

200931030A

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

# 地球温暖化に伴い変化する感染症に 対する早期防御法確立に関する研究

(H20-新興-一般-015)

平成21年度 総括・分担研究報告書

平成22 (2010) 年 3 月

研究代表者 倉 根 一 郎  
(国立感染症研究所)

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

# 地球温暖化に伴い変化する感染症に 対する早期防御法確立に関する研究

(H20-新興-一般-015)

平成21年度 総括・分担研究報告書

平成22 (2010) 年 3 月

研究代表者 倉 根 一 郎

(国立感染症研究所)

# 目 次

## I. 総括研究報告

地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究・・・・・・・・・・ 1

研究代表者：倉根一郎（国立感染症研究所・ウイルス第一部）

## II. 分担研究報告

食水系細菌感染症と環境モニタリングに関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15

研究分担者：泉谷秀昌（国立感染症研究所・細菌第一部）

地球温暖化と寄生虫感染症・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21

研究分担者：大前比呂思（国立感染症研究所・寄生動物部）

環境の変化による病原真菌の動態と深在性真菌症との発病に関する解析・・・・・・・・ 28

研究分担者：宮崎義継（国立感染症研究所・生物活性物質部）

熱帯アジアにおける感染症と地球温暖化・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 33

研究分担者：我妻ゆき子（筑波大学大学院人間総合科学研究科）

デング熱診断サーベイランスのための NS1 抗原検出キットの評価および空港検疫所に  
おけるチクングニア熱・デング熱サーベイランス・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 35

研究分担者：高崎智彦（国立感染症研究所・ウイルス第一部）

フラビウイルスによる脳炎発症の局所および全身における免疫応答の解析・・・41

研究分担者：鈴木隆二（国立病院機構相模病院・臨床研究センター）

中空ウイルス粒子を用いたフラビウイルス鑑別診断法の開発・・・44

研究分担者：前田秋彦（北海道大学大学院獣医学研究科）

ウイルス様粒子中和試験を用いたウエストナイルウイルス感染診断・・・48

研究分担者：前田秋彦（北海道大学大学院獣医学研究科）

各種蚊における日本脳炎ウイルス増殖能の評価・・・51

研究分担者：小林睦生（国立感染症研究所・昆虫医科学部）

イエカ類の休眠生理から解析した日本脳炎ウイルスの蚊体内での越冬の可能性・・・55

研究分担者：小林睦生（国立感染症研究所・昆虫医科学部）

ウエストナイルウイルス媒介チカイエカの環境変化に伴う発消長と個体数の指標としての個眼数の検討・・・60

研究分担者：江下優樹（大分大学医学部感染予防医学講座）

富山県のイノシシと寄生マダニ類におけるリケッチア保有調査・・・68

研究分担者：滝澤剛則（富山県衛生研究所）

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷・・・75

# I. 総括研究報告書

総括研究報告書

地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究

研究代表者：倉根一郎（国立感染症研究所ウイルス第一部 部長）

研究要旨：地球温暖化は感染症にも大きな影響を及ぼすと考えられている。世界的には、特に蚊媒介性感染症や水系感染症への影響が大きく、発生地域の拡大や、流行規模・患者数増加がおけると予想されている。しかし、地球温暖化の影響は各国の社会基盤や対応策等によって大きく変わる。本研究においては、地球温暖化が感染症に及ぼす影響を早期に検出し、わが国における地球温暖化に伴う感染症の被害を防止するための基盤技術を確立することを目的とした。本年度は、地球温暖化が、ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌感染症に及ぼす影響をモニタリングするための技術基盤を確立することを中心に研究を進めた。研究により、細菌、ウイルス、寄生虫・原虫、真菌感染症に関して、温暖化影響評価の技術確立が進展した。さらに、アジアにおける影響評価手法の確立を目指し、バングラデシュにおける下痢症発生と降雨量との関連について研究をすすめ、その関連性を明らかとした。

