

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業
地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)
(英語) International Collaborative Research Program
Science and Technology Research Partnership for Sustainable
Development (SATREPS)

研究開発課題名：(日本語) ケニアにおける黄熱病およびリフトバレー熱に対する迅速診断法の開発と
そのアウトブレイク警戒システムの構築
(英語) Development of Rapid Diagnostics and the Establishment of an Alert
System for Outbreaks of Yellow Fever and Rift Valley Fever in Kenya

研究開発担当者 (日本語) 長崎大学 熱帯医学研究所 教授 森田公一
所属 役職 氏名：(英語) Nagasaki University, Institute of Tropical Medicine
Prof. Kouichi Morita

実施期間：平成 23年 6月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) なし
開発課題名：(英語)

研究開発分担者 (日本語) なし
所属 役職 氏名：(英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文)

診断薬開発やアウトブレイク対応システムの構築に関する類似研究はそのほとんどが先進国モデルであり、発展途上国が自主/継続的に運営可能な経済性と利用可能なインフラの現状を考慮にいれた開発研究であることが本プロジェクトの立ち位置であると考えます。今年度は5年間のプロジェクトの最終年度であるため、それぞれの研究項目の総括をする。

抗体検出用診断手法の開発：(研究項目 1) においては、大腸菌発現系でリフトバレー熱ウイルス (RVFV) の核 (N) タンパクの大量調製及びその精製法が長崎にて確立され、今年度は、これらの

技術がケニア中央医学研究所（KEMRI）製造部門に技術移転され、RVF の IgM 検出用イムクロマト(POC)テストの現地生産が名実ともに可能となった。評価試験（感度、特異性、有効使用期間、至適保存温度、検体の状態による影響など）についても今年度一年間をかけて実施した。このようなラボでの活動と並行して同製品の商標「ImmunoLine™」について同部門のマーケティング部局と協力してケニア産業特許機構（KIPI）にて登録手続きを行った。黄熱ウイルス（YFV）については、IgM 捕捉 ELISA の製品化を進めており、同製品の商標「KemLisa™」についても同様な手続きを進めるべく準備をしている。

ウイルス検出用診断手法の開発：（研究項目 2）においては YFV と RVFV に対するモノクローナル抗体が数クローンが樹立され、それを用いたイムクロマト法による抗原検出キットが RVFV について試作され、蚊の乳剤からの RVFV 検出が可能なキットが開発された。アウトブレイク時に患者の診断だけでなく、媒介蚊の調査にも応用できるようになったため、そのインパクトは高い。KEMRI のレファレンス機能の拡充については、KEMRI-ウイルス学研究センターのスタッフによりケニアの蚊から 5 株の RVFV および 27 株の不明ウイルスを分離し、不明ウイルスの同定作業を長崎とケニアで共同して実施し、不明ウイルス 7 株についてウイルス種を明らかにした。ウイルスの同定法については、一部の検査法はケニアへの技術移転がなされているところである。加えて、KEMRI-CIPDCR(アルペ支所内)のアルボウイルスラボ（BSL-2 実験室）においては、西部地域およびコースト地域から採取した有熱患者の血清学的調査およびウイルス分離作業が常時可能となり、西部地域ではリフトバレー熱、チクングニア熱およびオニョンニョン熱の非流行期での小規模発生を、コースト地域ではデング熱およびチクングニア熱の同時発生を血清学的に確認できた。これらの活動結果は保健省への報告、ケニア国内での学会での報告、論文での発表を通じてアルボウイルスの発生状況、地域によって異なるウイルスの浸潤状況などを明らかにした。今年度、YFV に対するモノクローナル抗体の作出とその ELISA への応用結果の論文を発表して、ケニア人留学生は博士号を取得し KEMRI へ復職した。

感染症早期警戒システムの開発：（研究項目 3）においては携帯電話の SMS（ショート・メッセージ・サービス）機能を用いたアウトブレイク情報の通信プログラム(mSOS)を開発し、パイロット地区での試験運用及びランダム化比較試験を実施してベースライン調査を平成 25 年度第 1-2 四半期で行い、平成 26 年度第 1 四半期にエンドライン調査を実施した。本システム導入の有効性を実証するためインパクト評価の手法（ランダム化比較試験）を用いて解析した結果を論文として国際的なピアレビュー雑誌にて平成 28 年度 4 月に発表した。本研究項目は、平成 27 年度前半までで PDM の全項目をすべて終了したので、パイロット地区での試験運用からさらに全国的な本システムの導入に向けて全国での講師研修を保健省および国際パートナーとの協調のもと実施した。mSOS は保健省から高い評価を受け、IDSR(疾病サーベイランス対策システム)と統合され、全国展開が進められている。新しいシステムは mSOS/IDSR と呼ばれ、瞬時の疾病通知、災害の通知、週ごとの疾病の通知が含まれる。本プロジェクト終了後も国の感染症情報システムとして持続的に使用し続けられる見通しがたち、持続性のある成果となった。

英文)

Development of new diagnostics and outbreak alert system is usually designed in the developed countries. This SATREPS project aims to develop them in the developing country and sustainable manner on technically and economically using the available infrastructure in the local settings. Here, we report the progress of each research activity.

