

Publication list for this work

- 1) A multilocus variable-number tandem repeat analysis method for molecular subtyping of *Shigella sonnei*. Shiu-Yun Liang, Haruo Watanabe, Chien-Shun Chiou,* Chun-Chin Li, Jui-Cheng Liao, Sheng Kai Tung. (Prepared for submitting to J. Clin. Microbiol.)

Table and Figures

Table 1. Characteristics of 26 VNTR loci for *Shigella sonnei* identified in this study.

VNTR locus	Length of repeat unit (bp)	Number of repeat unit		No. alleles ^a	Allele diversity ^b
		Strain Ss046	Strain 53G		
SS1	7	10	1	11	0.72
SS2	9	2	1	2	0.39
SS3	7	14	16	20	0.91
SS4	7	2	3	2	0.39
SS5	7	4	3	2	0.44
SS6	7	14	13	20	0.92
SS7	7	2	3	2	0.44
SS8	60	1	2	2	0.12
SS9	6	8	9	9	0.76
SS10	6	3	7	6	0.74
SS11	6	4	6	6	0.73
SS12	9	2	3	4	0.48
SS13	6	3	2	4	0.5
SS14	9	2	3	2	0.39
SS15	6	2	3	2	0.44
SS16	17	2	3	3	0.45
SS17	6	2	3	2	0.44
SS18	5	2	3	3	0.37
SS19	5	2	3	2	0.44
SS20	40	2	1	2	0.44
SS21	18	1	2	2	0.37
SS22	11	2	1	2	0.44
SS23	16	3	5	5	0.48
SS24	168	2	1	2	0.44
SS25	135	1	2	2	0.27
SS26	101	4	4	4	0.15

^aThe number of alleles found in the 536 *S. sonnei* isolates tested in this study.

^bCalculated from the 126 different MLVA *S. sonnei* strains identified in this study.

Table 2. Characteristics of 10 shigellosis outbreaks and the genotypes of 151 *Shigella sonnei* isolates from the outbreaks.

Outbreak	Date of isolation (Year/month/day)	Location (County)	No. isolates	No. PFGE type ^a	IST type ^a (No. Isolates)	MLVA type (No. Isolates)
O1	1996/2/5-3/10	Hwalien	7	2	IST11 (7)	SS26.73 (7)
O2	1998/10/19-11/12	Nantou	9	1	IST21 (9)	SS26.21 (9)
O3	1998/10/31	Taoyuan	8	5	IST18 (8)	SS26.18 (6) SS26.74 (2)
O4	1998/11/6	Taoyuan	6	2	IST21 (6)	SS26.21 (5) SS26.75 (1)
O5	2000/10/20-11/4	Hwalien	49	11	IST1 (48) IST23 (1)	SS26.1 (3) SS26.66 (43) SS26.129 (3)
O6	2001/8/2-8/11	Nantou	17	2	IST3 (16) IST26 (1)	SS26.3 (16) SS26.102 (1)
O7	2001/8/9-8/24	Nantou	27	5	IST1 (27)	SS26.1 (21) SS26.111 (2) SS26.124 (1) SS26.125 (2) SS26.130 (1)
O8	2001/10/4-10/5	Taoyuan	6	3	IST1 (6)	SS26.1 (6)
O9	2002/4/21-/6/5	Nantou	14	1	IST1 (14)	SS26.1 (7) SS26.125 (6) SS26.142 (1)
O10	2003/12/18- 2004/1/9	Taitung	8	1	IST7 (8)	SS26.7 (8)

^aData from the previously study [11].

