

案件名	アルボ(蚊媒介性)ウイルス感染症の新しい診断法の開発
派遣専門家	井上真吾
所属機関	長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野・助教
相手国研究機関	公衆衛生省 ケニア中央医学研究所(Kenya Medical Research Institute(KEMRI), Ministry of Public Health and Sanitation)

アルボウイルス、特に黄熱病およびリフトバレー熱の迅速診断キットの開発

(平成 21 年 10 月 ～ 22 年 4 月)

私は 2009 年 10 月からケニア中央医学研究所(KEMRI)に JICA 個別派遣長期専門家として活動しています。黄熱病は、野口英世博士がガーナにて一身を捧げて研究調査された蚊が媒介する疾病で、よく効く弱毒生ワクチンもありますが、1992 年にケニア西部、2003 年、2005 年に隣国スーダン南部で流行しました。その可能性としては、以下の 3 点が考えられます。

- (1) ワクチンの効かない強毒株の出現
- (2) 様々な蚊による媒介の可能性
- (3) 新規発生地域の拡大

幸い、黄熱病に関するこれら 3 つの現象の報告はされていませんが、流行が散発的に発生するのはワクチンを十分に接種していないと考えられます。有効なワクチンがあるにも関わらず、接種できない原因としては「高価なワクチン」、「コールドチェーンがうまく保たれていない」、「交通の不便な僻地への不十分なワクチン供給」、「内戦、異常気象などによる不十分なワクチン供給」、「黄熱病に対する政府の理解が低いことや、他の疾病に比べて優先順位が低い」等の様々な要因が黄熱病を始めとする熱帯ウイルス病には関係しています。

ワクチンを接種する以外に黄熱病に対する方策を確立することが私の目指す活動であり、これは(1)簡単に診断できるキットの開発、(2)感染症流行ネットワークの構築になります。ケニア各地に展開している KEMRI や医療機関に簡単に診断の出来るキットを配布することにより、疑わしい患者が発生した際に素早く診断し、医療機関のネットワークによってどこまで流行が拡大しているのかを把握し、その周辺地域にアナウンスすることで被害を最小限に抑えることが可能となります。

この試みには、私だけでなく、KEMRI のローズマリー先生、ウガンダ国境沿いの KEMRI 支所長のムアウ先生(私のカウンターパート)、長崎大学熱研、そしてケニア人大学院生たちが協力して取り組みを始めています。「自分たちの病気は自分たちで診断する。」これが私たち研究グループのテーマです。当たり前のことのようになかなか発展途上国ではできないことで、他国のラボに頼らない診断体制や診断薬の供給を目指しています。



ケニア人大学院生に細胞培養の指導

案件名	アルボ(蚊媒介性)ウイルス感染症の新しい診断法の開発
派遣専門家	井上真吾
所属機関	長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野・助教
相手国研究機関	公衆衛生省 ケニア中央医学研究所(Kenya Medical Research Institute(KEMRI), Ministry of Public Health and Sanitation)

アルボウイルス、特に黄熱病およびリフトバレー熱の迅速診断キットの開発

(平成 22 年 6 月 ~ 12 月)

昨年、10 月にケニアに赴任して 1 年と 2 ヶ月経ちました。これまでの主な活動成果は下記の通りです。

- (1) KEMRI 製造部門での細胞培養室、P2 実験室の整備の完了
- (2) 長崎大学熱帯医学研究所ケニア拠点の P3 実験室でのウイルス学実験の開始(特にウイルス分離)
- (3) 博士課程大学院生の研究指導
- (4) KEMRI 製造部門のスタッフおよび NUITM-KEMRI P3 実験室スタッフのトレーニング開始
- (5) 黄熱ウイルスのウイルス大量培養およびその精製、モノクローナル抗体の精製、抗体へのペルオキシダーゼ酵素標識など迅速診断キットおよび関連試験用の原材料の製造を開始
- (6) JICA-JST「地球規模課題対応国際科学技術協力事業」に対する申請としてケニア政府(KEMRI)側からの案件形成に協力し、日本(長崎大学)側からの申請書原案を作成
- (7) 感染症アウトブレイク即時対応ネットワーク形成の一環でナイロビ(首都)、ブシア(ケニア西部)に続いてモンバサ(インド洋沿岸)の調査準備を開始