Development of rapid diagnostics antibody detection: Regarding Output-1, RVFV human IgM-capture Immunochromatographic test (ICT) kit was successfully developed using recombinant RVFV Nucleocapsid protein and monoclonal antibody prepared in this project. Recombinant viral protein expression and its purification techniques were transferred to KEMRI Production Department in this academic year (JFY 2016).

The evaluation of this kit such as sensitivity, specificity, storage period (shelf life), optimal storage conditions (temperature and humidity), the condition of sample serum were performed this year. Simultaneously, the marketing team of KEMRI has been conducting its commercialization and the registration of its trade mark “ImmunoLine™” to KIPI (Kenya Industrial Property Institute). Regarding Yellow fever (YF) human IgM-capture ELISA kit, it was also successfully developed. A new brand name for this kit, “KemLisa™”, for commercialization is also on-going.

Development of rapid diagnostics for virus detection: Regarding Output-2, RVFV detection ICT kit was successfully accomplished in JFY2015. This newly developed kit can detect RVFV not only from the infected culture fluid but also from the mosquito homogenate.

Regarding the strengthening of the Central Reference Laboratory at KEMRI-Centre for Virus Research (CVR) in Nairobi, 5 strains of RVFV were isolated and 7 stains of 27 unidentified isolates were identified from mosquito pool samples. Then, further identification works are under way at KEMRI-CVR in Nairobi and Nagasaki University in Nagasaki, Japan. Some laboratory techniques for identification of viruses were introduced to Kenya.

In another Reference Laboratory at KEMRI-CIPDCR, Alupe in Busia County, virus isolation works and serological works were routinely conducted and the small number of RVF, chikungunya fever and o'nyong-nyong fever cases were detected from western Kenya as inter-epidemic events. In the Coast regions of Kenya, dengue fever and chikungunya fever cases were detected. These findings were reported to the Ministry of Health and also to the public through the presentations at the domestic scientific conferences and publishing in the international peer reviewed scientific journals. Monoclonal antibody against YFV was successfully developed by a Kenyan student in Nagasaki and it was applied for ELISA for diagnosis. This result was published in a peer-reviewed journal in August, this year. He came back to KEMRI with his Ph.D. degree, this year.

Development of early vigilant diseases outbreak alert system: Regarding Output-3, our project has successfully developed a new alert system (mSOS: mobile short message service based disease outbreak alert system) in Kenya. To evaluate the effectiveness of this new system, a baseline survey was conducted in 2013 Quarter 1 and 2 and an endline survey was conducted in 2014 Quarter 1. The effectiveness of mSOS was analyzed through a randomized controlled trial, and the results were published in an international peer-reviewed scientific journal in April 2016. All the activities of Output-3 described in the Project Designed Matrix (PDM) of this

project has been successfully completed by the end of Quarter 2 in 2015. Our mSOS system was highly recognized as a useful system. Thus, as an extension of mSOS in two focal counties, the system was integrated with the national IDSR (Integrated Disease Surveillance and Response) strategy. The training of trainers (TOT) of mSOS workshops were conducted to cover whole area of Kenya. We are hopeful this system will be maintained and used as a disease outbreak alert system even after this project.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合
なし

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0件、国際誌 5件)