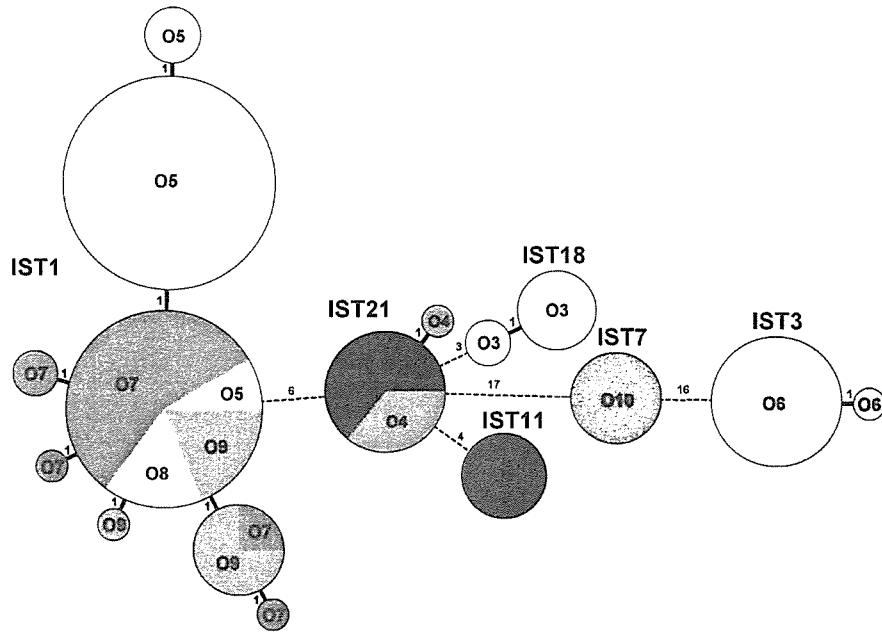


FIG. 1. The genetic relationship of MLVA genotypes for *Shigella sonnei* strains collected from 10 shigellosis outbreaks. The clustering was constructed by minimum spanning tree algorithm. O1-O10 indicate the outbreaks from which the MLVA strains were collected. Circle size is proportional to the number of isolates belonging to an indicated MLVA genotype. MLVA types differing in only VNTR locus are regarded as a group, marked with a gray color. Differences in loci between two MLVA types are numbered. The IST genotypes for the outbreak strains are indicated.

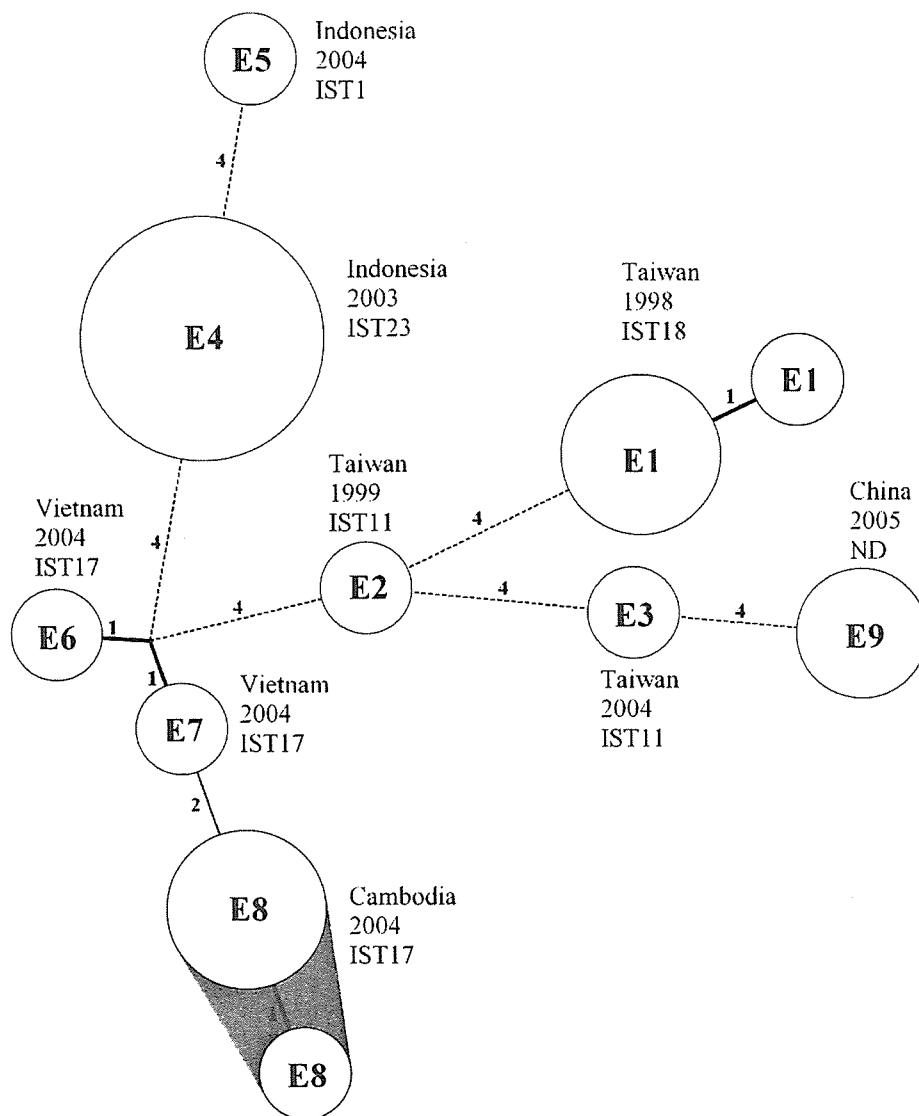


FIG. 2. The minimum spanning tree of the MLVA genotypes for 22 *Shigella sonnei* isolates with indistinguishable PFGE pattern (J16N09.0015) collected from 9 epidemiologically-unrelated events (E1 – E9). The country of the strain originated, the year and the IST genotype are noted. Circle size is proportional to the number of isolates belonging to an MLVA genotype. MLVA types differing in only a VNTR locus are regarded as a group, marked with a gray color. Differences in loci between two MLVA types are numbered.

