

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05842

研究課題名(和文) ケニアのHIV感染および非感染小児下痢症における腸管寄生原虫の役割

研究課題名(英文) Intestinal parasites in diarrhea children with or without HIV infection

研究代表者

畢 袖晴 (BI, Xiuqiong)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：50565413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はケニア小児の腸内寄生原虫の感染危険因子を調査した。HIV感染児のアメーバ感染率は非感染児より低かった(63.2% vs. 78.8%,  $P=0.02$ )、高いCD4/CD8比はアメーバ感染と関連していた(OR 3.3,  $P<0.01$ )。HIV感染女児のジアルジアBの感染率はHIV感染男児とHIV非感染女児より低かった(15.6% vs. 40.5%と37.8%,  $P<0.01$ と0.02)。また、飲用水の煮沸しないこと(OR 3.88,  $P=0.04$ )および兄弟などの世話をすること(OR 2.8,  $P=0.01$ )はジアルジアB感染の危険因子であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果より、ケニアの小児では、アメーバとジアルジアBは、感染経路は共通しているにもかかわらず、HIV感染に及ぼす影響は異なっていた。HIV感染はアメーバ感染の危険因子ではなく、逆に、アメーバ感染は小児のよい免疫状態を示す指針であった。HIV感染は男児でジアルジアB感染の危険因子であるが、女児ではなかった。また、飲用水を煮沸しないことおよび兄弟の世話をすることがジアルジアB感染の危険因子であった。よって、ジアルジアBの感染は衛生状態と関係し、HIV感染との関係は男女で違う傾向であることが示唆された。飲用水の品質改善は小児のジアルジアBの感染予防において重要である。

研究成果の概要(英文)：We investigated the prevalence and risk factors of Entamoeba species and Giardia intestinalis infections in Kenyan children with and without HIV infection. The rate of Entamoeba spp. infection in HIV-infected children [HIV(+)] was lower than in HIV-uninfected children [HIV(-)] (63.2% vs. 78.8%,  $P=0.02$ ), and CD4/CD8 ratio was related with it ( $1$  vs.  $<1$ , OR 3.3,  $P<0.01$ ). For Giardia assemblage B infection, the rate in HIV(+) females was lower than in HIV(+) males and HIV(-) females (15.6% vs. 40.5% and 37.8%,  $P<0.01$  and 0.02), no boiling drinking water (OR 3.8,  $P=0.04$ ) and nursery care of siblings (OR 2.8,  $P=0.01$ ) were risk factors. Entamoeba and Giardia assemblage B infections were incoherently correlated with HIV infection. Entamoeba infection maybe be an indicator of the children's better immune status, whereas Giardia assemblage B infection was related to hygienic conditions. The hygienic quality of drinking water needs to be improved to prevent the Giardia infection.

研究分野：ウイルス感染症

キーワード：HIV感染 腸管寄生原虫 免疫 リスクファクター 小児

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

エイズ診断の指標疾患に原虫症(クリプトスポリジウム下痢症)が含まれることで、原虫感染は一般にヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染と関連すると考えられてきた。しかし、我々は、途上国の小児において、HIV感染はアメーバ(*Entamoeba*, E)感染の危険因子ではなく、ジアルジア遺伝子型Bの感染危険因子であることを見出した。これは、HIV感染における腸管寄生原虫の感染にこれまでに考慮されてこなかった何らかの機序が存在することを示唆しており、その機序解明は、HIV感染管理に新たな視点をもたらす可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究は HIV 感染と非感染小児の免疫学背景および社会行動学的要因と各種腸管病原体の感染との関連を調査し、HIV 感染小児における腸管病原体の感染リスク要因を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 研究対象：ケニア・ナイロビのダンドラ地区の HIV 感染小児 76 名「HIV(+), 中央年齢 11.1 歳、男性 38 名 (50.0%)」と非感染小児 77 名「HIV( ), 年齢中央値 11.7 歳、男児 37 名 (48.1%)」、キベラ地区の HIV(+)<sup>1</sup>87 名「年齢中央値 11.4 歳、男児 42 名 48.3%」と HIV( )<sup>2</sup>85 名「年齢中央値 10.7 歳、男児 40 (47.1%)」。<sup>1</sup>HIV 非感染小児は感染小児の兄弟姉妹や親せきおよび近所の小児の中からリクルートした。(2) 対象者の糞便検体から腸管寄生原虫(アメーバ、ジアルジア)を検出(PCR法); (3) キベラ地区の小児の腸内細菌の検出(定量 PCR 法); (4) 末梢血での免疫学評価(CD4 陽性細胞数、CD4 細胞サブセット数、CD8 細胞活性化状態); (5) 質問票による衛生状態および社会行動学(水供給状況、トイレ状況、家庭内で役割・仕事の分担内容など)の調査を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 腸管寄生原虫感染

