

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：迅速診断法の開発とリスク分析に基づいた顧みられない熱帯病対策モデルの創成
2. 研究開発代表者：鈴木 定彦（北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 教授）
3. 相手国研究代表者：Boniface Namangala（ザンビア大学獣医学部（ザンビア））

## 4. 研究開発の成果

平成 27 年 11 月に開始した当該研究開発課題の成果は、以下に集約される。

- 1) 平成 27 年 12 月に北海道大学において運営委員会を兼ねた研究会「第 1 回 顧みられない熱帯病対策研究会」を開催すると共に、平成 28 年 3 月にザンビア大学において第 1 回目-ザ合同運営委員会を兼ねた国際会議「The 1<sup>st</sup> International Conference on the Control Measure of Neglected Tropical Diseases」を開催して我が国、ザンビアのほか、ジンバブエ、ならびにマラウイのハンセン病およびヒトアフリカトリパノソーマ症（HAT）研究者間で情報を共有し、各分担研究の進捗状況を確認するとともに平成 28 年度の方針を決定した。
- 2) ハンセン病、並びに HAT の疫学調査を平成 28 年度に円滑にスタートさせるために、ハンセン病担当者延べ 8 名、トリパノソーマ症担当者延べ 3 名が現地ザンビアに赴き、現地の共同研究者（国家結核・ハンセン病対策プロジェクト長、Zambia Tuberculosis Leprosy Trust 所長、ザンビア大学教授、同講師）との打合せにより、現地の状況に関する情報を収集した。また、当該打合せにおいて、疫学調査の実施に必要な物資を特定した。さらに、現地の共同研究者との打合せにより得られた情報を、患者、並びに家族内接触者を対象としたアンケートの準備材料とした。また、ハンセン病、並びに HAT の分子疫学解析技術として、ザンビア人スタッフ 1 名へ目的遺伝子の塩基配列を決定するための技術の移転を完了した。
- 3) 国立感染症研究所ハンセン病研究センターと連携して、ヌードマウスの足跡で増殖させた *Mycobacterium leprae* 菌体を対象として、検体よりの核酸単離法の検討・改変を試みた。その結果、特殊ビーズを用いることにより、手動による振盪のみで DNA、ならびに RNA を安定的に単離する手法を開発した。さらに、血清診断法開発では、検出感度をさらに上げる必要があることから、対象となる抗原の生産法を吟味し、*M. leprae* と同属の *M. smegmatis* を用いて発現した組換え Major Membrane Protein-II（MMP-II）を抗原として用いる事により感度が確保できる事を見いだした。また、新たな免疫学的診断抗原とするらい菌抗原探索として、他の抗酸菌と相同性の低い蛋白抗原をコードする *M. leprae* 遺伝子約 100 種を選択した。帯広畜産大学、ならびに大分大学と連携して HAT 遺伝子診断法の改良を開始した。HAT 診断乾燥 LAMP キット作製の自動化に向けて、インクジェットプリンターを導入して、HAT 遺伝子診断用 LAMP キットを試製した。試製キットを用いた反応試験において良好な感度が得られた事から、乾燥 LAMP キット作製の自動化が可能である事を確認した。また、HAT のステージ鑑別のため、ステージ 1 を早期に検出可能なマーカー因子を探索したところ、抗 GM6 抗原抗体がマーカーとして利用出来る可能性を見いだした。
- 4) 12 月に現地に赴いたハンセン病研究担当者の鈴木および東が、ザンビア保健省国家結核・ハンセン病対策プロジェクト長の Nathan Kapata 博士、並びに疫学研究部門 Paskalina Chanda と打合せをして、感染リスクを解析するための方法について詳細な打合せを実施し、疫学調査法を策定した。また、3 月に現地に赴いたハンセン病研究担当者の中島、向井、前田（研究協力者）および宮本（研究協力者）が、Zambia Tuberculosis Leprosy Trust 所長 Charity Habeenzu 氏と面談して、ザンビアにおけるハンセン病の状況を聞き取り調査した。さらに、3 月に現地に赴いた HAT 研究担当者の山岸および林田がザンビア大学教授 Boniface Namangala 博士、並びに同講師 Martin Simuunza 博士との打合せにより、疫学調査の対象となる地域に関する情報を収集し、疫学調査法を策定した。さらに、現地の共同研究者との打合せにより得られた情報を、患者、並びに家族内接触者を対象としたアンケートの準備材料とした。