

アジアで流行している感染症の
我が国への侵入監視に関する研究
(課題番号：H17-新興-3)

平成17年度総括研究報告書

(厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業)

主任研究者 渡 辺 治 雄

国立感染症研究所 細菌第一部

目 次

1. 平成 17 年度総合研究報告書

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究・・・・・・・・・・1

主任研究者 渡辺 治雄 国立感染症研究所

2. 平成 17 年度分担研究報告書

プロジェクト1：細菌

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究・・・・・・・・・・15

分担研究者 寺嶋 淳 国立感染症研究所

協力研究者 泉谷 秀昌 ”

荒川 英二 ”

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究・・・・・・・・・・22

分担研究者 泉谷 秀昌 国立感染症研究所

研究協力者 寺嶋 淳 ”

森田 昌知 ”

斐 迎新 ”

大西 真 ”

林 哲也 宮崎大学

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究・・・・・・・・・・32

分担研究者 伊豫田 淳 国立感染症研究所

協力研究者 陸 彦 ”

小泉 信夫 ”

佐藤 人美 ”

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究・・・・・・・・・・41

分担研究者 三戸部 治郎 国立感染症研究所

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究・・・・・・・・・・45

分担研究者 大西 真 国立感染症研究所

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究・・・・・・・・・・51

分担研究者 廣瀬 健二 国立感染症研究所

研究協力者 森田 昌知 //

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究 55

分担研究者 大澤 朗 神戸大学

協力研究者 井口 純 //

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究

「コレラ菌の多様性、新しい疫学マーカーの研究開発」 67

分担研究者 山崎 伸二 大阪府立大学

0157 および non-0157 EHEC のゲノム多様性解析とそれに基づく

新規疫学ツール・マーカーの検索」 72

分担研究者 林 哲也 宮崎大学

協力研究者 小椋 義俊 //

大岡 唯祐 //

アジアを中心に世界的大流行をおこしている腸炎ビブリオ新型クローンの

同定法に関する研究 92

分担研究者 西淵 光昭 京都大学

協力研究者 西岡 輔 //

中口 義次 //

松本 (真下) 千穂 大阪歯科大学

Ashrafuzzaman Chowdhury バングラデッシュ国際下痢症研究センター

Muhammad Kamruzzaman 京都大学大学院 医学研究科

Surveillance and construction of PFGE data bases *Vibrio cholerae*, *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi A, *Shigella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in China 101

Dr. Jian-Guo Xu

(Chinese Center for Disease Control and Prevention, China)

Organization of PFGE workshop for training and technology transfer for Asia Pacific countries/ areas in February 2006 106

Dr. Kai-Man Kam

(Public Health Laboratory Centre, Hong Kong)

Analysis of <i>Salmonella enterica</i> serotype Typhi Pulsed-Field Gel Electrophoresis patterns in different regions in Vietnam	121
Dr. Phung Dac CAM (National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam)	
Subtyping and surveillance of <i>Salmonella</i> spp. in Malaysia	133
Dr. Kwai-Lin THONG (University of Malaya, Malaysia)	
Evaluation of the utility of two enzymes for PFGE subtyping of <i>Campylobacter</i>	148
Dr. Brent Gilpin (Institute of Environmental Science & Research Limited, New Zealand)	
PFGE standardization and molecular epidemiological study of <i>Vibrio vulnificus</i>	153
Dr. Bok Kwon Lee (Korea National Institute of Health, Korea.)	
Study of the relatedness of quinolone resistant nontyphoidal <i>Salmonella</i> isolated from 2002 onwards in Metro Manila	177
Dr. Celia C. Carlos (Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)	
Surveillance and molecular tracking of <i>Vibrio cholerae</i> O1/O139 and <i>Vibrio parahaemolyticus</i> in Bangladesh and in the Asia Pacific region	182
Dr. G. Balakrish NAIR (ICDDR.B, Bangladesh)	
Phenotypic and genotypic characterization of common enteric pathogens isolated from diarrheal patients: a national study	187
Dr. T. RAMAMURTHY (National Institute of Cholera and Enteric Diseases, INDIA)	
Virulence factors and molecular epidemiology of bacteria causing food-borne poisoning isolated in Thailand	212
Dr. Orn-Anong RATCHTRACHENCHAI (National Institute of Health, Thailand)	
Development of multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) method for molecular subtyping of <i>Shigella</i> spp.	225
Dr. Chien-Shun Chiou (Center for Disease Control, TAIWAN)	