ダンドラ地区では、HIV(+)<sup>1</sup>と HIV( )<sup>2</sup>小児の間で、アメーバ感染率(63.2% vs. 75.3%,  $P=0.10$ )、ジアルジア B 感染率(31.6% vs. 44.2%,  $P=0.11$ )ともに有意差は認められなかった。なお、ヒトに病原性のある *E. histolytica* は検出されなかった。

キベラ地区では、HIV(+)<sup>1</sup>のアメーバ感染率は HIV( )<sup>2</sup>より低かった(63.2% vs. 78.8%,  $P=0.02$ )、特に女兒の間(57.8% vs. 77.8%,  $P=0.04$ )で低かった。また、*E. hartmanni* の感染

率も有意に低かった (35.6% vs. 52.9%,  $P=0.02$ )。ヒトに病原性のある *E.histolytica* は HIV(+)と HIV( )小児で 1例ずつのみ検出された。ジアルジア B 感染率は HIV(+)と HIV( )小児間で有意差は認められなかったが (24.1% vs. 28.2%,  $P=0.54$ )。HIV(+)女児の感染率は HIV(+)男児と HIV( )女子より低かった (15.6% vs. 40.5% と 37.8%,  $P<0.01$  と  $0.02$ ) (図 1)。

感染危険因子の回帰解析では、飲用水を煮沸しないこと (OR 3.8,  $P=0.04$ ) および兄弟などの世話をすること (OR 2.8,  $P=0.01$ ) はジアルジア B 感染の危険因子であった。また、HIV 感染は女児においてジアルジア B の感染と負に相関し、男児においては正に相関していた (図 2)。高い CD4/CD8 比はアメーバ感染と正に相関していた (1 vs.  $<1$ , OR 3.3,  $P<0.01$ )。同様の傾向が HIV 非感染児とすべての男児でも見られた (図 2)。

## (2) 腸内細菌

本研究では、ダンドラ地区の小児 162 名 (HIV 感染と非感染 81 名ずつ) の腸内細菌を解析し、HIV(+)と HIV( )小児のペア間で比較した。HIV( )小児に比べ、HIV(+)小児では、*Clostridium perfringens* は有意に低かった (中央値、4.4 vs. 5.6  $\log_{10}$  cells/g,  $P<0.01$ )。乳酸菌は有意に高かった (7.4 vs. 6.6,  $P=0.03$ )。特に、*Lactobacillus gasseri* subgroup (4.4 vs. 3.6,  $P<0.01$ ) および *L. ruminis* subgroup (7.4 vs. 6.4,  $P=0.04$ ) は高かった (Table 1)。

本研究の結果により、ケニアの小児において、アメーバとジアルジア B の感染経路は共通しているが、HIV 感染の影響はことなっていることが示唆された。HIV 感染はアメーバ感染の危険因子ではなく、逆に小児のよりよい免疫状態の指針である可能性がある。これは我々の先行研究と一致した。HIV 感染は男児でジアルジア B の感染因子であるが、女児ではなかった。また、飲用水を煮沸しないことおよび兄弟の世話をすることがジアルジア B 感染の危険因子であった。よって、ジアルジア B の感染は衛生状態と関係し、HIV 感染の影響は男女で違う傾向があることが示唆された。更に、HIV 感染は腸内細菌にも影響している可能性がある。ケニアの小児において、飲用水の品質改善はジアルジア B の感染予防に重要である。また、小児の腸内寄生原虫のほかの感染危険因子を解明する必要がある。