研究分担者：

泉谷 秀昌（国立感染症研究所・細菌第一部 室長）

江下 優樹（大分大学医学部感染予防医学講座 准教授）

大前 比呂思（国立感染症研究所・寄生動物部 室長）

小林 睦生（国立感染症研究所・昆虫医科学部 部長）

鈴木 隆二（国立病院機構相模原病院・臨床研究センター 室長）

高崎 智彦（国立感染症研究所・ウイルス第一部 室長）

滝澤 剛則（富山県衛生研究所・ウイルス部 部長）

前田 秋彦（北海道大学大学院・獣医科学研究科 准教授）

宮崎 義継（国立感染症研究所・生活活性物質部 部長）

我妻ゆき子（筑波大学大学院・人間総合科学研究科 教授）

A. 研究目的

気候変動に関する政府間パネル（IPCC）の第4次報告書においても、地球はすでに温暖化しており、また、温暖化の傾向が今

後も進行することはほぼ明らかな事実として記載されている。近年、地球温暖化の健康への影響についても大いに危惧されているが、感染症への影響においてはいまだ明らかにされていない。影響は発展途上国において大きいと考えられているが、わが国もその影響から免れることはできない。

本研究においては、地球温暖化が感染症に及ぼす影響を早期に検出し、わが国における地球温暖化に伴う感染症の被害を防止するためのモニタリングのための基盤技術の確立とわが国のみならずアジアを含めたネットワークシステムの構築を確立することを目的とした。本年度は、

- 1) 地球温暖化を伴う気候変動が、ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌感染症に及ぼす影響をモニタリングするための技術基盤を整備する、
- 2) 地球温暖化が各種感染症に及ぼす影響をわが国及びアジア各国において予測するためのシステムを構築し、影響予測を行う基盤を整備する、ことを目的とした。

## B. 研究方法

これまで、地球温暖化が感染症におよぼす影響については海外において断片的な報告がなされているのみである。一方、わが国においては気候変動と感染症に関する研究はほとんどなされていない。また、多くの解析は必ずしも病原体の活動を反映する最適の指標を用いていない。本研究においては、ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌を含め全種類の病原体についての解析を進めた。

研究は研究代表者(倉根)、研究分担者(高崎、泉谷、大前、宮崎、小林、江下、鈴木、前田、我妻、滝澤)の11人によって行われた。なお地球温暖化に関する詳細な気象デ

ータについては国立環境研究所より供給された。研究は1) 各種病原体及ぼす地球温暖化影響をモニタリングするための技術基盤の確立、2) 確立技術が、わが国及びアジア各国において導入可能となるためのネットワークの確立、を中心に行った。具体的には、以下の具体的方法で研究を遂行した。

1. 各種病原体に及ぼす温暖化影響をモニタリングするための技術基盤の確立：

- 1) 各種病原体のモニタリング技術基盤：

- ① 節足動物媒介性ウイルス感染症モニタリングのための技術基盤の確立、
- ② 細菌感染症モニタリングのための技術基盤の確立、
- ③ 寄生虫・原虫感染症モニタリングのための技術基盤の確立、
- ④ 真菌感染症モニタリングのための技術基盤の確立、

- 2) ヒトにおける感染検出新技術の確立：

- ① 新たなウイルス学的感染検出法の確立、
- ② 新たな免疫学的感染検出法の確立、
- 3) 媒介ベクターと地球温暖化：

- ① 媒介蚊におけるウイルス増殖と
- ② 蚊の体内におけるウイルス増殖に及ぼす外気温の影響、

2. 国内およびアジア各国における感染症温暖化影響ネットワークの確立：

- 1) アジアにおける感染症と気候変動：

- ① バングラデシュにおける下痢症と気候変動

(倫理面への配慮)

ヒト検体を用いる場合には、疫学研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫理指針を遵守し、各研究機関における倫理委員会において承認を得た上で研究を遂行した。研究対象者に対して、研究の目的、個人の不利益、危険性に対して十分に説明し、

倫理委員会により承認されたインフォームドコンセントにサインあるいは捺印を得た上で遂行した。動物を用いる実験の倫理面においては、各研究機関の動物実験委員会において審査し承認を得た上で行なった。