プロジェクト2：ウイルス

デングウイルスの我が国への侵入監視の強化に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 237

分担研究者	倉根 一郎	国立感染症研究所
協力研究者	高崎 智彦	”
	伊藤美佳子	”
	田島 茂	”
	根路銘令子	”
	林 昌宏	”
	小滝 徹	”

The Emergence of West Nile virus in the United States – Implications for Japan・・・248

Dr. Lyle R. PETERSEN

(Centers for Disease Control and Prevention, U.S.A)

Characterization of dengue viruses prevalent in Indonesia for establishment of the laboratory network for molecular epidemiology of dengue and other mosquito-borne viruses prevalent in Asia・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 251

Dr. T. Mirawati Sudiro (University of Indonesia, Indonesia)

Characterization of dengue viruses prevalent in Thailand for establishment of the laboratory network for molecular epidemiology of dengue and other mosquito-borne viruses prevalent in Asia・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 256

Dr. Surapee Anantapreecha (National Institute of Health, Thailand)

Clinical characterization, epidemiology, and seroprevalence of dengue infections in the Philippines・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 261

Dr. Emily S. Bomasang

(Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)

Characterization of dengue virus prevalence in Taiwan・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 269

Dr. Wen-Yi Shih (Taiwan Center for Disease Control, Taiwan)

Nineteen nucleotides in the variable region of 3' non-translated region are dispensable for the replication of dengue type 1 virus in vitro・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 277

Shigeru Tajima, Yoko Nukui, Mikako Ito, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane

Novel dengue virus type 1 from travelers to Yap state, Micronesia.	284
Yoko Nukui, Shigeru Tajima, Akira Kotaki, Mikako Ito, Tomohiko Takasaki, Kanuhiko Koike, and Ichiro Kurane	
Immunoglobulin A antibody responses in dengue patients: a useful maker for serodiagnosis of dengue virus infection.	288
M. Nawa, T. Takasaki, M. Ito, S. Inoue, K. Morita, and I. Kurane	
Detection of Japanese encephalitis (JE) virus-specific IgM in cerebrospinal fluid and serum samples from JE patients.	291
Sumalee Chanama, Walailuk Sukprasert, Areerat Sa-ngasang, Atchareeya A-nuegoonpipat, Somchai Sangkitporn, Ichiro Kurane and Surapee Anantapreecha	
研究成果の刊行に関する一覧表 (業績)	294

プロジェクト3：原虫

I. マラリア

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視の強化に関する研究 (まとめ)	297
分担研究者	遠藤 卓郎 国立感染症研究所
	大前比呂思 //
アジア・太平洋地域におけるマラリア感染状況と疫学的指標の変化 — ソロモン諸島におけるマラリア感染状況の変化を例として —	321
分担研究者	大前比呂思 国立感染症研究所
協力研究者	亀井喜世子 帝京大学医学部
ソロモン諸島における熱帯熱マラリア原虫メロゾイトと表面抗原の遺伝子多様性	326
分担研究者	田辺 和祐 大阪工業大学工学部
薬剤治療をどのようにマラリアコントロールに結びつけるか	331
分担研究者	神原 廣二 長崎大学熱帯医学研究所

マラリア原虫の薬剤耐性モニタリングに関する研究	340
分担研究者 朝日 博子 国立感染症研究所	
研究協力者 泉山 信司 //	
コムギ胚芽無細胞タンパク質合成法を用いた新規マラリア伝搬阻止ワクチン抗原の探索	345
分担研究者 坪井 敬文 愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター	
東南アジアにおけるG6PD欠損症の疫学	351
分担研究者 川本 文彦 大分大学総合科学研究支援センター	
我国におけるマラリア媒介蚊の現状	356
分担研究者 津田 良夫 国立感染症研究所	
輸入患者情報の整理	365
分担研究者 木村 幹男 国立感染症研究所	
我が国における輸入マラリアの患者発生とその動向	370
分担研究者 中野由美子 国立感染症研究所	
研究協力者 亀井喜世子 帝京大学医学部	
「マラリア流行の数理解析」に関する研究	375
分担研究者 石川 洋文 岡山大学環境学研究科	
「マラリア感染データの統計的解析とホットスポット検出」に関する研究	379
研究協力者 栗原 考次 岡山大学大学院環境学研究科	
A briefer of malaria in the Philippines — A report for geographical information system for malaria control	381
Fe Esperanza Espino Research Institute for Tropical	
Medicine (Philippines)	
Establish new monitoring tools of malaria	394
Jetsumon Sattabongkoto Prachumsri	
Armed Forces Research Institute	
of Medical Science (Thailand)	