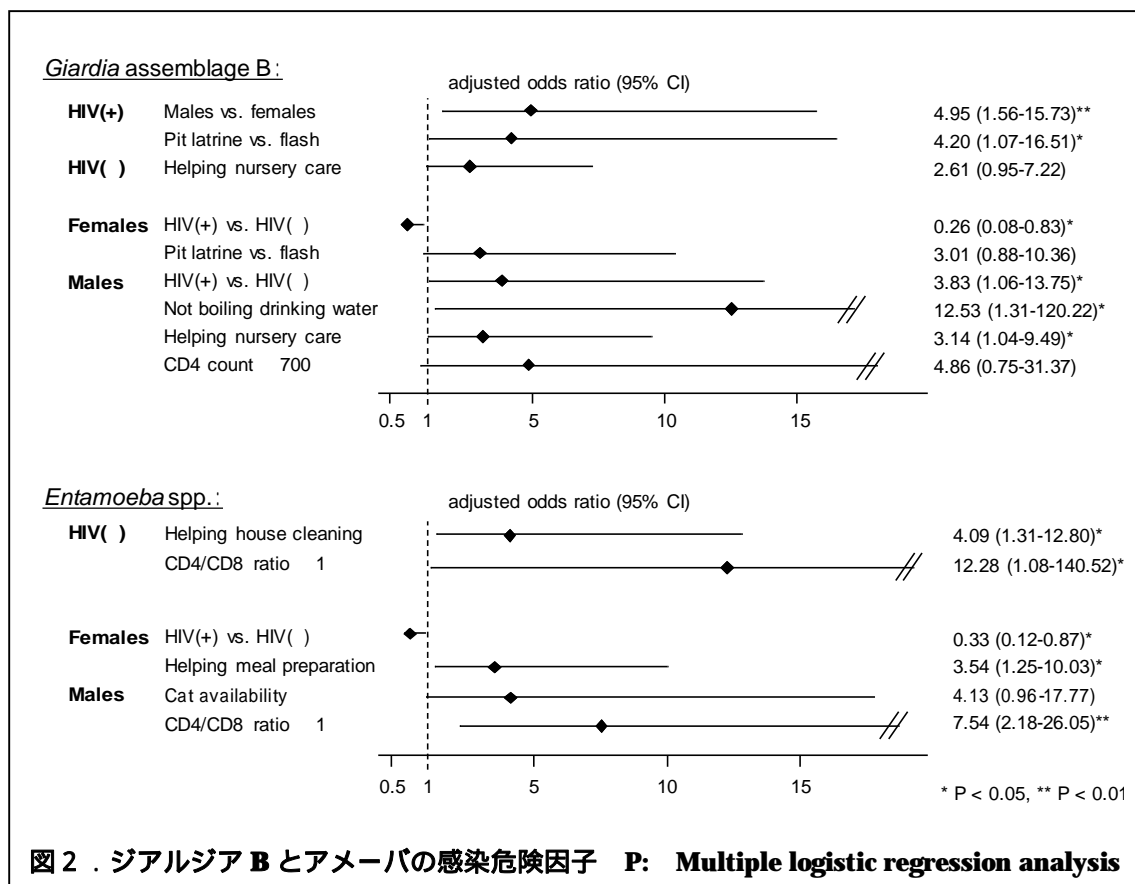
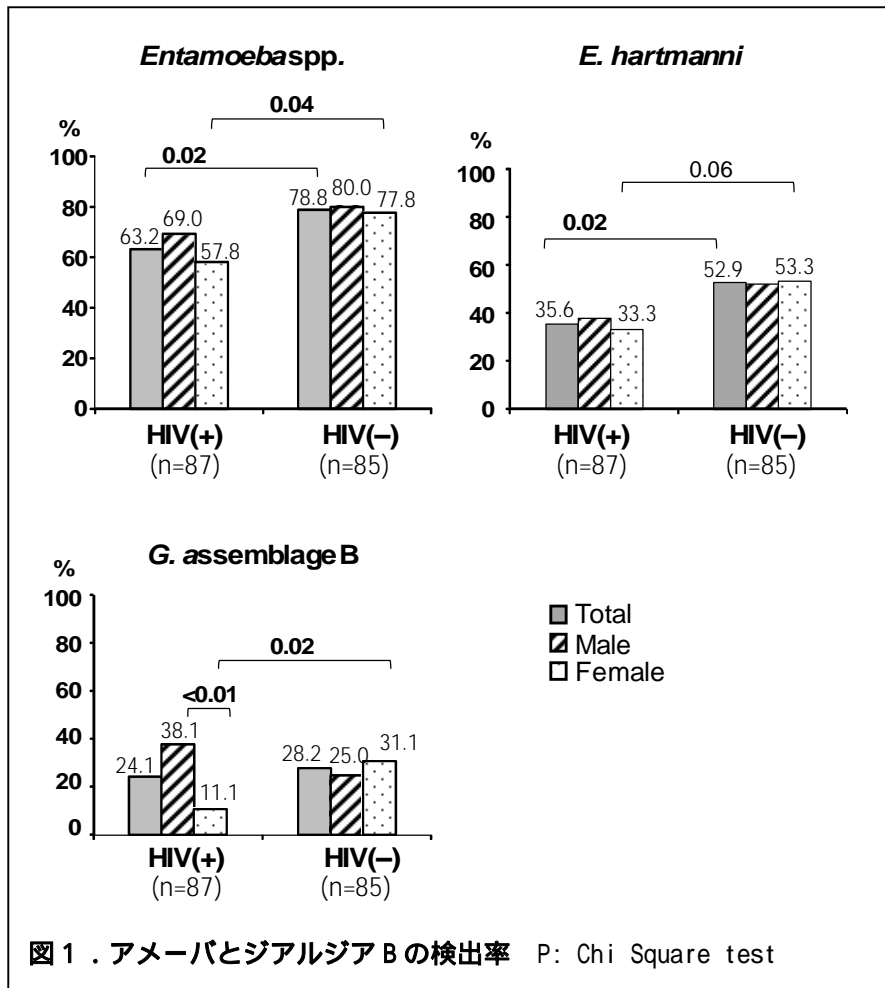


