

200726003A

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 - 一般 - 019)

平成 19 年度総括・分担研究報告書

(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 19 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 19 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	17
-------------------------------	----

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	〃
	伊豫田 淳	〃

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	27
-------------------------------	----

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

アジアで流行し病原性大腸菌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	〃
	佐藤 人美	〃
	山本 章治	〃

アジア地域における感染症の侵入監視に関する研究	39
-------------------------	----

分担研究者	三戸部 治郎	国立感染症研究所
研究協力者	小泉 信夫	〃
	志牟田 健	〃

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
-------	------	----------

腸チフス・パラチフスの新型薬剤耐性菌の侵入監視	51
分担研究者	森田 昌知 国立感染症研究所
研究協力者	泉谷 秀昌 "
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	58
分担研究者	大澤 朗 神戸大学
協力研究者	大倉 正稔 "
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」	66
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	77
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	83
分担研究者	西淵 光昭 京都大学
協力研究者	清水 理香 "
	山崎 渉 大阪府公衆衛生研究所
Muhammad Kamruzzaman	京都大学大学院 医学研究科
Annual report of PulseNet China	90
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 2008	93
Dr. Kai-Man Kam	
(Public Health Laboratory Centre, Hong Kong)	

Vibrio cholera outbreak in North Vietnam in 2007-Antibiotic resistances and PFGE pattern 106

Dr. Phung Dac CAM
(National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam)

Determination of PFGE genotypes, Resistance Mechanism and Development of PCR serotyping of Salmonella serovars from Ready-to-Eat Foods in Malaysia 112

Dr. Kwai-Lin THONG (University of Malaya, Malaysia)

Comparison of bacterial PFGE patterns between contries 121

Dr. Brent Gilpin
(Institute of Environmental Science & Research Limited, New Zealand)

PFGE standardization and molecular epidemiological study of *Vibrio vulnificus* . . . 127

Dr. Bok Kwon Lee (Korea National Institute of Health, Korea.)

Study of the relatedness of Quinolone resistant Nontyphoidal *Salmonella* isolated from 2002 onwards in Metro Manila 139

Dr. Celia C. Carlos (Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)

Clonal diversity of Shiga toxin-producing *Edcherichia coli* isolated from slaughtered animals in Bangladesh 147

Dr. Alejandro Cravioto (ICDDR.B, Bangladesh)

Phenotypic and genotypic characterization of common enteric pathogens isolated from diarrheal patients: a national study 156

Dr. T. RAMAMURTHY
(National Institute of Cholera and Enteric Diseases, INDIA)

Virulence-associated genes and pulsed-field gel electrophoresis of Enteroaggregative *Escherichia coli* strains in Thailand 181

Dr. Orn-Anong RATCHTRACHENCHAI
(National Institute of Health, Thailand)

Development The Utility of Multilocus Variable-Number Tandem Repeat Analysis as a Molecular Tool for Phylogenetic Study of *Shigella sonnei* 193

Dr. Chien-Shun Chiou (Center for Disease Control, TAIWAN)

研究成果の刊行に関する一覧表（業績）細菌・・・・・・・・・・・・・・・・ 221

学会発表一覧表（業績）細菌・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 226

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・・・・・・・・ 231

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	〃
	田島 茂	〃
	林 昌宏	〃
	大松 勉	〃
	小滝 徹	〃

アジアのデング熱情報閲覧サイトとアジアデング熱ネットワーク構築に関する研究・・ 239

分担研究者	高崎 智彦	国立感染症研究所
協力研究者	倉根 一郎	〃
	田島 茂	〃
	林 昌宏	〃
	小滝 徹	〃

国立感染症研究所における 2007 年輸入デング熱ウイルス感染症の検査・診断状況・・・・ 243

分担研究者	田島 茂	国立感染症研究所
協力研究者	高崎 智彦	〃
	林 昌宏	〃
	小滝 徹	〃
	貫井 陽子	〃
	倉根 一郎	〃

台湾におけるデング熱発生状況現地調査とラボネットワークの確立・・・・・・・・ 246

分担研究者	林 昌宏	国立感染症研究所
協力研究者	倉根 一郎	〃
	高崎 智彦	〃

Virological and serological surveillance of dengue fever/dengue hemorrhagic fever, Japanese encephalitis and chikungunya in Thailand, March, 2007 – February, 2008. 252

