TK, Noiri E.(Eds) Springer,

2016, 257-270

- ⑥ Bumpei Tojo, Makoto Itoh, Shyamal Kumar Paul, Mohammad Sohel Samad, Emi Ogasawara, Fumiaki Nagaoka, Dinesh Mondal, Rashidul Haque and Eisei Noiri Geography and Reality of Kala-Azar Endemic in Bangladesh, Analysis Using GIS and Urine-Based Mass Screening Kala azar in South Asia, Jha TK, Noiri E.(Eds) Springer, 2016, 271-285

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 誠 (ITOH, Makoto)

愛知医科大学・医学部・教授、平成 29 年度は客員教授

研究者番号: 90137117

(2) 研究分担者

濱野 真二郎 (HAMANO, Shinjiro)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授

研究者番号: 70294915

東城 文柄 (TOJO, Bumpei)

東京大学・医学部付属病院(H27)・助教

東京大学・空間情報科学研究センター (H28)・特別研究員

研究者番号: 90508392

(H29: 東京大学・農学部・特任研究員: 連携研究者)

高木 秀和 (TAKAGI, Hidekazu)

愛知医科大学・医学部・講師

研究者番号: 90288522

(3) 連携研究者

砂原 俊彦 (SUNAHARA, Toshihiko)

長崎大学・熱帯医学研究所・助教

研究者番号: 50264156

(4) 研究協力者

長岡 史晃 (NAGAOKA Fumiaki)

愛知医科大学・医学部・助手

WEERASOORIYA Mirani V

ルフナ大学 (スリランカ)・医学部・教授

YAHATHUGODA Thishan C.

ルフナ大学 (スリランカ)・医学部・講師

平成 30 年に教授に昇進