Table 1 HIV 感染と非感染小児の腸内細菌の比較

Phylum	HIV(-) (n=81)	HIV(+) (n=81)	Wilcoxon
Bacteria (genus/species)	Median (range)	Median (range)	P value
Total bacteria	10.8 (8.7-11.6)	10.9 (7.3-11.4)	0.12
<b>Firmicutes</b>			
<i>Clostridium coccooides</i> group	10.2 (7.3-11.0)	10.2 (5.0-11.0)	0.29
<i>Clostridium leptum</i> subgroup	10.1 (7.7-11.1)	10.3 (5.0-11.1)	0.18
<i>Clostridium perfringens</i>	5.6 (2.3-8.4)	4.4 (2.3-7.6)	<b>&lt;0.01</b>
<u>Total <i>Lactobacillus</i></u>	6.6 (4.1-9.2)	7.4 (3.3-9.4)	<b>0.03</b>
<i>Lactobacillus gasseri</i> subgroup	3.6 (2.3-7.7)	4.4 (2.3-6.9)	<b>&lt;0.01</b>
<i>Lactobacillus brevis</i>	2.3 (2.3-4.7)	2.3 (2.3-6.2)	1.00
<i>Lactobacillus casei</i> subgroup	3.0 (3.0-5.7)	3.0 (3.0-5.2)	0.81
<i>Lactobacillus fermentum</i>	4.0 (4.0-6.7)	4.0 (4.0-7.2)	0.06
<i>Lactobacillus fructivorans</i>	2.3 (2.3-2.3)	2.3 (2.3-4.3)	0.18
<i>Lactobacillus plantarum</i> subgroup	4.1 (2.3-6.2)	4.0 (2.3-7.6)	0.34
<i>Lactobacillus reuteri</i> subgroup	3.1 (2.3-7.3)	3.3 (2.3-8.8)	0.31
<i>Lactobacillus ruminis</i> subgroup	6.4 (2.3-9.2)	7.4 (2.3-9.4)	<b>0.04</b>
<i>Lactobacillus sakei</i> subgroup	2.3 (2.3-4.4)	2.3 (2.3-4.6)	0.46
<i>Streptococcus</i>	8.2 (3.2-9.8)	8.4 (3.2-10.0)	0.31
<i>Enterococcus</i>	6.1 (2.9-9.9)	6.2 (2.9-9.6)	0.42
<i>Staphylococcus</i>	4.9 (3.0-6.8)	5.0 (3.1-7.2)	0.62
<b>Actinobacteria</b>			
<i>Bifidobacterium</i>	9.4 (5.0-10.7)	9.3 (5.0-11.1)	0.83
<i>Atopobium</i> cluster	9.2 (6.6-10.5)	9.3 (7.3-10.1)	0.29
<b>Bacteroidetes</b>			
<u><i>Bacteroides fragilis</i> group</u>	8.1 (5.5-10.3)	8.3 (5.0-10.5)	0.06
<i>Prevotella</i>	10.2 (5.7-11.0)	10.0 (5.0-11.0)	0.89
<b>Proteobacteria</b>			
<i>Enterobacteriaceae</i>	7.9 (6.1-9.4)	8.0 (3.9-9.5)	0.81
<i>Pseudomonas</i>	3.1 (2.9-4.3)	3.0 (2.9-4.7)	0.99
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	3.0 (3.0-8.2)	3.0 (3.0-9.5)	0.93

細菌値 : log<sub>10</sub> cells/g feces

< 引用文献 >

Matey E, Tokoro M, Nagamoto T, Mizuno T, Saina MC, Bi X, Oyombra J, Okumu P, Lagat B, Sang W, Songok EM, Ichimura H. Lower prevalence of Entamoeba species in children with vertically transmitted HIV infection in western Kenya. *AIDS* 2016, 30 (5):803-805.