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

Characterization of dengue virus prevalence in Taiwan for establishment of the laboratory network for molecular epidemiology of dengue and other mosquito-borne viruses prevalent in Asia 259

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

Sequence analysis of the envelope genes of dengue viruses type 1, 2, and 3 and NS-1 gene of dengue virus type 3 isolated in Jakarta 269

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

研究成果の刊行に関する一覧表（業績）ウイルス 295

学会発表一覧表（業績）ウイルス 298

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

マラリア等原虫疾患 301

分担研究者	遠藤 卓郎	国立感染症研究所
	大前比呂思	〃
	木村 幹男	(財)結核予防会新山手病院
	津田 良夫	国立感染症研究所
	朝日 博子	〃
	中野由美子	〃
	神原 廣二	長崎大学熱帯医学研究所
	田辺 和祐	大阪大学微生物病研究所
	川本 文彦	大分大学総合科学研究支援センター

石川 洋文 岡山大学環境学研究科
 坪井 敬文 愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター

アジアで流行している感染症のわが国への侵入監視に関する研究
 マラリア感染状況の変化と迅速診断キットの役割と限界 316

分担研究者 大前比呂思 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
 海外分担研究者 Beranrd Bakotee Ministry of Health and
 Medical Services (Solomon
 Islands)

我が国における輸入マラリア標本を用いた東南アジアにおける薬剤耐性遺伝子の遺伝的多
 型の解析 321

分担研究者 中野由美子 国立感染症研究所

熱帯熱マラリア原虫の遺伝的多様性 326

分担研究者 田邊 和裕 大阪大学微生物病研究所

マラリア流行の血清疫学指標の開発 331

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

マラリア原虫の薬剤耐性モニタリングに関する研究 337

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 〃

東南アジアにおけるマラリアとG6PD欠損症の疫学的解析 341

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

輸入患者情報の整理 343

分担研究者 木村 幹男 (財)結核予防会新山手病院
 研究協力者 多田 有希 国立感染症研究所
 波川 京子 札幌医科大学保健医療学部

本邦産ハマダラカ類の種類相と発生状況の実地調査 348

分担研究者 津田 良夫 国立感染症研究所
 研究協力者 金 京純 岐阜大学大学院
 沢辺 京子 国立感染症研究所

「マラリア流行の数理解析」に関する研究 353

分担研究者 石川 洋文 岡山大学環境学研究科
研究協力者 笛田 薫 "

「マラリア流行の数理解析」に関する研究
本邦におけるマラリア再興の可能性の検討 - マラリア伝播モデルに基づいて . . . 357

分担研究者 石川 洋文 岡山大学環境学研究科

Study on Forecasting and Warning of Malaria Epidemics in Anhui Province,
China 360

海外分担研究者 Tang Linhua National Institute of Parasitic
Diseases, Chinese Center for
Diseases Control and Prevention
(Shanghai, China)

Strengthening and integrating of Malaria Control Activities in Remote and Endemic
Villages in Kampot Provinces, Southern Cambodia 369

海外分担研究者 Duong Socheat
Chea Nguon National Center for Parasitology,
Entomology and Malaria Control
(CNM)
(Cambodia)

Annual Report for April 2007 – February 2008 376

海外分担研究者 Jeeraphat Sirichaisinthop Minisutry of Public Health(Thailand)

Reduction of The Frequency of Epidemics Through Better Strategies Using The Present
Mararia Information System in Solomon Islands. 380

海外分担研究者 Beranrd Bakotee Ministry of Health and
Medical Services (Solomon
Islands)

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

PCR 法に使用する陽性対照の開発	423
分担研究者 遠藤 卓郎 国立感染症研究所	
" 泉山 信司 "	
Molecular characterization of <i>Isospora belli</i> , Oocysts from Patients in Thailand. . .	430
海外分担研究者 Somchai Jogwutiwes Chulalongkorn University(Thailand)	
" Chaturong Putaporntip "	
Takuro Endo NIID (Japan)	
Shinji Izumiyama NIID (Japan)	
Prevalence of <i>Giardia</i> and <i>Cryptosporidium</i> in Stool Samples of Diarrheic Patients from the Philippines	440
海外分担研究者 Filipinas F. Natividad St. Luke's Medical Center (Pilippines)	
" Corazon C. Buerano "	
" Catherin B. Lago "	
" Cynthia A. Mapua "	
" Blanquita B. de Guzman "	
" Shinji Izumiyama NIID (Japan)	
" Kenji Yagita "	
" Ebonia B. Seraspe University of the Philippines in the	
Visayas	
" Lorena P. Samentar "	
" Ronald R. Matias St. Luke's Medical Center (Pilippines)	
" Takuro Endo NIID (Japan)	
動物由来クリプトスポリジウムの型別	458
分担研究者 中井 裕 東北大学大学院農学研究科	
研究成果の刊行に関する一覧表 (業績) 原虫 (I.マラリア、II.腸管原虫類 とともに)	461
学会発表一覧表 (業績) 原虫	466
研究成果の刊行	472