研究成果の刊行に関する一覧表(平成18年度)

執筆者氏名	刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名、 巻号数、論文名)	刊行書店名	巻名	ページ	刊行年
J. Terajima, H. Izumiya, S. Iyoda, J. Mitobe, M. Miura, H. Watanabe.	Effectiveness of pulsed-field gel electrophoresis for the early detection of diffuse outbreaks due to Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> in Japan	Foodborne Pathogens and Disease.	3(1):	68-73	2006
KL. Cooper, CK. Luey, M. Bird, J. Terajima, GB. Nair, KM. Kam, E. Arakawa, A. Safa, DT. Cheung, CP Law, H. Watanabe, K Kubota, B. Swaminathan, EM Ribot.	Development and validation of a PulseNet standardized pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of <i>Vibrio cholerae</i> .	Foodborne Pathogens and Disease.	3(1)	51-8	2006
M. Morita, K. Mori, K. Tominaga, J. Terajima., K. Hirose, H. Watanabe, H. Izumiya.	Characterization of lysine decarboxylase-negative strains of <i>Salmonella enterica</i> serovar Enteritidis disseminated in Japan.	FEMS Imuunol. Med. Microbiol	46	381-385	2006
S. Iyoda., N. Kozumi, H. Satou, Y. Lu, T. Saitoh, M. Ohnishi, H. Watanabe.	The GrlR-GrlA regulatory system coordinately controls the expression of flagellar and LEE-encoded type III protein secretion systems in enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> .	J Bacteriol.	188	5682-5692	2006

Y. Lu, S. Iyoda, H. Satou, K. Itoh, T. Saitoh, H. Watanabe.	A New Immunoglobulin-Binding Protein, EibG, Is Responsible for the Chain-Like Adhesion Phenotype of Locus of Enterocyte Effacement-Negative, Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> .	. Infe. Immun.	74	5747-5755	2006
G. Leotta, N. Deza, J. Origlia, C. Toma, I. Chinen, E. Miliwebsky, S. Iyoda, S. Sosa-Estani, M. Rivas.	Detection and characterization of Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> in captive non-domestic mammals.	Vet. Microbiol	118	151-157	2006
M. Morita, K. Ito, K. Hirose, H. Takahashi, K. Shimuta, J. Terajima, M. Ohnishi, M. Harada, M. Matsuzaki, H. Watanabe, H. Izumiya.	Development of a real-time PCR assay for detection of <i>gyrA</i> mutations associated with reduced susceptibility to ciprofloxacin in <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi and Paratyphi	A. Microbiol. Immunol	50	707-711.	2006
J. Okuda, S. Yamasaki, T. Ramamruthy K. Sato.	The potent antibacterial activity of siflofloxacin against fluoroquinolone-resistant clinical isolates of <i>Vibrio cholerae</i> O1.	Microbiol. Immunol	in press		2007.
S. Haldar, S. Chatterjee, M. Vijayakumaran, S. Yamasaki	Isolation of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> and <i>Vibrio cholerae</i> (Non-O1 and O139) from moribund shrimp (<i>Penaeus monodon</i>) and experimental challenge study against post larvae and juveniles.	Ann. Microbiol	57	55-60	2006

