

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2016～2020

課題番号：16H02770

研究課題名(和文)慢性シャーガス病の合併症早期予測因子の探索 - ポリビアコホート研究

研究課題名(英文)Early biomarkers for prediction of complications in chronic Chagas disease

研究代表者

平山 謙二 (Hirayama, Kenji)

長崎大学・熱帯医学・グローバルヘルス研究科・教授

研究者番号：60189868

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,800,000円

研究成果の概要(和文)：シャーガス病は、病原原虫がサシガメによってヒトに感染する寄生虫疾患で、ポリビアの国土の半分を占める風土病である。本研究の目的は、若年層における慢性シャーガス病の合併症(心疾患、消化器疾患)の有無を調べ、早期発症者の血中バイオマーカーを危険因子として特定し、早期診断に寄与することである。サンタクルスの国立大学の2017年の新入生の陽性率は5%で、このうちインフォームドコンセントを得た陽性72名、陰性53名を対象に、心電図、胸部X線、大腸の造影X線による合併症の診断を行った。その結果、意外にもシャーガス陽性群と陰性群で大腸および心臓の合併症の頻度に差がないことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で示された結果は、これまでのシャーガス病の合併症に関する知識と相反するものであり、自然感染が減少し、母子感染した後、新生児期や小児期に治療を試みられた世代の慢性シャーガス病の合併症の発症に関してまったく新しい知見が得られた可能性がある。現在、抗体検査の精度や感度、リアルタイムPCRによる血中DNA検査などを追加して行い、これまでの診断基準の見直しを行っている。

研究成果の概要(英文)：Chagas disease is a parasitic disease caused by *Trypanosoma cruzi* transmitted to humans by a Triatomine insects. Chagas disease in Bolivia is endemic that covers half of the country. The National University in Santa Cruz conducts annual antibody testing and the positive rate in 2017 was 5%. The aim of this study was to examine the presence of complications of chronic Chagas disease (cardiac and gastrointestinal diseases) in young people and to identify biomarkers in the blood of those who develop early disease as risk factors and to contribute to early diagnosis. In 2017, 72 positive and 53 negative subjects who gave an informed consent were diagnosed for complications by ECG, chest X-ray and contrast-enhanced X-ray of the colon. The results showed, surprisingly, that there was no difference in the frequency of the colonic complication megacolon between the Chagas-positive and negative groups. The same things happened in ECG abnormalities. The results were contrary to expectations.

研究分野：寄生虫学(含衛生動物学)

キーワード：シャーガス病 ポリビア クルーズトリパノソーマ 原虫感染症 昆虫媒介感染症 拡張型心筋症 巨
大結腸症 慢性感染症

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19, F-19-1, Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 中南米地域を中心に慢性シャーガス病患者は 500 万人を数え、非常な健康上の問題となっていた。WHO は顧みられない熱帯病として 20 の疾患を指定し、重点化した取り組みを開始していた。

(2) 中南米地域の中でもとりわけ、シャーガス病による健康被害が深刻だったのはポリビアで、罹患率を反映するとされる抗体保有率は全体でも 6-16%と見積もられ、WHO,および政府が主導するシャーガス病制圧国家プログラムの施行後、10 年以上経過してもサンタクルースやコチャバンバなどの地域では 20%近くの罹患率を保っていた。

(3) 研究者らはポリビアで 20 年近く現地の研究者と共同研究を行い、慢性シャーガス病の合併症の発生頻度が約 30%であり、その発症には原虫の違いよりは、ヒト側の遺伝因子特に HLA クラス 1 の特定のアレルが重要であることを報告した。さらに、小児治療プログラムに参画し、小学生のベンズニダゾール治療の長期フォローアップを行い、その治療効果が約 60%前後であることを見出した。また治療効果の指標として従来の原虫血症の PCR による判定ではなく、炎症性サイトカイン IL-17A の血中レベルが使用可能であることを発見した。

2. 研究の目的

(1) シャーガス病の制圧プログラムをすり抜けた新入学大学生のシャーガス陽性者の慢性合併症の程度および頻度を観察すること。

(2) 早期に合併症を発症する 20 歳前後の若年者に特異的に見られるバイオマーカーを同定し、早期発見早期治療へとつなげる。

3. 研究の方法

(1) 血清診断によりポリビアサンタクルース市のガブリエルレネモレノ自治大学の薬学生化学部新入学生を中心にシャーガス病のスクリーニングを行う。この過程は大学全体のサービスとして行われているものである。