Epidemiology and control of malaria in a newly developed region in Kampot province,
Southern Cambodia 397

Duong Socheat Ministry of Health National Centre
for Parasitology (Cambodia)

Muth Sinuon "

Strengthening malaria surveillance system in central Java province Phase I, baseline
study 404

Wibisono H. Ministry of Health (Indonesia)

Laihad F. "

Herawati L. "

Munanto A. "

Tobing C. "

Junaidi "

Warsito U. "

Widyaningsih W. "

II.腸管原虫類

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視の強化に関する研究 (まとめ) . . . 414

主任研究者	渡辺 治雄	国立感染症研究所
分担研究者	遠藤 卓郎	"
"	泉山 信司	"
"	八木田健司	"
"	古屋 宏二	"

アジアで流行しているマラリア等の原虫疾患の我が国への侵入監視を目的としたネットワ
ークの構築に関する研究 クリプトスポリジウムを中心とした腸管寄生性原虫類の分子
疫学 422

分担研究者	遠藤 卓郎	国立感染症研究所
"	泉山 信司	"
"	八木田健司	"
研究協力者	黒木 俊郎	神奈川県衛生研究所

Prevalence and genotypic diversity of enteric protozoa isolated from the Philippines
..... 429

Filipinas F. Natividad St. Luke's Medical Center (Philippines)

Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp, *Isospora belli*, *Giardia intestinalis*
and *Blastocystis hominis* among Thai patients

Project 1: Molecular epidemiology of cryptosporidiosis among human
immunodeficiency virus-infected patients in Thailand: analysis of the 18S RNA and the
Cpg60/45/15 loci 443

Project 2: Isosporiasis in Thailand: Morphometric and molecular analysis 454

Somchai Jogwutiwes Chulalongkorn University(Thailand)

Chaturong Putaporntip "

**Takuya Iwasaki Nagasaki University, Institute of
Tropical Medicine**

Hiroji Kanbara "

**Takuro Endo National Institute of Infectious
Diseases**

参考資料 (会議資料)

1. Report 463

2. Program 464

Research project: Construction of laboratory-based net work
in Asia and Pan-Pacific Rim 467

(Watanabe H. Vice Director, NIID.)

Asian Vivax Malaria Network: Addressing the re-emerging of
vivax malaria 470

(Bell D. Scientist, Malaria,
Other Vectorborne and Other Parasitic Diseases, WPRO)

Current situation of malaria in the Philippines: research needs to
improve control 474

(Espino F.E. RITM, DOH, the Philippines)

Strengthening malaria surveillance system in central Java province	479
(Wibisono H., Tobing C. Vectorborne Diseases Control Programme, MOH, Indonesia)	
How to use chemotherapy for malaria control	482
(Kambara H. Inst. Trop. Med., Nagasaki Univ.)	
Research on Malaria Transmission in Thailand	488
(Prachumsri J.S. Dept. Entomol., AFRIMS. Thailand)	
Malaria situation and control programme in Cambodia	491
(Sinuon M. Malaria Centre, MOH, Cambodia)	
Epidemiology of G6PD deficiency in Southeast Asia	498
(Kawamoto F. Oita Univ.)	
Border malaria characters of Korea <i>Plasmodium vivax</i> and its Control	501
(Lee H.W. Div. Malaria & Parasitic Dis., NIH, Korea)	
Current situation of enteric protozoan infections in the Philippines and research needed for better control	510
(Natividad F.F. St. Luke's Med. Center, the Philippines)	
Cryptosporidiosis and isosporiasis in Thailand: Morphometric and molecular analysis	519
(Jongwutiwes S. et al. Dept. Parasitol., Chulalongkorn Univ., Thailand)	
Molecular epidemiology of cryptosporidiosis in Japan	526
(Endo T, Izumiyama S, Yagita K. Dept. Parasitol., NIID)	
Dynamic changes of malaria epidemiology in Southeast Asia and South Pacific areas and researches for next steps of control	528
(Ohmae H, Endo T. Dept. Parasitol., NIID)	