R. Chakraborty, S. Sinha, K. Mukhopadhyay, M. Asakura, <u>S. Yamasaki</u> , S. K. Bhattacharya, G. B. Nair, T. Ramamurthy	Species- specific identification of <i>Vibrio fluvialis</i> by PCR targeted to the conserved transcriptional activation and variable membrane tether regions of <i>toxR</i> gene.	J. Med. Microbiol	55	805-808	2006
A. Ghosh, D.R. Saha, K.M. Hoque, M. Asakura, <u>S. Yamasaki</u> , H. Koley, S.S. Das, M.K. Chakrabati, A. Pal.	Enterotoxigenicity of 45-kDa matured and 35-kDa processed forms of hemagglutinin protease purified from a cholera toxin gene negative <i>Vibrio cholerae</i> non-O1, non-O139 strain.	Infect. Immun	74	2937-2946	2006
L. Shi, K. Fujihara, T. Sato, H. Ito, P. Garg, R. Chakrabarty, T. Ramamurthy, G.B. Nair, Y. Takeda <u>S. Yamasaki</u> .	Distribution and characterization of integrons in various serogroups of <i>Vibrio cholerae</i> strains isolated from diarrheal patients between 1992 and 2000 in Kolkata, India	J. Med. Microbiol.,	55:	573-583	2006
T. Tobe, SA. Beatsn, H. Taniuchi, H. Abe, B. Bailey, M. Fivian, R. Younis, S. Matthews. O. Marches,	An extensive repertoire of type III secretion effectors in <i>Escherichia coli</i> O157 and the role of lambdoid phages in their dissemination.	Proc Natl Acad Sci USA	103	14941-14946	2006

G. Frankel, T. Hayashi, MJ. Pallen.					
Y. Ogura, K. Kurokawa, T. Ooka, K. Tashiro, T. Tobe, M. Ohnishi, K. Nakayama, T. Morimoto, J. Terajima, H. Watanabe., S. Kuhara, T. Hayashi.	Complexity of the genomic diversity of enterohaemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157 revealed by the combinational use of the O157 Sakai oligo DNA microarray and the Whole Genome PCR Scanning.	DNA Res	13	3-14	2006

Ogura, Y., Ooka, T., Whale, A., Garmendia, J., Beutin, L., Tennant, S., Krause, G., Morabito, S., Chinen, I., Tobe, T., Abe, H., Tozzoli, R., Caprioli, A., Rivas, M., Robins-Browne, R., Hayashi, T., Frankel, G	TccP2 of O157:H7 and Non-O157 Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC): Challenging the Dogma of EHEC-Induced Actin Polymerization	Infect. Immun.	75	604-612,	2007
T. Hayashi.	Breaking the barrier between commensalism and pathogenicity	Science	313	772-773	2006
Whale, A., Hernandes, RT., Ooka, T.,	TccP2-mediated subversion of actin dynamics by EPEC 2 - a distinct evolutionary	Microbiology.	in press		2007

Krause, G., Schuller, S., Garmendia, J., Crowther, L., Vieira, MA., Ogura, Y., Phillips, AD., Beutin, L., Gomes, TA., Hayashi, T., Frankel, G.:	lineage of enteropathogenic Escherichia coli.				
Vuddhakul, V., S. Soboon, W. Sunghiran, S. Kaewpiboon, A. Chowdhury, M. Ishibashi, Y. Nakaguchi, and M. Nishibuchi.	Distribution of virulent and pandemic strains of <i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i> in three molluscan shellfish species (<i>Meretrix meretrix</i> , <i>Perna</i> <i>viridis</i> , and <i>Anadara granosa</i>) and their association with foodborne disease in southern Thailand.	J. Food. Prot	69(11)	2615-2620	2006.
Pavathi, A., H.S. Kumar, A. Bhanumathi, M. Ishibashi, M. Nishibuchi, I. Karunasagar,	Molecular characterisation of thermostable direct haemolysin-related haemolysin (TRH)-positive <i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i> from oysters in Mangalore, India.	Environ. Microbiol..	8(6):	997-1004	2006
Gomez Gil, B., E. Llausas-Magaña, R. Romero, A. Espinoza, A. Garcia-Gasca, M. Nishibuchi, H. Cabanillas-Beltran, M. Ishibashi	Outbreak of Gastroenteritis Caused by the pandemic <i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i> O3:K6 in Mexico.	FEMS Microbiol. Lett	265(1):	76-80.	2006
Tajima, S., Nukui, Y., Ito, M., Takasaki, T.,	∴ Nineteen nucleotides in the variable region of 3' non-translated region are	Virus Research	116	38-44	2006

<u>Kurane, I.</u>	dispensable for replication of dengue type 1 virus in vitro.				
Sa-ngasang, A., Anantapreecha, S., A-nuegoonpipat, A., Chanama, S., Wibulwattanakij, S., Pattanakul, K., Sawanpanyalert, P. and <u>Kurane, I.</u> :	Specific IgM and IgG responses in primary and secondary dengue virus infections determined by enzyme-linked immunosorbent assay.	Epidemiology and Infection	134 (84)	820-825	2006
					2006