(2) 検査後、陽性、および陰性の学生をランダムに抽出し、研究の主旨を説明し早期の病態変化を調べるために、心電図、胸部エックス線、大腸のバリウム造影検査を行うことおよび採血を行うことに同意を得たうえで、参加者を登録し、臨床検査を開始した。

(3) 採血および上記の臨床検査終了後、専門医による診断を確定し、シャーガス病に特徴的な画像や心電図変化、心臓のサイズなどのデータをまとめた。

(4) 典型的な合併症のグループとそうでないグループについて、血液中のたんぱく質、あるいは DNA に特徴的なものがないか検討した。

4. 研究成果

(1) 表 1 に示すように、多数の参加者をリクルートすることができた。当初ある程度苦痛を伴う大腸造影についての参加者が少数になることを懸念したが、実際には 129 名中 89 名がこの検査を受けてもらうことができた。

Table 1 Participants

Status of participants (n=129)

	ICF ^ CRF	ECG	X-RAY	Barium	Blood
Completed	126	92	82	81	123
Not completed	0	32	42	43 ^b	1
Pending	0	2	2	2	2
Left study	3	3	3	3	3
	129	129	129	129	129

(2) 大腸造影検査によるシャーガス病合併症の検出

表 2 に示すように、抗体陽性者、および陰性者のいずれのグループにおいても、何らかの大腸の拡大や延長の異常像が見られ、ほぼ全員にシャーガス病に関係なく巨大結腸症あるいは結腸延長症が見られた。この結果の解釈はまだできておらず、この地域の住民に何らかの遺伝的なあるいは環境的な要因があるのか、あるいは血清診断が問題なのかかわかっていない。

Table 2. Abnormality of colon frequently observed in the participants

Barium enema (n=87)

Result of tests	Seropositive n=46		Seronegative n=41	
	n	%	n	%
Normal	2	4.3	1	2.4
Abnormal				
Dolico megacolon	4	8.7	1	2.4
Dolicosigma	20	43.5	12	29.3
Dolicocolon	16	34.8	15	36.6
Dolicocolon・Dolicomegasigama	1	2.2	0	0
Dolicomegasigma	3	6.5	12	29.3
Total	46	100	41	100.0

(3) 胸部レントゲン検査および心電図検査による心臓シャーガス病を示す合併症の検出

表 3 に示すように、検査を受けた学生の心電図異常はいずれのグループも 20%前後で特に相違は見られなかった。しかし、早期に見られる心電図異常として報告されている不完全右脚ブロックについては血清陽性グループで頻度が上昇していた。そのほかの異常についても、よりシャーガス病による影響の強い房室ブロックなどを加えて、特異的な変化を起こした学生を早期変化群とすることが可能かもしれない。

Table 3. ECG abnormality observed in both groups but iRBB showed more in Chagas positives

ECG results (n=95)

Result of tests	Seropositive n=49		Seronegative n=46	
	n	%	n	%
Normal	34	69.4	31	67.4
Abnormal				
iRBBB	6	13.0	2	4.3
Other abnormality	9	19.6	13	28.3
Total	49	100	46	100.0