Mathematical model of malaria transmission and control	
— Re-emerging of vivax malaria in Korea —	532
(Ishikawa H., Fujii K. Okayama Univ.)	
Development of transmission blocking vaccine of	
<i>Plasmodium falciparum</i>	538
(Tsuboi T. Cell-free Sci. & Tech. Res. Center, Ehime Univ.)	
我国におけるマラリア媒介蚊の生息状況	542
津田 良夫 国立感染症研究所	
成田国際空港におけるマラリア等の昆虫媒介性感染症の監視状況	547
研究成果の刊行	552

平成17年度厚生労働科学研究費補助金総合研究報告書

アジアで流行している感染症の我が国への侵入監視に関する研究 (H17-新興-3)

主任研究者：渡辺治雄（国感染症研究所）

アジアで問題となっている新興・再興感染症の多くは、旅行者、輸入産物、動物、鳥類等を介してわが国へ侵入する可能性がある。それら侵入を迅速に把握し、あるいは侵入を未然に防止することは、わが国の防疫にとって重要である。そのためにはアジアで問題となっている病原体の特徴（形質的特徴、遺伝型、薬剤耐性等）に関する正確な情報の集積およびそのデータベース化が不可欠である。その第一歩として、アジア国間で比較可能な検査法・解析法の確立およびその標準化を行うことにした。まずは、対象病原体として細菌（ビブリオ属菌）、ウィルス（デング熱）、原虫（マラリア）を取り上げ、アジア地域の国立研究機関（CDC 様機能を持つ機関）に働きかけて、共同研究の合意を取り付け、わが国で第一回目の会議を開催した。その結果、各国の CDC 様研究機関との連携強化を図り、共通の検査・試験プロトコルの作成を開始することにした。また、国内的には、アジアからの帰国者等を介して運ばれてきている病原体の現状把握を行い、その形質、および遺伝学的特徴づけの解析、データベース化を行う体制の構築を開始した。

分担研究者		科学実験総合センター
寺嶋 淳	国立感染症研究所 細菌第一部	—
伊豫田 淳	国立感染症研究所 細菌第一部	山崎 伸二 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科
泉谷 秀昌	国立感染症研究所 細菌第一部	西渕 光昭 京都大学 東南アジア 研究所
三戸部 次郎	国立感染症研究所 細菌第一部	協力研究員
大西 真	国立感染症研究所 細菌第一部	Dr. Jian-Guo Xu. (Chinese Center for Disease Control and Prevention, China)
廣瀬健二	国立感染症研究所 細菌第一部	Dr. Orn-Anong RATCHTRACHENCHAI. (National Institute of Health, Thailand)
大澤 朗	神戸大学 農学部	
林 哲也	宮崎大学フロンテア	Dr. Kwai-Lin THONG. (University of