### C. 研究結果

1) 各種病原体のモニタリング技術基盤開発：

(1) 細菌感染症モニタリングのための技術基盤の確立：

地球温暖化によって影響を受ける気候変動の一つに海水温の上昇がある。海水温の上昇はそこに生息する生物の活発性、活動時期を変え、ひいては優勢生物種の変化、生態系の変化をもたらす。地球温暖化と細菌感染症の関係において、水との関連が深い食水系感染症を引き起こす細菌、特にビブリオ属菌（主に *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*；以下それぞれ Vc、Vp、Vv）に着目し環境モニタリングを行うための基礎技術の開発を行った。Vv、Vp は水温が約 20℃を超えると急激に菌数が増加し始める傾向にあり、逆に 20℃を下回る日が続くと菌数は減少した。Vv は Vp より高い温度、低い塩分濃度の範囲で分離される傾向にあった。Vv 感染症は夏場に集中しており、温暖化により水温が 25℃を超える日が増えると菌数が高い状態が長く続き感染症のリスクは増加すると思われた。Vp による食中毒も同様にリスクの高い期間が温暖化により増加する可能性が考えられた。

(2) ウイルス感染症モニタリングのための技術基盤の確立：

前年度ウエストナイルウイルス (WNV) と日本脳炎ウイルス (JEV) の感染鑑別法であ

る VLP 中和試験法を確立した。本年度は日本の屋外で飼育されているウマやカモ、あるいは日本に生息するハシブトカラスに WNV を感染した場合に、本法を用いて WNV 感染が診断できるか否かについて検討した。WNV 感染ウマ血清中に WNV 特異的な VLP 中和抗体は検出されたが、JEV に対する交差反応性の中和抗体は検出されなかった。従って、ウマでは本法により WNV 感染を効果的に検査することが可能であった。一方、カモやハシブトカラスでは、WNV に特異的な VLP 中和抗体価は JEV に対する交差反応性の中和抗体価に比べ高いものの、JEV に対する交差反応性の中和抗体を多く産生する個体が認められた。したがって、日本に生息する鳥類における WNV 感染を診断するためには他の方法も用いて JEV 感染との鑑別を行う必要がある。

(3) 寄生虫・原虫感染症モニタリングのための技術基盤の確立：

寄生虫症に対する気候・環境変化の影響は、媒介動物によってヒトに感染する寄生虫でより顕著に現れる。魚類の生食を好むわが国の食習慣を考えると、海産魚類によって媒介される寄生虫と気候変動に関する問題は重要である。海産魚の生食に起因する寄生虫症の中で、最も国内での報告が多いアニサキス症については、昨年度に続いて、暖海性のタチウオとキンメダイを対象に、アニサキス属 (*Anisakis* I, II 型) 幼虫の検出と分子同定を試みた。九州で水揚げされたサバとタチウオでは、*A. pegreffii* が中心で、魚種による違いはみられなかった。台湾で水揚げされたタチウオによる調査では、寄生種は *A. typica* が中心で、タチウオやサバに寄生するアニサキス属幼虫の種が、温暖化や海水温・潮流の変化と、



関係している可能性が示唆された。また、静岡で水揚げされたキンメダイでは、*Anisakis* II型幼虫が多く検出され、他の魚種とは全く異なった結果となった。

さらに本年度は、複殖門条虫症についても調査を行った。複殖門条虫症患者の魚摂取歴やミンククジラの食性などから、感染源としてはイワシ類が推定されるが、複殖門条虫の同定法が確立していないために魚種の特定には至っていない。そこで、中間宿主と推定されている魚類から未知の幼虫が発見された場合、DNA解析に基づいて同定することができるように、ヒトやミンククジラから得られた複殖門条虫の成虫のDNA解析に基づく複殖門条虫と近縁種との鑑別法を確立した。

#### (4) 真菌感染症モニタリングのための技術基盤の確立：

ヒストプラズマ症はヒストプラズマ属による深在性真菌症の一つであり、おもに温暖な地域を流行地とする感染症であり、わが国では輸入真菌症として取り扱われている。一方、わが国でヒストプラズマ症と診断された患者で流行地への渡航歴が明確でない例の報告もあり、わが国に土着するヒストプラズマ属の存在が疑われている。ヒストプラズマ属のわが国での生息実態、疫学的調査について検討を行った。土壌から生菌は分離されなかったが、ヒストプラズマ属特異的PCR法にて *H. capsulatum* と高い相同性を有する増幅産物が得られ、わが国でのヒストプラズマ属の存在が示唆された。今後その証明に向けた更なる検討が必要である。