Itoda, I., Masuda, G., Suganuma, A., Imamura, A., Ajisawa, A., Yamada, K., Yabe, S., Takasaki, T., <u>Kurane, I.</u> , Totsuka, K. and Negishi, M.	Clinical features of 62 imported cases of dengue fever in Japan.	American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.	75(3)	470-474	2006
Takasaki T., Kotaki A., Nishimura K., Sato Y., Tokuda A., Lim C. W., Ito M., Tajima S., Nerome R., Kurane I.	Dengue Virus Type 2 Isolated from An Imported Dengue Patient in Japan: First Isolation of Dengue Virus from Nepal.	J. Travel Med.	in press		2007
Mizuno Y., Kotaki A., Harada F., Tajima S., Kurane I., Takasaki T.	Confirmation of dengue virus infection by detection of dengue virus type 1 genome in urine and saliva but not in plasma.	Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.	In press		2007
Ichiro Itoda, Gohta Masuda, Akihiko Suganuma, Akifumi Imamura, Atsushi Ajisawa, Ken-Ichiro Yamada, Sadao Yabe, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Kyoichi	Clinical feature of 62 imported cases of dengue fever in Japan.	Am. J. Trop. Med. Hyg.,	75	470-474	2006.

Totsuka, Masayoshi Negishi.					
Tomohiko Takasaki, Akira Kotaki, Kiyomi Nishimura, Yukiyoshi Sato, Atsuko Tokuda, Chang Kweng Lim, Mikako Ito, Shigeru Tajima, Reiko Nerome and Ichiro Kurane	Dengue Virus Type 2 Isolated from An Imported Dengue Patient in Japan: First Isolation of Dengue Virus from Nepal.	JTM	in press		2007

学会発表に関する一覧表 (平成 18 年度)

執筆者氏名	学会発表名	学会名	開催年	開催地
原田文植、 高崎智彦、 高木弘隆、 林 昌宏、 伊藤美佳子、 倉根一郎	日本人デング熱患者における抗ウエストナイルウイルス交差中和抗体に関する検討.	第 80 回日本感染症学会	2006 年 4 月 20-21 日	東京
井戸田一朗、 井上康子、 伊藤美佳子、 高崎智彦、 倉根一郎、 戸塚恭一、 鳴門 弘	ミクロネシア連邦ヤップ州に在住する日本人におけるデング熱発生状況について	第 80 回日本感染症学会	2006 年 4 月 20-21 日	東京
加藤廣幸、 羽田野善郎、 水野泰孝、 上田晃弘、 源河いくみ、 川名明彦、 金川修造、 原田文植、 高崎智彦、 倉根一郎、 狩野繁之、 岡 慎一、 木村 哲、 工藤宏一郎	フラビウイルス IgM 抗体が偽陽性となった熱帯熱マラリアの一例.	第 80 回日本感染症学会	2006 年 4 月 20-21 日	東京
高崎智彦、 水野泰孝、 加藤康幸、 西村聖美 原田文植、 田島茂、 工藤宏一郎、 倉根一郎	デング熱患者における尿および唾液中のデングウイルス遺伝子検出	第 13 回トガ・フラビ・ペ スチウイルス研究会	2007 年 1 月 19 日	東京

プロジェクト 2 : ウイルス

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

アジアデング熱ネットワークの構築に関する研究

分担研究者： 倉根一郎（国立感染症研究所ウイルス第一部）
協力研究者： 高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部第二室）
田島 茂（国立感染症研究所ウイルス第一部第二室）
根路銘令子（国立感染症研究所ウイルス第一部第二室）
林 昌宏（国立感染症研究所ウイルス第一部第二室）
小滝 徹（国立感染症研究所ウイルス第一部第二室）

研究要旨：

アジアデング熱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、ベトナム、韓国の各国 CDC、NIH 等におけるデングウイルス分離、解析についての状況調査を行った。各国間におけるデング熱検査技術や、デングウイルス分離法、遺伝子解析法、性状解析法には相違があることが明らかとなった。アジアデング熱ネットワークの設立に当たっては、各国間において、デング熱検査法の確立、標準化やデングウイルス分離法の確立、遺伝子解析法、性状解析技術の確立、標準化が必要であることが明らかとなった。アジアにおけるデング熱・出血熱流行状況をリアルタイムに共有する仮 Web サイト（Asian ArboNET ウェブサイト）を作製しアジア各国との情報共有にむけて協議を開始した。

A. 研究目的：

デング熱・デング出血熱はデングウイルスの感染によって起こる2つの異なる病態である。デング熱は急性熱性疾患であり予後はよいが、デング出血熱は血漿漏出と出血傾向を主症状とする致死的な病態である。デングウイルスはアジア、中南米、アフリカにおける熱帯・亜熱帯地域のほとんどの国に侵淫している。特に東南アジア、南ア