	Malaya, Malaysia)		ウイルス第一部
Dr. T. RAMAMURTHY.	(National Institute of Cholera and Enteric Diseases, INDIA)	田島 茂	国立感染症研究所 ウイルス第一部
Dr. Celia C. Carlos.	(Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)	林 昌弘	国立感染症研究所 ウイルス第一部
Dr. Bok Kwon Lee.	(Korea National Institute of Health, Korea.)		
Dr. Brent Gilpin.	(Institute of Environmental Science & Research Limited, New Zealand)	協力研究員	
Dr. Phung Dac CAM.	(National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam)	Dr. Lyle R. PETERSEN.	(Centers for Disease Control and Prevention, U.S.A)
Dr. Chien-Shun Chiou.	(Center for Disease Control, TAIWAN)	Dr. T. Mirawati Sudiro.	(University of Indonesia, Indonesia)
Dr. Kai-Man Kam.	(Public Health Laboratory Centre, Hong Kong)	Dr. Surapee Anantapreecha	(National Institute of Health, Thailand)
Dr. G. Balakrish NAIR.	(ICDDR.B, Bangladesh)	Dr. Emily s. Bomasang.	(Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)
Dr. Diane Lightfoot.	(University of Melbourne, Australia)	Dr. Wen-Yi Shih.	(Taiwan Center for Disease Control, Taiwan)
Dr. Bala, Swaminathan.	(FDDB/DBMD/NCID/CDC, U.S.A)		
Dr. D. W. N. Chee.	(Minister of State for Health, Singapore)	プロジェクト3	
		分担研究者	
		遠藤卓郎	国立感染症研究所 寄生動物部
		大前比呂思	国立感染症研究所 寄生動物部
		朝日博子	国立感染症研究所 寄生動物部
プロジェクト2		澤田良夫	国立感染症研究所 寄生動物部
分担研究者		木村幹男	国立感染症研究所 寄生動物部
倉根一郎	国立感染症研究所 ウイルス第一部	古屋宏二	国立感染症研究所 寄生動物部
高崎智彦	国立感染症研究所 ウイルス第一部	中野由美子	国立感染症研究所
伊藤美佳子	国立感染症研究所		

寄生動物部
 八木田健司 国立感染症研究所
 寄生動物部
 泉山信司 国立感染症研究所
 寄生動物部
 田辺和裕 大阪工業大学工学部
 神原廣二 長崎大学熱帯医学研
 究所
 石川洋文 岡山大学大学院環境
 学研究科
 坪井敬文 愛媛大学無細胞生命
 科学工業研究センタ
 ー
 川本文彦 大分大学・総合科学研
 究支援センター

協力研究員

Dr. R. Olveda (Malaria Study group,
 Institute for Tropical
 Medicine, Philippines)
 Dr. S. Jongwutives (Armed Forces
 Research Institute of
 Medical Science,
 Thailand)
 Dr. W. Wootta (NIH, Thailand)
 Dr. D. Socheat (National Centre for
 Parasitology,
 Entomology and Malaria
 Control, Cambodia)
 Dr. F. Natividad (St. Luke's
 Medical Center,
 Philippines)
 Dr. T. Linhua (China CDC, China)
 Dr. L. K. Thuan (Vietnam)

1. 研究目的：

新興・再興感染症の多くはアジアに
 おいて問題となっているものが多い。
 それらの感染症が旅行者、輸入産物、
 動物、鳥類等を介してわが国へ侵入す
 る可能性がある。侵入の未然防止、あ
 るいは侵入の迅速把握のためにはア
 ジアで問題となっている病原体の特
 徴（形質的特徴、遺伝型、薬剤耐性等）
 に関する情報の集積が重要である。そ
 のための基盤として、国際間で比較可
 能な検査法・解析法の確立およびその
 標準化を行うことが不可欠である。そ
 れらは、アジア各国でレファレンスラ
 ボとして責任ある研究機関（CDC 様
 の研究機関）との連携において行うこ
 とが最も効率的である。今この時期こそ、
 わが国がリーダーシップをとり、アジ
 アの CDC 様研究機関の検査体制のネッ
 トワーク化に向けて尽力する時であり、
 この研究班においてそれを目指す。

2. 研究方法：

グループを病原体別に①細菌関連
 （アジアで問題となっている腸内細
 菌感染症を対象にする）、②ウイルス、
 ③原虫に分け、それぞれの班を中心に、
 各国で比較可能な病原体の検査法の
 開発、およびその標準化を行う。研究
 班は、1) 国内の研究者による検査法
 の開発、分子疫学的データの解析法の
 開発研究、2) アジアの CDC 様研究機
 関への委託研究、および各国の病原
 体の情報の集積・解析、データの保管等
 に関する研究からなる。

(1) 今期は以下の病原体（細菌：腸
 管系感染症。ウイルス：デング

熱、。原虫：マラリア)を対象にした検出法、および遺伝型等の解析法のプロトコールの標準化並びに制度管理を行い、アジア諸国の研究所間でデータを比較可能にさせる。それら検査・解析法の統一を図るため、講習会を実施する。