#### 2) アジアにおける感染症と気候変動

##### (1) 空港検疫所におけるチクングニヤ熱

##### サーベイランス：

2005年以來世界的に流行を拡大しているチクングニヤ熱は、我が国では法律に規定されていない感染症である。そこで、厚生労働省成田空港検疫所および関西空港検疫所と共同研究としてチクングニヤ熱に関してサーベイランスを実施した。その結果、2009年9月にインドネシアから帰国のチクングニヤ熱患者を確認し、ウイルスも分離した。分離されたウイルスは現在大きな流行を起こしているアフリカ型ではなくアジア型であることが遺伝子解析によって明らかになった。また各空港検疫所で確認された Dengue 熱患者の血清からウイルスを計7株分離した。

##### (2) 地球温暖とバングラデシュにおける下痢症：

バングラデシュにある国際下痢症研究センターと共同研究により、異常気象現象、特に降雨や温度の変動に関して下痢症発生の時系列分析を行った。また気候変動にもなう栄養不全と疾病発生についても解析を開始した。下痢症患者の発生数の20年間値からの変異には2つのピークがあり、プレモンスーンでは気温変動が、モンスーンでは異常降雨が影響していることが観察された。コレラに関する分析では、多雨と少雨の両方で閾値をもって発生が増加した。小児の栄養状態が気象因子と関連していることが示唆された。

##### 3) 新たな感染検出新技術の確立

##### (1) デングウイルス NS1 抗原検出キットの評価：

デングウイルスは急性熱性疾患であるデング熱を引き起こすウイルスであり、蚊によってヒトからヒトへ感染が拡大する。新

たな Dengue 熱に対する実験室診断法としてオーストラリア製の NS1 抗原検出 ELISA (Dengue Early ELISA<sup>®</sup>) の評価を行った。Dengue 熱患者 113 名の検体中 70 名 (62%) で、血中より NS1 抗原が検出された。一部の患者では Dengue ウイルス遺伝子および Dengue ウイルス特異的 IgM 抗体が共に検出されない時期の血中より NS1 抗原が検出されたものもあった。しかし、Dengue ウイルス 4 型感染患者においては本 NS1 抗原検出キットの感度が低いことが確認された。

#### (2) 蚊媒介性ウイルス感染の免疫学的診断法確立:

地球環境の変化によりその拡大が予想されるフラビウイルス感染症について、フラビウイルス感染マウス脳炎モデルを作成し、脳炎発症に伴う脳内および末梢における免疫応答について解析をした。使用したウイルスは、日本脳炎ウイルス (JEV)、ウエストナイルウイルス (WNV) は、ダニ媒介性脳炎ウイルス (TBEV) であった。これらフラビウイルスをマウスに感染させ、T 細胞レセプターの解析に基づく感染動態の解析を行った。各ウイルスに特異的な T 細胞の浸潤が確認され、それぞれのウイルスに対して交差反応性を示す T 細胞レセプターレパトアは確認されなかった。このような T 細胞レセプターレパトアの解析に基づく蚊媒介性ウイルス感染の免疫学的診断法の基盤となることが示唆された。