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

主任研究者：渡辺治雄（国感染症研究所）

Asia-Pacific のCDC様の国立の感染症研究機関との連携により、アジアで発生している感染症のコントロールのための研究協力体制の確立を行うことを目的として以下の活動を行った；細菌関係においては、昨年につき、ピブリオの検査体制（PFGEを用いた genotyping）の標準化及びそのデータ集積の促進のため、「Pulse-Net Asia-Pan・Pacific」の国際会議をインドで行った。今年度、新たにインドネシアが加わり、アジア地域の14カ国（米国も含める）間のネットワークができたことになる。また、香港で技術研修会を開催し、PFGEの標準化にむけて取り組んだ。ウイルス関係においては、世界におけるデングウイルス1-4型すべてに関する系統樹を作成した。これらのデータを基にアジアの国々と収集すべき情報、塩基配列決定の方法の画一化等について検討した。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た。マラリアに関しては、感染研で3回目の国際会議を開催し、アジアにおけるマラリアの疫学、研究の情報の交換を行った。熱帯熱・三日熱マラリアの迅速診断法（LAMP法）の開発、クロロキン耐性マラリアの分布と耐性遺伝子のデータベース化を開始した。アジア各国との連携が進行しつつある。

分担研究者		大澤 朗	神戸大学 農学部
寺嶋 淳	国立感染症研究所 細菌第一部	林 哲也	宮崎大学フロンティア 科学実験総合センター
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)	
森田昌知	国立感染症研究所 細菌第一部	Dr. Orn-Anong RATCHRACHENCHAI. (National Institute of Health,	

Thailand)

Dr. Kwai-Lin THONG. (University of Malaya, Malaysia)

Dr. T. RAMAMURTHY (National Institute of Cholera and Enteric Diseases, INDIA)

Dr. Celia C. Carlos. (Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)

Dr. Bok Kwon Lee. (Korea National Institute of Health, Korea.)

Dr. Brent Gilpin. (Institute of Environmental Science & Research Limited, New Zealand)

Dr. Phung Dac CAM. (National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam)

Dr. Chien-Shun Chiou. (Center for Disease Control, TAIWAN)

Dr. Kai-Man Kam. (Public Health Laboratory Centre, Hong Kong)

Dr. G. Balakrish NAIR. (ICDDR. B, Bangladesh)

Dr. Diane Lightfoot. (University of Melbourne, Australia)

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 2

分担研究者

倉根一郎 国立感染症研究所
ウイルス第一部

高崎智彦 国立感染症研究所
ウイルス第一部

伊藤美佳子 国立感染症研究所
ウイルス第一部

田島 茂 国立感染症研究所
ウイルス第一部

林 昌弘 国立感染症研究所
ウイルス第一部

協力研究員

Dr. Lyle R. PETERSEN. (Centers for Disease Control and Prevention, U. S. A)

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

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

Dr. Emily s. Bomasang. (Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)

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

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

澤田良夫 国立感染症研究所
寄生動物部

木村幹男 国立感染症研究所
寄生動物部

古屋宏二 国立感染症研究所
寄生動物部

中野由美子 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
田辺和桁 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：

SARS、高病原性鳥インフルエンザなど新興・再興感染症のかなりのものが、アジアを起源として発生し、世界に拡散していつている。わが国にも、それ

らの感染症が旅行者、輸入産物、動物、鳥類等を介して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。その病原体遺伝情報に基づき、病原体の出現、伝播の関連性を科学的に解析できる。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。今この時期にこそ、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および病原体遺伝情報のデータベース化に向けて尽力する時であり、この研究班の目的である。目的、期待される成果を下記にまとめた。

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ウィルス、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) 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する。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；