- (2) 各国で分離される病原体の遺伝型等のデータベースの作成を行う。
- (3) アジア諸国のCDC様研究機関の研究者の人的交流を促進させ、技術・方法面の情報交換の促進を図る
- (4) アジア諸国で発生している病原体に関して相互に比較可能なデータベースの集積が可能となる。わが国にそれら病原体が侵入した場合に、迅速にそのオリジンを把握でき、適切なる対策に結びつけることが期待できる

3. 研究結果：

細菌関係；

アジアで流行している下痢原性細菌の検査体制および遺伝型解析のための標準化促進のため「Pulse-Net Asia-Panpacific」の立ち上げを行った。アジア等14カ国（中国、香港、台湾、韓国、ベトナム、マレーシア、フィリピン、タイ、バングラデシュ、インド、ニュージーランド、オーストラリア、日本、アメリカ）のCDC様研究所の細菌担当責任者を感染研に

2005年11月に招聘し、研究・検査ネットワーク構築の合意と今後の方針を検討した。そのときのプログラムを表1に示す。アジアで問題となっているビブリオ属細菌の遺伝型解析法（PFGE）の講習会を香港で2006年2月に開催した。共通のデータベース構築を目的として、共通のプロトコールの作成、その制度管理を行った。将来を見越した、PFGEの問題点を克服するための新しい菌株識別法の開発：ゲノム上の差異をより簡便に見出せるMLVA(ゲノムの繰り返し配列を塩基レベルで検出する技術)を開発した。

Vibrio Cholera 用のパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)標準化プロトコールの作成：アジア諸国において関心度の高い病原菌のひとつである *Vibrio cholerae* について、米国CDCを中心として香港(Public Health Laboratory Centre;PHLC)、Bangladesh(International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh; ICDDR, B)、国立感染症研究所細菌第一部においてPFGE標準化プロトコールを作成した。ICDDR, B, PHLC、細菌第一部から供出された *V. Cholerae* 01及び0139計40株について、それぞれの研究室において標準化プロトコールの候補により泳動を行い、画像をPHLCに電送後、解析ソフトBionumericsにより比較解析を行った。当プロトコールを *V. Cholerae* 標準化プロトコールとして用いることが合意された。

感染源や感染経路を特定する為の

手段として分子疫学的解析法が大きな威力を発揮している。中でも、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) が、その再現性と識別度の高さのため分子疫学的解析法のゴールドスタンダードとして用いられている。しかしながら、PFGE にもいくつかの問題点があり、より簡便で迅速な分子疫学的解析法の開発も求められている。コレラ菌のスーパーインテグロン (SI) に着目し、その多様性を解析した。その結果、SI に存在するインテグラーゼ遺伝子は、血清型を問わず調べた全てのコレラ菌に存在し、コレラ菌の SI には、菌株間でかなり多様性があることを見いだした。

アジアを中心に感染症の世界的大流行を起こしている腸炎ビブリオ新型クローンの同定に最も適した遺伝学的方法を明らかにするために、まず多数の遺伝子中の塩基置換を総合的に解析して新型クローンの系統発生を明らかにし、その結果に基づいて同定法を評価した。系統発生学的解析にはアジア各地で 1980 年から 2001 年までに分離された 61 菌株 (新型クローンおよび関連菌株) を対象に、大小 2 つの染色体中に分布する合計 11 遺伝子の塩基配列を決定し、それらを連結して Neighbor-Joining 法によって系統樹を作成した。種々の方法で総合して解析すると、新型クローンは系統発生の過程で大染色体中に環境変化への適応に必要な挿入配列 (23 kb および 16 kb 配列)、小染色体中に病原性関連遺伝子群 (*tdh* 遺伝子を含む)

を獲得したと考えられた。

EHEC 0157 の多様な PFGE パターンの要因解明に関する研究: EDL933 株は全塩基配列が報告されており、ゲノム上には 18 個のファージ DNA およびファージ様 DNA が存在する。PFGE パターンの変化に影響を及ぼした変異の解析をおこなった結果、変異の一部は DNA 複製軸に対してほぼ対称な位置に存在する 2 つのファージ DNA 間での逆位により起こったことが分かった。さらに、プロファージの変化と 2 種類の IS (IS629 と ISEc8) を介したゲノム変化が 0157 EHEC 菌株に見られるゲノム多様化の原動力であることも明らかとなった。