#### (3) 中空ウイルス粒子を用いたフラビウイルス抗体検出法の確立:

フラビウイルス感染症の血清学的な鑑別は困難であるとされている。各種フラビウイルス感染症の鑑別法の確立を目指し、中空ウイルス粒子 (SvPs) を用いた血清試験

法の確立を目的とした。中空ウイルス粒子 (SvPs) はウイルス粒子の殻のみで構成され、物理的、抗原的性状がウイルス粒子と類似しているため、ウイルスの検査やワクチンへの応用が期待されている。本研究では、日本脳炎ウイルス (JEV) や Dengue ウイルス (DENV)、ウエストナイルウイルス (WNV) 感染を SvPs 用いて血清学的に鑑別する方法について検討した。各種フラビウイルスに特異的な多くの抗体は、ウイルス E 膜蛋白質の Domain III (D III) 領域を認識する。そこで、WNV SvPs (SvPs(WNV)) の E 膜蛋白質の D III 領域を、JEV あるいは DENV-1 の D III 領域と置換した SvPs (SvPs(WJV) および SvPs(WDV)) を作製した。DENV に対する抗体を用いてウエスタンブロット解析した場合、全ての SvPs と反応した。次に WNV あるいは JEV 感染マウス血清を用いて WB 解析したところ、それぞれの SvPs に特異的に反応した。今回作製したキメラ SvPs を抗原としてウエスタンブロット解析することにより JEV と DENV、WNV の感染が鑑別可能であることを示唆する。

#### 4) 媒介ベクターと地球温暖化

##### (1) 環境変化に伴うチカイエカの発生消長と個体数の指標としての個眼数の変化:

地上水域で採集した個々の卵舟から飼育・羽化したチカイエカ雌成虫、浄化槽で秋期に採集した個々の卵舟由来の雌成虫、およびアパートの 1 室で採集した吸血済のチカイエカ雌成虫の個眼数を個体別に調べた。室温で羽化した雌成虫の多くは、8 個の個眼数をもつチカイエカであったが、僅かではあるが 9 個を持つアカイエカ型が 10% 程認められた。これに対して浄化槽で秋に採集したチカイエカ雌は全て 8 個のチカイエカからなり、アカイエカ型は認めら

れなかった。個眼数の変異は幼虫時期の環境条件の違いが影響していると考えられるが、日長、照度、餌、幼虫密度と温度など複数の要因が関係していると考えられた。吸血したチカイエカ雌成虫の集団の中には、僅かではあるが、9個のアカイエカ型も混在していた。しかし、大多数は8個のチカイエカであった。これら吸血飛来したチカイエカ雌成虫は地上水域および浄化槽などの地下水域から発生した混合の個体群と考えられた。

#### (2) 各種蚊における日本脳炎ウイルス増殖能：

近年の地球規模による温暖化現象により、媒介蚊に様々な影響を及ぼすことが予想される。日本脳炎ウイルス (JEV) を対象に、ウイルスの増殖が蚊体内でどのような機構で制御されているかを明らかにするため、対象とする蚊に経口的にウイルスを感染吸血させる実験系を確立した。次いで、その系を用いて国内に生息する各種蚊の JEV 感受性を評価した。2005 年長崎県で捕集されたコガタアカイエカから分離された JEV1 型株 (長崎/37/2005) の各種蚊類における増殖は、主要な媒介種であるコガタアカイエカにおいては顕著に高い感受性が認められたが、アカイエカ、チカイエカ、ヒトスジシマカ、キンイロヤブカおよびオオクロヤブカにおいては、その増殖は認められなかった。一方、国内には生息しないが、ネッタイシマカの唾液腺でも JEV の増殖が認められた。国内においてはコガタアカイエカ以外の蚊が JEV の伝搬に関与する可能性は低い可能性が示唆された。

#### 3) 日本脳炎ウイルスのイエカ類蚊体内での越冬の可能性：

近年、コガタアカイエカ以外の蚊あるいは節足動物が関与する日本脳炎ウイルス感染環境の存在も指摘されている。冬季の蚊の耐低温性と、栄養生殖分離 (休眠の一種) の特徴をもとに、イエカ類体内での JEV の越冬の可能性を検討した。20°C の温度条件下では、アカイエカでは 12.5 時間、コガタアカイエカでは 13.8 時間 (関東地方では 9 月下旬および 8 月下旬に相当) 以降の短い日長条件下に孵化した雌は、その成虫の吸血と産卵が阻害されたが、チカイエカでは短日条件下でも阻害されなかった。次いで、羽化後の成虫を種々飼育条件で飼育し生存日数を比較した。アカイエカは他の 2 種に比べ最も寿命が長く、15°C 短日条件下では平均 155.5 日 (最長で 282 日) 生存し、特に 5°C 前後の低温下での 50% 生存率は 80 日を超え、コガタアカイエカの 22 日に比べて有意に長命であった。夏季に羽化したアカイエカが成虫で越冬する可能性が示唆された。以上の結果から、コガタアカイエカが国内で越冬できる地域は限局され、その確率は低いと考えられるが、アカイエカの生理・生態的特徴はむしろ JEV の越冬に適している。