1) 2008年2月27～28日において、アジア・パシフィック諸国（中国、香港、台湾、韓国、ベトナム、フィリピン、マレーシア、インドネシア、タイ、バングラデシュ、インド、オーストラリア、ニュージーランド、米国、日本）のCDC様機能を持つ国立の研究機関の細菌部門の研究者約30人がインドの国立下痢症研究所（NICED: National

Institute of Cholera and Enteric Disease)

に集まり、各国の下痢性疾患の疫学現状、分子疫学的解析法、及び情報ネットワークの構築に関しての討議を行った（agendaを資料1に示した）。また、当該研究班から各機関に委託金（200万円）を渡しているが、その研究成果の報告が行われた。各国からの英文の研究報告書も当年の報告書に添付してある。各国とも遺伝学的解析手段としてのPFGEを用いて、各国で分離された赤痢菌、コレラ菌、腸炎ビブリオ、サルモネラ等の解析結果を報告してきている。毎年、香港で行われるPFGEの講習会により、各国の分析技術の向上が図られてきている。データベースの構築に向けて、ニュージーランドが中心になりweb site (PulseNet Asia)の開始を行った。このサイトに、各国の下痢性疾患の疫学情報、流行している菌のPFGE像を載せて、情報の交換の場とした。今後、当サイトの発展を図っていく予定である。

2) 国内の研究者は、今後使用可能な分子疫学的手法の開発を行った。以下にその報告をまとめる。

3) 世界的な大流行を起こしている腸炎ビブリオ新型クローン：新型クローンを特異的にかつ簡便に同定するのに最も適したPCR法を明らかにするための研究を実施した。新型クローンの同定にはGS-PCR (group-specific PCR、*toxRS* 遺伝子の特異的塩基置換を標的)陽性かつ *tdh* 遺伝子陽性を指標と

する同定法が最も適しており、次いで、新型クローンに特異的とされる 23 kb の挿入配列および 16 kb の挿入配列を標的とする PCR 法もかなり有望であるという結論が得られた。1995 年から 2007 年までに 24 カ国（検疫所での推定感染国を含む）で患者から分離された 579 菌株を対象に上記方法の評価を行った。その結果、GS-PCR 陽性を検出（必ずしも必要ではないが、あわせて *tdh* 遺伝子陽性も検査するのが理想的）する方法が最も適していると判定された。

4) EHEC: IS629 の多様性を利用した O157 EHEC の迅速菌株識別システムの改良を行い、キットとして完成させることができた。また、O26・O111・O103 EHEC の全ゲノム配列決定および遺伝子のアノテーション等が終了し、各株が多数のプロフェージ、IS、菌株得配列を有することが明らかとなった。これらの遺伝子や遺伝因子は、O26・O111・O103 EHEC 対策のための疫学マーカー等の有力候補となる。

5) EHEC: 2006 年に分離された腸管出血性大腸菌 (EHEC) のうち、集団発生由来株或いは広域で分離された EHEC O157 について、Multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) 法による解析を行った。PFGE パターンが異なるものの、MLVA では一致する株もあることから、株によっては MLVA よりも PFGE の方が識別能の高い場合もあることが示唆された。

6) EHEC: ヒトから単離される腸管出

血性大腸菌 (EHEC) の大部分は LEE と呼ばれる病原性遺伝子群を保有し、これらの機能発現によって腸管上皮細胞へ強固に接着する。一方、LEE 非保有型 EHEC による感染事例も多数報告されている。LEE 非保有型 EHEC で新規接着因子 EibG を見出した。ヒト由来免疫グロブリン (IgG) 結合活性を LEE 非保有型 EHEC (166 株) で解析したところ、約 45% の菌株がヒト由来 IgG に結合することが判明した。これらの STEC から IgG 結合蛋白質をコードする遺伝子を単離したところ、新規の *eib* 遺伝子であることが明らかとなった。

7) コレラ菌: コレラ菌のスーパーインテグロン (SI) の多様性に着目し、PCR ベースで行える簡便で迅速な分子疫学的解析法の開発を試みた。O1 古典型コレラ菌および O1 エルトール型コレラ菌のビブリオリコレラピート (VCR) の相同性の高い領域とインテグラゼをコードした遺伝子領域から PCR-RFLP 用のプライマーを設計し、PCR-RFLP を行った。その結果、O1 エルトール型 94 株、O1 古典型 28 株、O139 コレラ菌 54 株及び NAG ビブリオ 50 株をそれぞれ 9、3、6 及び 7 タイプに型別できた。