ウイルス関係:

わが国でこれまで分離された Dengue ウイルス 1-4 型計 33 株の E 遺伝子の全塩基配列を決定した。さらに、この情報に、これまで世界各国で報告されている 389 株の E 遺伝子情報を加え、世界における Dengue ウイルス 1-4 型に関する系統樹を作成した。Dengue ウイルス 1, 2, 3 型については各々 5 つの遺伝子型に、また 4 型については 2 つの遺伝子型に分類されることを確認した。この系統樹は現在世界にあるデータのほとんどを含んでいるものであり、今後アジアにおける Dengue ウイルス株の解析を進める上で重要な基盤的データとなる。また、アジア Dengue ネットワークの構築に向けてタイ、インドネシア、フィリピン、台湾の賛同を得、各国参加研究機関における Dengue

グウイルス解析、情報収集についての状況調査を行った。成田空港検疫所において有熱患者におけるデングウイルス感染者の割合をウイルス学的検査、血清学的検査によって検討した。現在のところ、110人の有熱患者の約10%がデングウイルス感染であるという結果が得られた。

原虫関係：

日本の国内では、1961年以降、マラリア原虫の生活環の存在は証明されていないが、輸入マラリアが問題となり、報告例は増加傾向をにであったが2000年をピークに減少に転じている。

これまで我が国では、12種類のハマダラカが報告されているが、今年度は、かつて熱帯熱マラリアの浸淫地であった八重山地域と、浸淫地からの国際便が多く発着する成田空港を対象として生息調査を行った。八重山地域では、主にコガタハマダラカとオオツルハマダラカが採集された。成田空港の周辺にも、既にハマダラカの生息は確認されており、設置トラップによる調査では、6-9月に成虫が採集された。また、2001-2005年の航空機内調査においては、アメリカ合衆国からの2便でのみ、ハマダラカが採集された。病原体検査においては、採集されたいずれの蚊からもマラリア原虫は検出されなかった。

我が国のマラリア防疫体制の強化には、ヒトの移動が多いアジア各国におけるマラリア浸淫状況を的確に把握することが必要で、アジア諸国にお

けるマラリアの疫学的情報の把握と、情報共有のためのネットワーク作りが重要である。今年度の各国からの報告や調査によると、東南アジア各国のマラリアの疫学的状況が変化し、morbidity, mortality が改善していることが確認された。国によって状況は異なるが、相対的に重症で致死率の高い熱帯熱マラリアから、症状が軽い慢性的な三日熱マラリアに流行の中心が移っていく傾向が見られている。医療機関を受診した患者のデータを基にした既存のマラリア流行の監視システムや疫学的指標では、この劇的な変化に対応しているとはいえない状況にある。今後は、問題とされる地域で積極的な疫学的調査を進める一方、分子生物学的手法を利用した新しいマラリアの疫学指標の開発や監視システムを構築することが必要である。

一方、1999年4月-2004年12月の我が国への輸入マラリアの報告症例、約600例を解析したところ、全体では、熱帯熱マラリアが最も多く、次いで三日熱マラリアとなった。しかし、推定感染地域別にみると、感染者の増加しているアフリカでは、約70%が熱帯熱マラリアであったのに対し、感染者の減少しているアジアでは逆に約70%が三日熱マラリアだった。この結果は、上記の東南アジアにおけるマラリアの疫学的状況の変化を反映していると思われる。韓国は、我が国との間で相互に最もヒトの往来があり、防疫を考えるうえでも重要であるが、1979

年に一度終息した三日熱マラリアが、1993年ごろより再びDMZを越えて侵入し、国内でマラリア感染環が維持されるに至っている。当該研究では韓国におけるマラリア侵入機構の数理モデルを構築し、DMZ近傍のパジュ、ヨンチョン地域を対象とした感染拡大をシュミレーションし、とられた対策の有用性についても併せて検証した。

4. 考察・結論：

アジアで問題となっている疾患の原因病原体に関して、各国のCDC様研究機関との連携強化を図り、共通の検査試験プロトコールの作成を開始した。国内的には、アジアから帰国者等を介して運ばれてきている病原体の現状把握を行った。その形質、および遺伝学的特徴づけを行い、データベース化を行う体制の構築を開始した。