#### (4) イノシシと共に分布を拡大しつつあるマダニ類に関する調査：

イノシシの分布拡大に伴ってマダニ類とリケッチアの分布が拡大している可能性について検討した。イノシシ体表より採集したマダニ類からのリケッチア検出を行った。イノシシ 21 個体及び寄生マダニ類 143 個体からは、*Rickettsia japonica* の遺伝子は検出されず、これまでに富山県において日本紅斑熱患者が報告されていないことと合わせて、*R. japonica* の浸淫の可能性は低いと考えられた。マダニ類の 12 個体からは、

これまでに富山県のマダニ類から検出されており、ヒトに病原性はないと推測されているリケッチアが検出された。富山県内に *R. japonica* を含む新たなリケッチアが侵入しているという証拠は得られなかったものの、イノシシに寄生したマダニ類とともにリケッチアも分布域を広げている可能性もある。

#### D. 考察

地球温暖化は人間の健康に大きな影響を継続的に及ぼすことが予想される。感染症に対する影響もその一つと考えられる。世界的には、特に蚊媒介性感染症や水を介した感染症(水系感染症)への影響が大きく、発生地域の拡大や、流行規模・患者数増加がおこると考えられている。しかし、地球温暖化の影響は各国の社会基盤や対応策等によって大きく変わる。発展途上国においては、十分な適応策をとることができず大きな影響が出現する可能性がある。一方、社会基盤が整備され、十分な適応策をとりうる日本などの先進国においては、ある程度の気候変動・温暖化までは、影響を小さく抑えられることが可能であると考えられる。しかし、温暖化が進行すれば、先進国における影響も明らかな形として現れる可能性がある。温暖化による感染症への影響を最小限にとどめるためには、気候変動・温暖化自体に対する緩和策とともに、影響に対する適応策を十分にとることが重要である。

本研究においては、各種病原体に及ぼす温暖化影響をモニタリングするための技術基盤の確立として、①各種病原体のモニタリング技術基盤、②ヒトにおける感染検出新技术の確立、③媒介ベクターと地球温暖化について研究を進展させた。また、これ

まで確立した基盤技術が国内、あるいはアジア各国で応用可能であることを検討するため、バングラデシュにおける下痢症と気候変動に関する研究も推進した。

現在考えられている地球温暖化と感染症のシナリオはまだ断片的な知識に基づき、構築されたものであるといえる。また、気候変動の影響は温暖化のみではなく、降水量や大規模災害とも深く関連してくることから、解析をいっそう複雑にする。断片的ながらも、気候変動・温暖化により感染症の状況が変化する、あるいは気候変動・温暖化が感染症のパターンが変化する素地となっているというデータが得られてきた。しかし、どのような感染症の患者がどの程度増加するか、どの感染症の分布地域がどの程度増加するか、についての理解はまだ定まったものではなく、今後一層の検討が必要となる。わが国においては、地球温暖化による患者数の増加はまだ見られていないが、影響が患者数の増加として現れる時点においては影響がすでに深刻なものとなっている可能性がある。さらに、影響は国内においても一定ではなく、各地域によって異なることが予想されることから、今後も影響評価も地域ごとの解析が必要となる。今後も細菌、ウイルス、寄生虫・原虫、真菌の各感染症に関して、感染症の温暖化影響を早期に把握するための基盤整備を行い、合わせて国内外における温暖化影響の把握を行うことが重要である。

#### E. 結論

本研究においては、地球温暖化が感染症に及ぼす影響を早期に検出し、わが国における地球温暖化に伴う感染症の被害を防止するためのモニタリングのための基盤技術を確立することを目的とした。特に、地球