8) 腸チフス菌: チフス菌・パラチフス A 菌における耐性菌の侵入を検出するため、日本国内で分離された全ての分離株の各種薬剤に対する感受性試験を行った。その結果、腸チフス・パラチフスの治療上の問題となっているニューキノロン低感受性菌の割合

はチフス菌で 42.9%、パラチフス A 菌で 72.2%であった。さらにチフス菌においては、ニューキノロン剤に耐性を示す菌が 1 株分離され、この株は昨年分離された 2 株のニューキノロン耐性チフス菌と遺伝的に近縁であることが示唆された。

ウイルス関係：

1) アジア間のネットワークの構築：
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の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。そのため、アジアデング熱ネットワークの設立に当たって、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、標準化を行った。その結果、タイ NIH およびインドネシア大学には技術協力を行い、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。

2) アジア間での Web サイト構築：
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向けて協力関係を築いた。

3) わが国で分離されたデングウイルス株の解析：
わが国でこれまで分離されたデングウイルス 1-4 型計 33 株の E 遺伝子の

全塩基配列を決定し、世界のものと比較した。デングウイルス 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、アジアにおけるデング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った。

4) 国内医療機関からの依頼検査成績：

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への対応を行った。感染推定国の分布域は東南アジア、南太平洋、南アジア、南米と多岐に渡った。東南アジアではフィリピンからの帰国者が最も多く続いてタイ、マレーシア、インドネシア、東チモール、カンボジア等での感染が認められた。南太平洋ではサモアからの帰国者に感染が認められた。南アジアではインド、バングラディッシュ、モルジブからの帰国者に感染が認められ、南米ではブラジルからのデング熱の輸入症例が認められた。また中国、ベトナム等の複数の国を訪問した患者も認められた。

原虫関係：

1) 国際会議の開催：

未だ国内には、マラリア原虫を媒介するハマダラカの生息が多数認められており、今後、日本でマラリアが再興感染症として問題となる可能性は否定できない。実際、再興感染症としての三日熱マラリアは、日本と気候・

環境条件が比較的類似している中国や朝鮮半島といった温帯アジアで、現在大きな問題となっている。2007年1月29-30日に、三日熱マラリアに関する国際会議を感染研で開催した (agenda を資料2に示した)。韓国, 中国, カンボジア, フィリピン, タイ, インドネシア, ソロモン諸島の参加者から、各々の国や地域における三日熱マラリア感染状況、その対策について報告があった。

2) 日本国内状況: 1961年以降、蚊を介したマラリア感染例は、例外を除いて報告がなく、問題の中心は、輸入マラリアに移っている。しかし、未だ国内には、マラリア原虫を媒介するハマダラカの生息が認められ、今後、日本でマラリアが再興感染症として問題となる可能性はある。

3) 新潟県におけるシナハマダラカの調査: 三日熱マラリアが大きな問題となった韓国北部に比べて、その生息密度が低くなった。一方、八重山諸島におけるコガタハマダラカの生息密度は、大きな変化がなく、数理モデルによる解析でも、熱帯熱マラリア原虫の再侵入と定着により、小規模な流行をおこす可能性を完全には否定できないことがわかった。

4) 輸入事例解析: 海外からの1998-2002年の輸入例の解析では、日本人のマラリアの感染リスクは、東南アジア地域での感染に比べて、アフリカと南太平洋地域での感染が高かった。南太平洋地域で感染機会が多かったのは、東南アジアと同じ三日熱マラリア

で、最近の世界的なマラリア流行状況の変化を反映していると思われた。

5) マラリアの診断: 現在、わが国の検疫所では、マラリアを疑った例の補助診断に迅速診断キットも使用しているが、原虫密度の低い三日熱マラリアの場合、Sensitivity が低くなり、キットによる差も大きいことがわかった。また、国内2次感染の予防には、マラリア原虫感染蚊の検出も求められているが、QIAamp 法と Real-time PCR 法を併用すると、高率に蚊内の三日熱マラリア原虫が検出できた。