ジア、中南米の国々において患者の報告が多い。全世界では25億人がデングウイルス感染のリスクがある地域に生活している。年間約5千万から1億人がデングウイルスに感染し、約50万人がデング出血熱を発症すると推定されている。デングウイルス侵淫地域の拡大と、デング出血熱患者の増加が大きな問題といえる。現在、患者数、侵淫地域の広さから、デング熱・デング出血

熱は世界的に最も重要なウイルス感染症の一つといえる。特に東南アジアにおいては最も重要なウイルス感染症といえる。日本にはデングウイルスは侵淫しておらず国内感染はない。しかし、流行国からの帰国者にいわゆる輸入感染症としてのデング熱・デング出血熱患者が存在し、その数は増加傾向にある。また、近い将来、デングウイルスが日本に侵入する可能性も考慮しておく必要がある。本研究では、アジア各国のCDC, NIH 等の研究機関間において、デング熱ネットワークを確立することにより、アジア各国におけるデング熱・デング出血熱の流行状況、ウイルス情報等の共有化により、わが国およびアジア全体におけるデング熱対策の推進に資することを目的とした。

B. 研究方法：

アジアデングウイルス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、ベトナム、台湾、韓国各国のデングウイルス分離、遺伝子解析の現状を各国の代表的研究機関において調査することを依頼した。さらに、各国CDC、NIH間におけるデング熱ネットワークの構築をめざして参加各国がアジアデング熱ネットワークに参加するにあつたての問題点を明らかにするため、各国が現在使用しているデング関連ホームページの内容の相違についても調査した。

(倫理面への配慮)

検体はデング様症状を示した患者の診断を目的として採取された。結果は各担当医師に返され患者の診断に用いられた。

C. 研究結果：

1) 現在参加予定研究機関は以下のとおり

である

- ・ 日本国国立感染症研究所
- ・ タイ NIH
- ・ フィリピン RITM
- ・ 台湾 CDC
- ・ インドネシア大学
- ・ 韓国 NIH
- ・ ベトナムパスツール研究所

2) 上記各国間におけるデング熱検査技術や、デングウイルス分離法、遺伝子解析法、性状解析法には相違があることが明らかとなった。アジアデング熱ネットワークの設立に当たっては、各国間において

- ・ デング熱検査法の確立、標準化
- ・ デングウイルス分離法の確立、遺伝子解析法、性状解析技術の確立、標準化

が必要であることが明らかとなった。タイ NIH およびインドネシア大学には技術協力をを行い、デング熱検査法、デングウイルス分離法、遺伝子解析法においては共通の検査体制が確立された。

3) アジアにおけるデング熱・出血熱流行状況をリアルタイムに共有する仮 Web サイト (Asian ArboNET ウェブサイト 図1) を作製し、アジア各国との情報共有に向けての協議を開始した。

D. 考察：

東南アジアにおけるデング熱流行状況をいち早く共有することは、わが国のみならずアジアにおける流行対策や旅行者に対する情報提供として有用である。そのための情報交換の場として相互に情報を提供する Web サイトを構築し、その使用法の細部について合意へのつめを行っている。特に、どこまでのデータをアクセス可能とし共有

するか（疫学情報、分離ウイルス、遺伝子解析データ）を今後決定していく必要がある。

前年度から参加している台湾 CDC、タイ国 NIH、インドネシア・インドネシア大学、フィリピン RITM に加え本年度はベトナムベトナムパスツール研究所および韓国 CDC が参加し、これら 6 カ国と収集すべき情報等について協議を行っている。また、デングウイルスのデータを収集し、共有するためのウェブサイト案を構築し意見の調整を行っている。次年度においてはさらに参加国を増やし、マレーシア、シンガポール、バングラデシュ、中国等にも参加を呼びかける予定である。一方、デングウイルス分離株解析のための技術とデータ収集の体制は各国によりかなり差があることから、ウイルス分離法、塩基配列決定法等に関する共通プロトコールを作成や技術移転や講習についても今後考慮していく必要がある。

E. 結論：

アジアデング熱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、ベトナム、韓国の各国 CDC、NIH 等におけるデングウイルス分離、解析についての状況調査を行った。さらに、ネットワーク構築に向けての問題点を明らかにした。さらに、アジアにおけるデング熱・出血熱流行状況をリアルタイムに共有する仮 Web サイト (Asian ArboNET ウェブサイト) を作製しアジア各国との情報共有にむけて協議を開始した。

F. 健康危機管理情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tajima, S., Nukui, Y., Ito, M., Takasaki, T., Kurane, I. : Nineteen nucleotides in the variable region of 3' non-translated region are dispensable for replication of dengue type 1 virus in vitro. *Virus Research* 116:38-44, 2006

Sa-ngasang, A., Anantapreecha, S., A-nuegoonpipat, A., Chanama, S., Wibulwattanakij, S., Pattanakul, K., Sawanpanyalert, P. and Kurane, I. : Specific IgM and IgG responses in primary and secondary dengue virus infections determined by enzyme-linked immunosorbent assay. *Epidemiology and Infection* 134 (84): 820-825, 2006.