< 引用文献 >

1. Iglesias Rodríguez IM, Mizukami S, Manh DH, Thuan TM, Justiniano HA, Miura S, Ito G, Huy NT, Smith C, Hirayama K. Knowledge, behaviour and attitudes towards Chagas disease among the Bolivian migrant population living in Japan: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2020 Sep 14;10(9):e032546. doi: 10.1136/bmjopen-2019-032546. PMID: 32928842
2. Mochizuki K, Inaoka DK, Mazet M, Shiba T, Fukuda K, Kurasawa H, Millerioux Y, Boshart M, Balogun EO, Harada S, Hirayama K, Bringaud F, Kita K. The ASCT/SCS cycle fuels mitochondrial ATP and acetate production in *Trypanosoma brucei*. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*. 2020 Aug 4;148283. doi: 10.1016/j.bbabi.2020.148283. Online ahead of print. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*. 2020. PMID: 32763239
3. Vásquez VC, Russomando G, Espínola EE, Sanchez Z, Mochizuki K, Roca Y, Revollo J, Guzman A, Quiroga B, Rios Morgan S, Vargas Ortiz R, Zambrana Ortega A, Espinoza E, Nishizawa JE, Kamel MG, Kikuchi M, Mizukami S, Na-Bangchang K, Tien Huy N, Hirayama K. IL-17A, a possible biomarker for the evaluation of treatment response in *Trypanosoma cruzi* infected children: A 12-months follow-up study in Bolivia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Sep 25;13(9):e0007715.
4. Tani O, Akutsu Y, Ito S, Suzuki T, Tateishi Y, Yamaguchi T, Niimi T, Namatame I, Chiba Y, Sakashita H, Kubota T, Yanagi T, Mizukami S, Hirayama K, Furukawa K, Yamasaki K. NMR Biochemical Assay for Oxidosqualene Cyclase: Evaluation of Inhibitor Activities on *Trypanosoma cruzi* and Human Enzymes. *J Med Chem*. 2018 Jun 14;61(11):5047-5053. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00484. Epub 2018 Jun 4. Erratum in: *J Med Chem*. 2018 Jul 26;61(14):6399.
5. Ohyama K, Huy NT, Yoshimi H, Kishikawa N, Nishizawa JE, Roca Y, Revollo Guzmán RJ, Velarde FU, Kuroda N, Hirayama K. Proteomic profile of circulating immune complexes in chronic Chagas disease. *Parasite Immunol*. 2016 May 25. doi: 10.1111/pim.12341.
6. Del Puerto F, Kikuchi M, Nishizawa JE, Roca Y, Avilas C, Gianella A, Lora J, Gutierrez Velarde FU, Hirayama K. 21-Hydroxylase gene mutant allele CYP21A2(*)15 strongly linked to the resistant HLA haplotype B(*)14:02-DRB1(*)01:02 in chronic Chagas disease. *Hum Immunol*. 2013 Jan 31
7. Del Puerto F, Nishizawa JE, Kikuchi M, Roca Y, Avilas C, Gianella A, Lora J, Velarde FU, Miura S, Komiya N, Maemura K, Hirayama K. Protective Human Leucocyte Antigen Haplotype, HLA-DRB1*01-B*14, against Chronic Chagas Disease in Bolivia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012 Mar;6(3):e1587. Epub 2012 Mar 20.
8. del Puerto R, Nishizawa JE, Kikuchi M, Iihoshi N, Roca Y, Avilas C, Gianella A, Lora J, Velarde FU, Renjel LA, Miura S, Higo H, Komiya N, Maemura K, Hirayama K. Lineage analysis of circulating *Trypanosoma cruzi* parasites and their association with clinical forms of Chagas disease in Bolivia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 May 18;4(5):e687.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Phuong NTN, Manh DH, Dumre SP, Mizukami S, Weiss LN, Van Thuong N, Ha TTN, Phuc LH, Van An T, Tieu TM, Kamel MG, Morra ME, Huong VTQ, Huy NT, Hirayama K.	4. 巻 18(1):10
2. 論文標題 Plasma cell-free DNA: a potential biomarker for early prediction of severe dengue.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Clin Microbiol Antimicrob.	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12941-019-0309-x. PMID: 30871553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Velasquez Velasquez C, Russomando G, Espanola EE, Sanchez Z, Mochizuki K, Roca Y, Revollo J, Guzman A, Quiroga B, Rios Morgan S, Vargas Ortiz R, Zambrana Ortega A, Espinoza E, Nishizawa JE, Kamel MG, Kikuchi M, Mizukami S, Na-Bangchang K, Tien Huy N, Hirayama K.	4. 巻 13(9):e0007715.
2. 論文標題 IL-17A, a possible biomarker for the evaluation of treatment response in Trypanosoma cruzi infected children: A 12-months follow-up study in Bolivia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS Negl Trop Dis .	6. 最初と最後の頁 e0007715.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pntd.0007715.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Clara Vasquez Velasquez, Graciela Russomando, Emilio Espinola, Zunilda Sanchez, Kota Mochizuki, Yelin Roca, Jimmy Revollo, Angelica Huzman, Benjamin Quiroga, Susana Rios Morgan, Juan Eiki Nishizawa, Mihoko Kikuchi, Shusaku Mizukami, Kesara Na-Bangchang, Tien Huy Nguyen, Kenji Hirayama.
2. 発表標題 Followup study during and after two month regimen of benznidazole in pediatric chronic Chagas patients in Bolivia
3. 学会等名 ICOPA 2018, 14th International Congress of Parasitology（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平山謙二、Juan Eiki Nishizawa, Angelica Guzman, Shusaku Mizukami, Clara Vasquez Velasquez
2. 発表標題 慢性シャーガス病治療薬の探索
3. 学会等名 International Course on Advances in Gastroenterology and Digestive Endoscopy（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	金子 聡 (Kaneko Satoshi) (00342907)	長崎大学・熱帯医学研究所・教授 (17301)	
研究 分担者	江口 晋 (Eguchi Susumu) (80404218)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授 (17301)	
研究 分担者	吉岡 浩太 (Yoshioka Kota) (80750041)	長崎大学・熱帯医学・グローバルヘルス研究科・客員研究員 (17301)	削除：平成28年8月24日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------