6) 熱帯熱マラリアの分子疫学的研究: 主に *msh-1* 遺伝子とピリメサミン耐性遺伝子をアジア・アフリカの大陸部と西太平洋島嶼部で比較しながら進めた。島嶼部ではマラリア原虫の進化速度も遅く、株特異的な免疫が誘導されやすく、重症例・死亡例が少ない一因となっている可能性が高い。また、薬剤耐性株の拡散は、その地域での薬剤使用状況や薬剤行政とも関連しており、クロロキン耐性遺伝子と異なり、ピリメサミン耐性については、大陸諸国でも野生株が1998年まで認められた。

7) マラリアの薬剤耐性に関する研究: クロロキン耐性関連遺伝子 (*pfprt* 遺伝子) については、アジア・太平洋地域における出現・拡散状況を検討した。クロロキン感受性型 (野生型) を示したサンプルは、1985年のフィリピンからの輸入例1例のみであり、残りの28例は全てクロロキン耐性型 (変異型) を示した

4. 考察

アジア地域を起源とする新興・再興感染症の数は多い。最近の事例はSARSでありH5N1鳥型インフルエンザである。一国で発生した感染症は、現代の交通機関においては数日のうちに世界に拡大する。新興する感染症を迅速に検知し、迅速なる対応をとる体制の構築がWHOをはじめとする多くの機関で施行されてきている。一つの機関ですべてをカバーできるものではないので、多くのネットワークの構築で多方面からのアンテナが必要である。それにより異常なる感染症の発生を確実に把握できうる。本研究の目的は、アジア地域の病原体の遺伝情報のネットワークを構築し、科学的データに基づく感染症迅速把握体制を構築することにある。そのためには、アジア地区の感染症のレファレンスラボとして機能しているCDC様の研究機関との連携強化が感染症対策にも結び付けられるという点からも最優先である。

科学的データとしては、病原体の遺伝的情報の集積が重要である。各国、あるいは各地域で分離される病原体の遺伝子情報（遺伝子の塩基配列、あるいはゲノム全体の形質情報）を解析し、そのデータベースを作成する。国を越えて発生する病原体の伝播の解析に、そのデータベースを利用し、病原体の伝播経路の迅速把握、およびその制御に活用する。

アジアで問題となっているコレラ

等の腸管感染症、デング熱、マラリアを主な感染症のネットワークの題材として取り上げ、アジア地区の研究機関とのネットワークを構築してきた。その中で腸管感染症において、Pulse-Net Asiaの構築が先行している。今年度は、Asia-Pacificの14カ国の研究機関がインドのNICEDに集まり、各国の疫学状況、およびPFGEを用いての解析状況が報告された。この3年目ということもあり、各国の研究内容も充実してきており、研究能力の向上が確実に見られてきていた。技術及び研究内容の質の向上こそ、それによって得られる結果および情報の信頼性が増し、対策にも生かせる。また、香港での技術講習会を重ねていることもあり、PFGE技術の標準化も順調に行われてきた。それによりアジア各国で細菌のゲノムの比較解析が可能になってきている。

この試みは細菌だけ出なくウィルスにおいても然りである。アジア地域で頻発しているデングウィルス感染症に対応するネットワーク作り（アルボネット）が確実に進達した。E遺伝子の塩基配列を基にしたウィルスのデータベースの構築を行い、発生している地域による多様性が明らかになってきた。今後さらに株数と地域を広めることにより、さらに利用価値のある情報ネットとなりえるであろう。

マラリアにおいても、アジア・太平洋諸国での流行の中心が熱帯熱マラリアから三日熱マラリアへとシフトしている状況が明らかになった。その

ような状況を踏まえ今年度行われた三日熱マalaria国際会議では、越冬した感染蚊によって三日熱マalariaの流行がおきるアジアの温帯地方においては、媒介蚊の生息密度などを定期的にモニタリングしていくことが、再流行の潜在的可能性を検討し、早期に警戒を促すために重要であるという認識を共有することができた。わが国においても、重点地域を選んでマalaria媒介蚊の種や密度を定期的にモニタリングしていくシステムが進んできている。

5. 結論

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。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の構築が進んできている。この研究班において成果を挙げてきている。

(資料1)

International meeting

1) Bacterial enteric diseases:

Agenda for the PulseNet Asia-Pacific Meeting Kolkata, India (February 25-27, 2008)