Itoda, I., Masuda, G., Suganuma, A., Imamura, A., Ajisawa, A., Yamada, K., Yabe, S., Takasaki, T., Kurane, I., Totsuka, K. and Negishi, M. : Clinical features of 62 imported cases of dengue fever in Japan. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 75(3): 470-474, 2006.

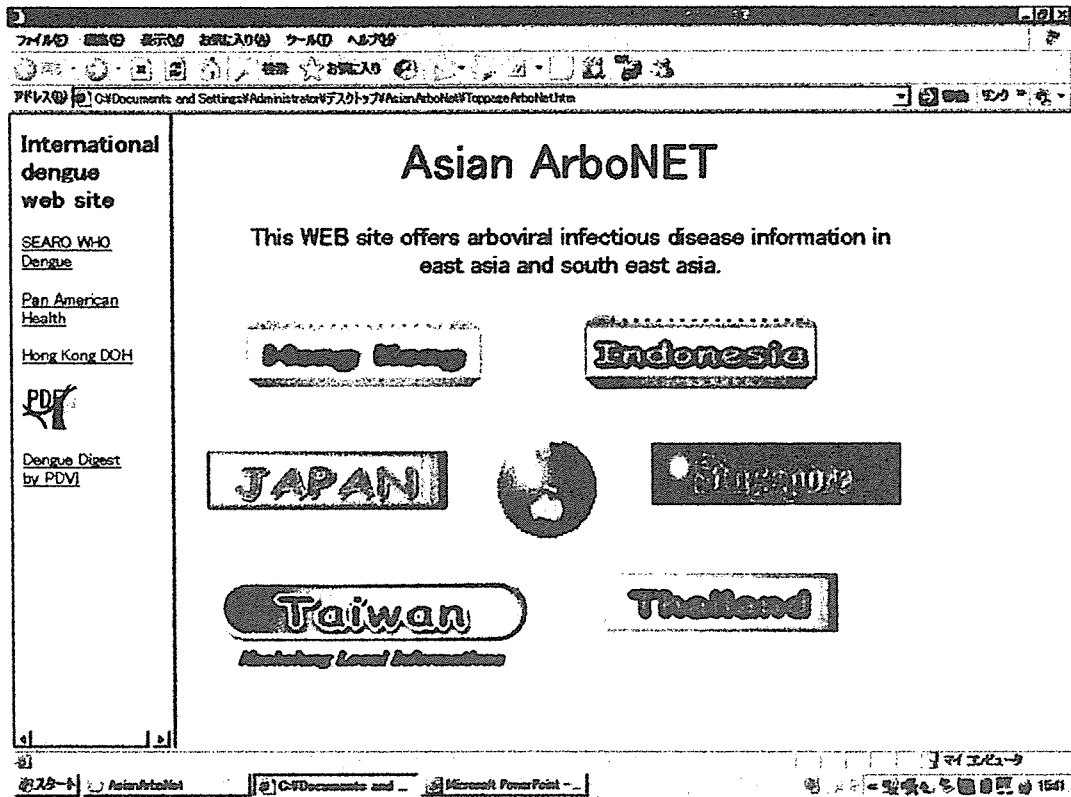
2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1：仮 Asian ArboNET ウェブサイト



厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症事業）

分担研究報告書

2006 年度輸入デングウイルス感染症病原体、血清診断

分担研究者 高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部）

協力研究者 田島茂、小滝 徹、原田文植、林 昌宏、倉根一郎

（国立感染症研究所ウイルス第一部）

研究要旨

デングウイルス感染症は東南アジア・中南米を中心として世界的規模で熱帯・亜熱帯地域に拡がっており、re-emerging infectious disease（再興感染症）の一つとして、極めて重要な感染症になっている。わが国では過去 60 年間国内流行のない感染症であるが、近年、流行地からの入・帰国者などによって輸入感染症としてわが国に持ち込まれる症例がみられる。そこで、これら不明熱疾患についての検査、診断を行い、厚生行政に資することを目的とした。輸入デングウイルス感染症では、我々の開発したリアルタイム RT-PCR（TaqMan 法）によるウイルス遺伝子検出とウイルス分離および IgM-捕捉 ELISA による IgM 抗体の両検出法により、流行地域からの帰国者で初感染のデング熱の確定診断が可能であった。