温暖化の、ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌感染症に及ぼす影響をモニタリングするための基盤技術の確立を目指したが、種々の感染症に関して、温暖化影響評価の技術確立が進展した。また、バングラデシュにおける下痢症と気候変動に関する研究も推進し、下痢症発生と降雨量との関連が明らかとなった。

#### F. 健康危機管理情報

地球温暖化との関連については今後研究を進める必要があるが、チクングニア熱輸入例が空港検疫所においても確認された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Moi, M.L., Lim, C.K., Kotaki, A., Takasaki, T. and Kurane, I.: Development of an antibody-dependent enhancement assay for dengue virus using stable BHK-21 cell lines expressing Fc $\gamma$ R1IA. *Journal of Virological Methods* 163: 205-209, 2010.

Lim, C.K., Nishibori, T., Watanabe, K., Ito, M., Kotaki, A., Tanaka, K., Kurane, I. and Takasaki, T.: Chikungunya virus isolated from a returnee to Japan from Sri Lanka: isolation of two sub-strains with different characteristics. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 81(5): 865-868, 2009.

Takasaki, T., Kotaki, A., Lim, C.K., Tajima, S., Omatsu, T., Moi, M.L. and Kurane, I.: Arbovirus infections: the challenges of controlling and ever-present enemy.

*Journal of Disaster Research.* 4(5): 322-328, 2009.

Kurane, I.: The emerging and forecasted effect of climate change on human health. *Journal of Health Science.* 55(6): 865-869, 2009.

Moi, M.L., Lim, C.K., Kotaki, A., Takasaki, T. and Kurane, I.: Discrepancy in Neutralizing Antibody Titers between Plaque Reduction Neutralizing Tests Using Fc $\gamma$ R-negative and Fc $\gamma$ R-expressing BHK-21 cells. *Clinical and Vaccine Immunology.* 17: 402-407, 2010

Moi, M.L., Lim, C.K., Takasaki, T. and Kurane, I.: Involvement of the Fc $\gamma$  receptor IIA cytoplasmic domain in antibody dependent enhancement of dengue virus infection. *Journal of General Virology* 91(1): 103-111, 2010.

S. Yamamoto, H. Izumiya, M. Morita, E. Arakawa, and H. Watanabe: Application of lambda Red recombination system to *Vibrio cholerae* genetics: simple methods for inactivation and modification of chromosomal genes. *Gene.* 438, 57-64, 2009.

H. Izumiya, Y. Tada, K. Ito, T. Morita-Ishihara, M. Ohnishi, J. Terajima, and H. Watanabe: Characterization of *Shigella sonnei* isolates from travel-associated cases in Japan. *J. Med. Microbiol.* 58 (11), 1486-1491, 2009.

T. Morita-Ishihara, J. Terajima, H. Watanabe, and H. Izumiya: Interaction between Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 EspFu and IRSp53 induces dynamic membrane remodeling in epithelial cells. *Jpn. J. Infect. Dis.* 62, 351-355, 2009.

Takuya Yamao, Yuki Kihara, Tomomitsu Satho, Miho Nishimura, Takeshi Miyata, Akira Sakata, Nobuhiro Kashige, Fumio Miake, Yuki Eshita, Yupha Rongsriyam, Narumon Komalamisra, Raweewan Srisawat, Shumpei Watanabe, Hiroomi Akashi, Makoto Kuroda, Tsuyoshi Sekizuka, Kouji Sakai, Shuetsu Fukushi, Mina Nakauchi, Masayuki Saijo, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa, Tetsuya Mizutani: Novel virus discovery from field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). *Archives of Virology*, 154(1):153-158, 2009.

Yuki Eshita, Junko Higashihara, Masayasu Onishi, Masaaki Mizuno, Jun Yoshida, Tomohiko Takasaki, Naoji Kubota and Yasuhiko Onishi: Mechanism of introduction of exogenous genes into cultured cells using DEAE-Dextran-MMA graft copolymer as non-viral gene carrier. *Molecules*, 14(7): 2669-2683, 2009.

Tomomitsu Satho, Hamady Dieng, Tetsuya Mizutani, Yuki Eshita, Takeshi Miyata, Parimal Talukder, Nobuhiro Kashige, Abu

Hassan Ahmad and Fumio Miake:

Fluorescence can be used to trace the fate of exogenous micro-organisms inside the alimentary tract of mosquitoes. *J. Parasitol. Vector Biol.*, 1(2):13-18, 2009.