Day 1: February 25, 2008

9: 15 – 9: 30	Arrival and Registration
9: 30 – 10:20	Welcome Address: Bala Swaminathan
9:30 - 9:35	G Balakrish Nair, NICED
9:35- 9:40	Haruo Watanabe, NIID
9:40- 9:45	Peter Gerner-Smidt, CDC
9:45- 9:50	Kai Man Kam, PHL
9:50- 9:55	Jianguo Xu, CDC, China
9:55 - 10:05	Introduction of Meeting Participants
10:05 - 10:10	Meeting Coordination Address T. Ramamurthy, NICED
10:10 – 11:10	Group Photo and TEA BREAK

11:10 – 13:10 Project Presentation by Asia-Pacific Countries (Session -1)
(approx. 20 mins. each)

Chair: H. Watanabe, Co-Chair: O-A. Ratchtrachenchai

1. Dr. Seong-Han Kim and Mi-Sun Park, NIH, Korea: (1) The Characteristics of clinical and environmental *Vibrio vulnificus* and *V. parahaemolyticus* isolated in Korea (2) The present status of salmonellosis in Korea
2. C. S. Chiou, CDC, Taiwan: Development of multilocus variable-number tandem repeats analysis (MLVA) method for molecular subtyping of *Shigella* spp.
3. Kwai- Lin Thong, IBS, Malaysia: Application of Pulsed Field Gel Electrophoresis in genomic characterization of *S. Typhi* from recent typhoid fever outbreaks and *Salmonellae* from Street Foods in Malaysia
4. K. M. Kam, Cindy K. Y. Luey, PHL, Hong Kong: Progress in Interlaboratory Comparison of PFGE in PulseNet Asia Pacific
5. Sunao Iyoda and Hidemasa Izumiya, NIID, Japan (1) Serotype and virulence traits of EHEC isolated in Japan (2) Application of MLVA to EHEC isolates of Japan
6. Phung Dac Cam and Luong Minh Hoa, Vietnam: Cholera outbreak in North Vietnam in 2007

13:10 – 14:00 LUNCH

14:00 – 15:40 Project Presentation by Asia-Pacific Countries (Session -2)

Chair: Peter Gerner-Smidt, Co-Chair: Hubert Ph. Endtz

1. Kan Biao and Xu Jianguo, CDC, China: Update on the Current status of PulseNet China
2. O-A. Ratchtrachenchai and Srirat Pornruangwong Thailand: (1) Virulence-Associated Genes of Enteroaggregative *Escherichia coli* Strains in Thailand (2) Epidemiological Relationship of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and *Salmonella enterica* Serovar 4,[5],12:i:- Isolates from Humans and Swine in Thailand
3. Celia Carlos, ARSRL, Philippines:
4. K. A. Talukder and M. Alam, ICDDR, Bangladesh: (1) New variants of *Shigella* species in Bangladesh and their molecular characterization (2) Phenotypic and Molecular

Traits of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* Strains Isolated in Bangladesh

5. G. B. Nair and T. Ramamurthy, NICED, India: Molecular Characterization of Cholera and Non-cholera Vibrios

15:40 – 16:00

TEA BREAK

16:00 – 17:00

Special Talks (Session – 3)

Chair: A. Cravioto, Co-Chair: B. J. Gilpin

1. Brent Gilpin, ESR, New Zealand: *Oregon State approach to outbreak investigations*
2. Lai-King Ng, NML, Canada: *Do food safety policies and regulation departments need PulseNet data?*
3. Moe Ko Oo: *Introduction to Mekong Basin Disease Surveillance (MBDS) network project*
4. Nasrum Massi: *Overview of Enteric Infections and its investigations in Indonesia*

19:30:

DINNER PARTY AT PEERLESS INN

Day 2: February 26, 2008

9:15 – 9:30

Summary of Day 1

Rapporteur: Sharon

Rolando Shea

9:30 – 10:10

Project Presentation by Asia-Pacific Countries (Session -4)

Chair: Diane Lightfoot, Co-Chair: J. Terajima

1. Diane Lightfoot, Univ. of Melbourne, Australia: PFGE links an unusual *Shigella* reported in Australia, Bangladesh and the United Kingdom
2. B. J. Gilpin, ESR, New Zealand: Regional databases for PulseNet Asia Pacific

10:10 – 11:15 Special Talks (Session – 5)

Chair: Lai-King Ng, Co-Chair: Nasrum Massi

1. Peter Gerner-Smidt, CDC, USA:
2. Louise S. Gresham, CPHS, USA: ICLS/MECIDS Activities
3. E. S. Ahmed CDC, USA: PulseNet International:2007/08 Overview