A. 研究目的

デングウイルス感染症はわが国では過去 60 年間国内感染のない感染症であるが、熱帯・亜熱帯地域では流行域が拡大しており、再興感染症の一つとして、世界的に重要な感染症になっている。感染症新法の施行に伴い、4 類感染症として全数届け出制となり、流行地からの入・帰国者などによって輸入感染症としてわが国に持ち込まれる症例への対策が重要となった。そこで、本感染症に対する検査・診断を国立感染症研究所で行い、厚生行政に資することを目的とした。

B. 研究方法

供試ウイルスはプロトタイプデングウイルス（1 型:Hawaii, 2 型:New Guinea C,

3 型:H87, 4 型:H241）と患者検体からの分離株を蚊由来細胞 C6/36 株で増殖させた培養上清を用いた。リアルタイム RT-PCR は伊藤ら

(J.Clin.Microbiol.42(12):5935-5937,2004)の方法により実施した。分離ウイルスは Vero 細胞によるプラーク法、PCR 産物による遺伝子解析法で確認した。血清での抗体検査には IgM-捕捉 ELISA kit（Focus 社, CA, USA）および IgG-ELISA kit(PanBio 社)により IgM および IgG 抗体を測定し、病原体診断および血清診断により診断を確定した。

C. 研究結果

輸入デング感染症の検査結果

1) 病原体診断

国内医療機関からのデングウイルス感染に関する検査依頼件数は、総数 76 であったが、デング熱であった症例は 30 例で、30 症例のうちウイルス遺伝子が検出できた症例は 20 例であり、このうち 14 例でデングウイルスが分離された（表 1）。分離されたウイルスの内訳は 1 型ウイルスが 7 株、3 型ウイルスが 7 株であった。このうち、ブラジルの分離株は 3 型ウイルスであった（図 1）。また、フィリピンの分離ウイルスも 3 型であった。1 型ウイルスはタイ、マレーシア、ベトナムなど東南アジアで検出された。2 型ウイルスは東チモールからの帰国者で 1 例検出されたが、分離にはいたらなかった。

血清診断のみでデング熱と診断した症例は 10 例であった。10 例中ペアー血清として診断した症例は 8 例でいずれも IgM 抗体、IgG 抗体ともに陽性で抗体上昇を確認した。ペアー血清の揃わなかった 2 症例は、1 例は IgM 抗体、IgG 抗体ともに陽性であり、他の 1 例は IgM 抗体のみが陽性であった。

D. 考 察

近年、わが国の輸入デング感染症は増加傾向にある。現在アジアで流行しているウイルス株は 1 型と 3 型である。この傾向は 2006 年も同様の傾向であった。デングウイルス 2 型による大きな流行が 1998 年に発生して以来、10 年近く経過しており、2 型ウイルスが今後検出された場合、大流行に備えて迅速な情報の交換が必要である。一方、日本への輸入症例に関しても、南米からの帰国者の増加傾向があり、ブラジルを中心に 3 型ウイルスによる流行が

続いているようである。また、血清診断のみで診断した症例が 10 例あったが、そのうち 8 例はペアー血清として診断した。今後も医療機関の協力を得て、シングル血清による診断例を 0 にするようにしたい。

年間約 500 万の日本人が熱帯地域に旅行し、約 200 万の人達が熱帯地域から日本に入国している現状を考え合わせると、帰国時での検疫所での検査およびその後の確定診断等、輸入感染症としてのデング熱、デング出血熱の把握は益々重要であると考えられる。現地でウイルス分離等の詳細な検査が必ずしも実施されているとは限らず、分離したウイルス情報を現地にフィードバックするシステムを確立することは極めて有意義である。

E. 結 語

近年、輸入デング症例は確実に増加傾向にあり、わが国への輸入症例における詳細な検査の実施は、現地への貴重な情報源である。ウイルス分離による検出ウイルスの迅速な情報交換が、大流行の発生に備えるうえで重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ichiro Itoda, Gohta Masuda, Akihiko Suganuma, Akifumi Imamura, Atsushi Ajisawa, Ken-Ichiro Yamada, Sadao Yabe, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Kyoichi Totsuka, Masayoshi Negishi. Clinical feature of 62 imported