Matey E, Tokoro M, Mizuno T, Matsumura T, Nagamoto T, Bi X, Songok EM, Ichimura H. Positive correlation of HIV infection with *Giardia intestinalis* assemblage B but not with assemblage A in asymptomatic Kenyan children. *AIDS* 2016, 30 (15):2385-2387.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 7件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Son T. Chu, Kyouzuke Kobayashi, Xiuqiong Bi, Azumi Ishizaki, Tu T. Tran, Thuy T.B. Phung, Chung T.T. Pham, Lam V. Nguyen, Tuan A. Ta, Dung T.K. Khu, Masanobu Agoh, An N. Pham, Satoshi Koike, Hiroshi Ichimura.	4. 巻 10
2. 論文標題 Newly emerged enterovirus-A71 C4 sublineage may be more virulent than B5 in the 2015-2016 hand-foot-and-mouth disease outbreak in northern Vietnam.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 SCIENTIFIC REPORTS	6. 最初と最後の頁 159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-019-56703-5">https://doi.org/10.1038/s41598-019-56703-5</a>	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 Tetsushi Mizuno, Elizabeth J. Matey, Xiuqiong Bi, Hiroshi Ichimura, Masaharu Tokoro.	4. 巻 75
2. 論文標題 Extremely diversified haplotypes observed among assemblage B population of <i>Giardia intestinalis</i> in Kenya.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.102038">https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.102038</a>	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 Le HHL, Bi X, Ishizaki A, Le HV, Nguyen TV, Ichimura H.	4. 巻 19
2. 論文標題 Low concordance of oral and genital HPV infection among male patients with sexually transmitted infections in Vietnam.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC. Infect. Dis.	6. 最初と最後の頁 578
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1186/s12879-019-4175-0">https://doi.org/10.1186/s12879-019-4175-0</a>	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 Trang Thi Thu Pham, Xiuqiong Bi, Huyen Thi Thanh Hoang, Azumi Ishizaki, Mai Thi Phuong Nguyen, Cuong Hung Nguyen, Nguyen Phi Hung, Thuc Van Pham, Hiroshi Ichimura.	4. 巻 71
2. 論文標題 Human papillomavirus genotypes and HPV16 E6/E7 variants among patients with genital cancers in Vietnam.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn J Infect Dis.	6. 最初と最後の頁 419-426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.7883/yoken.jjid.2018.206">https://doi.org/10.7883/yoken.jjid.2018.206</a>	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 Ishizaki A, Bi X, Nguyen LV, Matsuda K, Pham HV, Phan CTT, Khu DTK, Ichimura H.	4. 巻 18
2. 論文標題 Effects of short-term probiotic ingestion on immune profiles and microbial translocation among HIV-1-infected Vietnamese children.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 2185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.3390/ijms18102185">https://doi.org/10.3390/ijms18102185</a>	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 Azumi Ishizaki, Vuong Thi Tran, Cuong Hung Nguyen, Tomoaki Tanimoto, Huyen Thi Thanh Hoang, Hung Viet Pham, Chung Thi Thu Phan, Thuc Van Pham, Xiuqiong Bi, Hiroshi Ichimura.	4. 巻 12
2. 論文標題 Discrepancies in prevalence trends for HIV, hepatitis B virus, and hepatitis C virus in Haiphong, Vietnam from 2007 to 2012.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PloS One.	6. 最初と最後の頁 e0179616
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179616">https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179616</a>	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 Xiuqiong Bi, Azumi Ishizaki, Lam Van Nguyen, Kazunori Matsuda, Hung Viet Pham, Chung Thi Thu Phan, Kiyohito Ogata, Thuy Thi Thanh Giang, Thuy Thi Bich Phung, Tuyen Thi Nguyen, Masaharu Tokoro, An Nhat Pham, Dung Thi Khanh Khu and Hiroshi Ichimura.	4. 巻 17
2. 論文標題 Impact of HIV infection and anti-retroviral therapy on the immune profile of and microbial translocation in HIV-infected children in Vietnam.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 1245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.3390/ijms17081245">https://doi.org/10.3390/ijms17081245</a>	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3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 BI X
2. 発表標題 Impact of antiretroviral therapy on the immune status of HIV-infected children.
3. 学会等名 22nd International AIDS Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 畢袖晴
2. 発表標題 抗HIV療法が小児免疫状態に及ぼす影響
3. 学会等名 日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 畢袖晴
2. 発表標題 抗HIV療法が小児免疫状態に及ぼす影響
3. 学会等名 日本エイズ学会学術集会・総会
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	市村 宏  (ICHIMURA Hiroshi)  (10264756)	金沢大学・医学系・教授   (13301)	
研究 分担者	所 正治  (TOKORO Masaharu)  (30338024)	金沢大学・先進予防医学研究センター・准教授   (13301)	