(1)の実験室の整備は、JICA、JICS、JSPS 並びに長崎大学の多大なるご支援によりわずか 1 年間でほぼ完了することが出来ました。機器類の購入もさることながら、KEMRI 本部のワークショップ(施設課)のスタッフの尽力には特筆すべき物があります。実験用ベンチ製造、炭酸ガスボンベ固定台製造、流し台用の水道工事、排水管工事、LPG 配管工事、炭酸ガス配管工事、機器類の移動設置など終わってしまえば誰にも顧みられないところばかりですが、とてもいい仕事をしてくれました。外部の業者に依頼する方法もありますが、KEMRI の人材を活用するという観点から彼らに依頼してお互いに実績として残る良いものが出来上がったと思います。

(2)、(3)、(4)、(5)の学生 1 名の指導およびスタッフ 5 名のトレーニングが 12 月現在で最も力を注いでいるところです。今年度中に試薬調製、細胞培養、3 つのウイルス力価測定試験、4 つの抗体価測定試験、ウイルス大量培養・精製、抗体の大量培養・精製、抗体のペルオキシダーゼ酵素標識を基本実験手技としてみんなにマスターしてもらおうと計画しております。12 月までで細胞培養、ウイルスのブラックアッセイ、抗原検出 ELISA(酵素免疫測定法)、抗体の精製、ペルオキシダーゼ酵素標識は既に実施しました。これら精製ウイルスや抗体といった原材料を使っていよいよ来年度早々に迅速診断キットの試作品(第一世代)に入る予定です。スタッフには第 1 世代キットの中規模製造とその評価試験(感度、特異度、耐用度など)を担当してもらい、学生には私と共に第 2 世代キット用の組換え DNA 抗原や新しいモノクローナル抗体の開発を担当してもらいます。



スタッフが ELISA 用試薬を調製

(6)JICA-JST「地球規模課題対応国際科学技術協力事業」に対する申請については 4 月から 11 月まで主として力を注ぎました。国際協力と科学研究という微妙にベクトルの異なる事業を双方とも満たすためにその案件形成にはかなり苦し

ました。但し、基本はあくまで「ケニアのためになる、ケニアの人たちの医療向上に役立つ活動をしよう。」そしてその活動の中でいろいろな科学的に重要な発見、知見、情報が提供・報告できれば良いのではないかと考えております。その一環として、製造部門にて新たに各種ウイルス病の診断サービス(有料)を開発する予定です。

(7)医療現場を見て初めて各病院の中央検査室の状況が判り、どの位病院に簡易診断キットが必要なのが見えてきたところです。また、マalaria疑いの熱性疾患数が多くしかもその中でマalaria陰性の割合が非常に高いことにも驚かされ、それらに対するアルボウイルス感染症診断の必要性を感じたところです。



細胞継代用のトリプシン溶液を濾過滅菌

案件名	アルボ(蚊媒介性)ウイルス感染症の新しい診断法の開発
派遣専門家	井上真吾
所属機関	長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野・助教
相手国研究機関	公衆衛生省 ケニア中央医学研究所(Kenya Medical Research Institute(KEMRI), Ministry of Public Health and Sanitation)

「アルボウイルス感染症のための新たな診断法の開発」実施運営総括

(全任期期間:平成 21 年 10 月 ~ 23 年 10 月の 2 年間)

本プロジェクトの活動は 4 つに集約される。それは、実験施設の整備、JICA-JST(SATREPS)案件形成、人材育成、そして新しい診断法の開発である。

1. 実験施設の整備

2010 年 12 月までで、本事業の主たる活動場所であるケニア医学研究所・製造部門(KEMRI-PD)の整備計画のうち細胞培養室とウイルス学および血清学実験室である P2 実験室という 2 つの実験室の整備がほぼ完了し、2011 年 1 月より本格的にこれら 2 つの実験室が稼働し始めた。

研究実験活動に必要な機器としては JICA 現地業務活動経費や携行機材費にてクリーンベンチ、インキュベーター、炭酸ガスインキュベーター、倒立顕微鏡など、長崎大学からの機器導入で大型高速冷却遠心機、超遠心機、密度勾配分画分取装置、ELISA プレートリーダーなどを購入していただいた。その結果、アルボウイルス特有の 28℃での蚊の細胞培養や哺乳類の細胞培養が日常的に可能になり、黄熱ウイルス、リフトバレー熱ウイルスワクチン株の大量倍量、精製ウイルスの調製が可能になり、第 1 世代キット開発用のウイルス抗原およびウサギ抗体作製作業が概ね順調に実施された。