次年度以降への課題として、各国から収集されるデータの信頼性を向上

させるため、病原体分離法、病原体ゲノム識別法、耐性遺伝子解析法等に関する共通プロトコールを作製し、講習を行い、精度管理の向上を目指す予定である。また、対象研究機関はアジア各国のCDC、NIH様機関であるので将来的にはアジアCDC様研究機関連合・協力構想への拡大の可能性も目指す。

当研究により得られる、アジア各国における、下痢性細菌感染症、デング熱・デング出血熱、マラリア等の原虫症の流行状況、その遺伝子型、および流行株の生物学的特性等のリアルタイムな情報はわが国における感染症対策に必須な基盤データとなるであろう。また、アジア地域における疫学情報はわが国の上記病原体による感染症への対策のsentinel的機能を担うもので、アジア各国との連携、組織の強化・維持、ならびに情報の精度向上を通してわが国の危機管理体制の強化に貢献するであろう。

表 1. アジア・パルスネット会議のプログラム

PulseNet Asia Pacific Meeting

Place of meeting: National Institute of Infectious Diseases, Japan

Date : November 16~18, 2005

November 16, 2005

- 9:00 Welcome NIID/ APHL/ CDC
9:10 Welcome address Japanese Ministry of Health, Welfare and Labor
9:15 Purposes and Expectations of the Meeting
Swaminathan, CDC /Watanabe, NIID
9:30 Summary of Hong Kong Meeting and Progress since last Meeting
HK PHLC/ APHL/ CDC

10:00 Break

Country/Area presentation, PFGE analysis and network

Chair: Jianguo Xu、 co-chair: Yasin Rohani

- 10:30 Australia
Diane Lightfoot, University of Melbourne, Australia
10:50 Proposal to unify categorization of the pandemic strains of *Vibrio parahaemolyticus* by the PulseNet Asia Pacific group using a standardized PFGE protocol
Munirul Alam and G. Balakrish Nair, International Centre for Diarrhoeal Disease Research: Centre, Bangladesh
11:10 Progress of Platform for Interlaboratory Comparison (PIC) Work Group in PulseNet Asia Pacific
Danny Cheung, Cindy Luey and Kai Man Kam
Public Health Laboratory Centre, Centre for Health Protection, Hong Kong
11:30 Molecular epidemiology of *vibrio* with special reference to PFGE.
B. Dutta and T. Ramamurthy, National Institute of Cholera and Enteric Diseases, India
11:50 Effectiveness of pulsed-field gel electrophoresis for the early detection of

diffuse outbreaks due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Japan
Jun Terajima, Hidemasa Izumiya, Sunao Iyoda, Jiro Mitobe, and Haruo
Watanabe, National Institute of Infectious Diseases, Japan

12:10~14:00 Lunch

Chair: Diane Lightfoot, co-chair: T. Ramamurthy, ,

14:00 Korea

Bok-Kwon Lee, National Institute of Health, KCDC, Korea.

14:20 Malaysia

Yasin Rohani, Institute for Medical Center, Malaysia

14:40 PulseNet Aotearoa New Zealand

Brent Gilpin, Institute of Environmental Science & Research Limited
Christchurch Science Centre, New Zealand

15:00 P.R. China

Jianguo Xu, National Institute for Communicable Disease Control and
Prevention, China

15:20~15:40 Break

Chair: Kai-Man Kam, co-chair: Jun Terajima_

15:40 Philippines

Celia C. Carlos, Research Institute for Tropical Medicine, Philippines

16:00 Taiwan

Chien-Shun Chiou, Taiwan CDC

**16:20 Characterization of multidrug-resistant *Salmonella* Typhi isolated in Thailand
by phage typing and pulsed field gel electrophoresis.**

Prapawadee Tishyadhigama, Sriwanna Huttayananont, Jiraporn Sukkaew, and
Orn-Anon Ratchtrachenchai, National Institute of Health, Thailand

16:40 Vietnam

Phung Dac Cam, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam

17:00 Summary: PulseNet USA updates meetings – San Diego 2004 & Seattle 2005.

Brent Gilpin, Bala Swaminathan, others