1. Toda M, Njeru I, Zurovac D, O Tipo S, Kareko D, Mwau M, Morita K. "Effectiveness of a mobile short-message-service-based disease outbreak alert system in Kenya." *Emerging Infectious Diseases*, 2016, 22(4), 711-5
2. Adungo F, Fuxun Yu, Kamau D, Inoue S, Hayasaka D, Guillermo P-H, Sang R, Mwau M, Morita K. "Development and Characterisation of Monoclonal Antibodies to Yellow Fever Virus and Their Application in Antigen Detection and IgM Capture ELISA.", *Clinical and Vaccine Immunology*, 2016, 23(8), 689-97.
3. Anjichi VK, Mogoma G, Inoue S, Kwallah AO, Syengo CK, ndege C, Morita K, Munyuga K, Mwau M. "Sero-activity of Chikungunya virus at the Kenyan coast after the 2004 epidemic." *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2016, 11(6), 23-31.
4. Munyuga K, Ng'ang'a J, Inoue S, Syengo CK, Ndege C, Kwallah AO, Morita K, Anjichi VK, Mwau M. "Co-circulation evidence of dengue virus serotypes at the Kenyan coast in 2014, *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2016, 11(6), 83-7.
5. Miring'u G, Bundi M, Muriithi BK, Apondi EW, Galata AA, Kathiiko CN, Odoyo EO, Guyo SH, Ongubo ON, Ouko JO, Karama M, Shah M, Inoue S, Ichinose Y. "Knowledge and Practices Regarding Usage of Biological Safety Cabinets." *Journal of ABSA International*, 2017, On line publication, 1-6.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ケニアにおけるリフトバレー熱診断用イムノクロマト法キットの開発と評価, 口頭, 井上真吾, 余福勲, Ragot N, Kwallah Ao, 織田哲弥, Adungo F, Kimotho J, Sang R, Mwau M, 森田公一. 第51回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 福島県耶麻郡猪苗代町, 2016/5/13~14, 国内.
2. 抗リフトバレー熱ヒト IgM 検出イムノクロマト法テストキットの開発, ポスター, 井上真吾, Ragot N, 余福勲, Kwallah Ao, Adungo F, 織田哲弥, Sang R, Mwau M, Kimotho, J, 森田公一, 第64回日本ウイルス学会年次総会, 札幌, 2016/10/23-25, 国内.
3. "Isolation and identification of mosquito-borne viruses in Kenya.", ポスター, Eyase F, Inoue S, Nabeshima T, Ngwe Tun MM, Nyunja A, Lutomiah J, Kwallah Ao, Uchida L, Mwau M, Ichinose Y, Morita K, Sang R, 65th ASTMH annual meeting, Atlanta, Georgia, USA, 2016/11/13-17. 国外.

4. "Understanding mSOS: A qualitative study following cluster randomized controlled trial testing effectiveness of mobile short message service-based disease outbreak alert system in rural Kenya", ポスター, Toda M, Njeru I, Zurovac D, Kareko D, O-Tipo S, Mwau M, Morita K. 4th Global Symposium on Health Systems Research, Vancouver, Canada. 2016/11/14-18. 国外.
5. "Inter-epidemic surveillance of Rift Valley fever in Trans Nzoia County, Western Kenya." ポスター, Ndichu C, Inoue S, Kwallah Ao, Rogot N, Sang R, Waihenya R, Morita, K, Mwau M, UNESCO Merck Africa Research Summit, Addis Ababa, Ethiopia, 2016/11/28-29. 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 「蚊が媒介するウイルス感染症:ジカ熱・デング熱など」 森田公一, 長崎大学市民公開講座, 2016/4/23, 国内.
2. “High-level Stakeholders Meeting on Advancing Global Health Security”, Joel Lutomiah, WHO 会合, インドネシア, 2016/6/12-14, 国外.
3. “Nairobi Meeting on Japanese doctors/researchers 2016.”JICA-AMED SATREPS Project”, 井上真吾, 戸田みつる, アフリカ開発協(AFRECO)主催 TICAD VI サイドイベント, ナイロビ, ケニア, 2016/8/25, 国外.
4. “Development of rapid diagnostics and the establishment of an alert system for outbreaks of Yellow fever and Rift Valley fever in Kenya.”Matilu Mwau, TICAD VI side event 「アフリカにおける科学技術の意義と課題：研究から開発へ」 JICA 本部主催, ナイロビ, ケニア, 2016/8/26, 国外.
5. 「mSOS の成果について」戸田みつる, “Yellow fever partners meeting for the development of the updated strategy for the elimination of yellow fever epidemics (黄熱病対策会議)”, WHO 本部, ジュネーブ, スイス, 2016/9/13, 国外.
6. 「アウトプット 3 (mSOS)成果発表, 今後の展開について」戸田みつる, グローバルファンド会合, Global Fund 本部主催, ジュネーブ, スイス, 2016/9/13, 国外.
7. 「アウトプット 3 成果発表, 今後の展開について」戸田みつる, WHO 会合, WHO 本部主催, ジュネーブ, スイス, 2016/9/13, 国外.
8. 「ICREP-NTDs 国際シンポジウム：感染症研究に根ざす日アフリカ科学技術イノベーション (STI) 協力推進に向けて」, Matilu Mwau, 井上真吾, Post TICAD VI Symposium, AMED 主催, ナイロビ, ケニア, 2016/9/15-16, 国外
9. “Development of Rapid Diagnostics and the Establishment of an Alert System for Outbreaks of Yellow Fever and Rift Valley Fever in Kenya”, Matilu Mwau, 2nd WVA-WMA Global Conference on One-Health, 世界獣医師会, 世界医師会共催, 北九州市, 日本, 2016/11/10-11, 国内.
10. 「ケニアで感染症封じ込めシステム開発 女性研究者の挑戦」 戸田みつる, 読売新聞社主催, 富士見ヶ丘学園 (中学校, 高等学校), 渋谷区, 東京, 2017/1/23, 国内.

(4) 特許出願

1. ケニア : PA No.21235 (Kenya Industrial Property Institute : KIPI)における商標 “ImmunoLine™”の商標登録番号 (2016/06/10 時点)