2. JICA - JST 案件形成

本プロジェクトの 2 つ目の柱である JICA-JST プロジェクト(地球規模課題対応国際科学技術協力事業(SATREPS):開発途上国のニーズを踏まえた感染症対策研究)案件形成については、カウンターパートと研究計画を作成し、2010 年 9 月に在ケニア日本大使館および JICA への申請書提出が行われ、翌年 4 月に 2011 年度分課題に採択された。アフリカでは感染症分野としてはただ 1 つ採択された。



スタッフの予防接種と採血

2011 年 12 月 14 日に Record of Discussions への署名がされ、2012 年 3 月 1 日にプロジェクト開始となる予定である。

3. 人材育成

カウンターパートの Dr.Mwau とは毎月約 2 回の会合を持ち、博士課程大学院生に対する研究指導を行い、迅速診断法の開発(RT-LAMP)についてはほぼ実験は終了したので 2012 年 2 月現在、投稿論文の作成中である。

KEMRI 製造部門の実験室における作業としてスタッフと共にウイルスの大量培養、ウイルス精製を合計 9 回実施した。そして精製ウイルスをホルマリン不活化してウサギに複数回接種し、高度免疫血清を作製した。ケニアに存在する各種アルボウイルス性熱性疾患の診断法(ELISA、免疫染色、中和試験等)に必要な一次抗体が準備できた。

これら一連のウイルス学実験および血清学的実験はスタッフをウイルス毎に担当者を決めて、ウイルス精製からウサギ

の免疫、抗体価測定まで、一貫してウイルス別担当スタッフおよび大学院生に責任を持って実施させた。これにより、徐々にではあるがスタッフがウイルス抗原の作製から抗体の製造までウイルス学、血清学の全体像を理解できるようになった。

KEMRI-の他部門のスタッフおよび大学院生への技術指導、技術移転についても要望が出ており、SATREPS にてトレーニングを実施する予定である。



ウイルス精製実験中

4. 新しい診断法の開発

簡易診断キットの開発については、イムノクロマト法による IgM 抗体検出用簡易迅速診断キットの開発を目指しており、これらのウイルスおよび抗体の原材料が揃う 2012 年 7 月頃には第一世代の簡易診断キットの試作品が製造できる見通しである。

JSPS(科学技術研究員)としての派遣

JICA 長期専門家として JICA-JSPS プロジェクト(科学技術研究員)という形で 2 年間活動できたことは 2 つの点で有効であった。1 つ目は、2 年間製造部門の一員として過ごすことにより現地スタッフから様々な情報を得ることができ、次のプロジェクトはどうあるべきかを考える時間となった。製造部門の問題点、課題等短期間の滞在や調査では知ることのできない背景、課題が見えて来た。これらの情報を踏まえて、SATREPS の計画書は作成された。SATREPS のタイトルにある”Sustainable Development”のとおり、プロジェクト終了後も継続して自立した活動を可能にするためのプロジェクトにしていきたいと思う。そのためには、JICA-JSPS の 2 年間を含めた 7 年間で人材を育成し、施設を充実させ、自主運営できる経済的基盤を確立させるという 3 本柱が欠かせないと思っている。

2 つ目は、施設や機材の設置にかかる時間を JICA-JSPS の期間に済ませることができたことである。次の SATREPS では JICA-JSPS で整備した第一世代キットの製造能力をすぐに使えるため、第二世代キット開発に必要な分子生物学実験室の機器が整備されるまでの半年(あるいは 1 年間)も時間を無駄にしないで済む。JICA-JSPS は 2 年間と短いので、単発完結型ではなくぜひとも SATREPS やその他 JICA プロジェクトに発展できるシーズ発掘型(形成型)のプロジェクトとして是非継続していただきたい制度である。

最後に JICA、JSPS、長崎大学関係者の皆様のご協力、ご援助に深く感謝いたします。



KEMRI-Alupe これから皆で頑張りましょう！