Ishikawa H, Ohmae H: Modeling the dynamics and control of transmission of *Schistosoma japonicum* and *S. mekongi* in Southeast Asia. *Korean J of Parasitol* 47(1): 1-5, 2009.

Nakagawa Y, Ueki M, Fueda K, Ohmae H, Ishikawa H..: Risk assessment of re-emerging *Plasmodium falciparum* on Ishigaki Island using a stochastic model. *Trop Med & Hlth* 37(3): 97-107, 2009.

Kitaura K, Kanayama K, Fujii Y, Shiobara N, Tanaka K, Kurane I, Suzuki S, Itoh T, Suzuki R. : T cell receptor repertoire in BALB/c mice varies according to tissue type, sex, age, and hydrocortisone treatment. *Exp Anim.* 2009 58(2):159-68.

Hayasaka D, Nagata N, Fujii Y, Hasegawa H, Sata T, Suzuki R, Gould EA, Takashima I, Koike S. : Mortality following peripheral infection with tick-borne encephalitis virus results from a combination of central nervous system pathology, systemic inflammatory and stress responses. *Virology.* 2009 Jul 20;390(1):139-50. Epub 2009 May 24.

Maeda, A., Murata, R., Akiyama, M., Takashima, I., Kariwa, H., Watanabe, T.,

Kurane, I., and Maeda, J. A PCR-based protocol for generation of a recombinant West Nile virus. *Virus Res.* 144: 35-43. 2009

Murata, R., Eshita, Y., Maeda, A., Maeda, J., Akita, S., Tanaka, T., Yoshii, K., Kariwa, H., Umemura, T., and Takashima, I. Glycosylation of the West Nile virus envelope protein increases *in vitro* and *in vivo* viral multiplication in birds. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* *In press*, 2010

吉田智生、藤本智、小林伸行、前田秋彦、前田潤子、大沼学、桑名貴、村田浩一、浅川満彦 帯広市内で発見されたハシブトガラス *Corvus macrohynchos* 白化個体死体のウイルス学的検査および剖検記録。北獣会誌 53 : 165-167. 2009

吉田智生、上村純平、相澤空見子、盛田徹、吉田順子、前田秋彦、浅川満彦 北海道胆振地方にて採集されたカササギ *Pica pica* の剖検記録 3 例とウイルス学的検査。北獣会誌 53 : 545-547. 2009

Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, and Miyazaki Y. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. *Intern Med.* *in press*. 2010

Hashizume M, Wagatsuma Y, Hayashi T, Saha SK, Streatfield K, Yunus M. The effect of

temperature on mortality in rural Bangladesh—a population-based time-series study. *Int J Epidemiol.* 2009 Dec;38(6):1689-97.

## 2. 学会等発表

### 1) 国際学会

Eshita, Y., Srisawat, R., Komalamisra, N., Rongsriyam, Y., Takasaki, T., Aono, H., Wei-feng, T., Makino Y., Ushijima, H., Takashima, I. and Kurane, I. : Vectorial capacity of Japanese mosquitoes borne diseases in West Nile and dengue viruses (Invited lecture). RGJ-Ph.D. Congress X, Pataya, Thailand, 4-6 April, 2009, Proceedings of RGJ-Ph.D. Congress X, Invited lecture (S3A-L7):96, 2009.

Ohmae H, Sugiyama M, Ebihara M, Chigusa Y, Kirinoki M, Blas BL, Ducussin B, Sinuon M, Sochet D. : Impact of Climate Changes on Parasitic Diseases, The 1<sup>st</sup> East Asian International Symposium on Climate Change and Health, July, 2009, Tsukuba.

Ohmae H, Ishikawa H, Fueda T, Ono M, Tnag L, Gu Z, : Basic analysis to estimate relationship between climate change and emerging of vivax malaria. The 2<sup>nd</sup> international conference on vivax malaria in Asia and Pacific area. January, 2010, Shanghai

Miyazaki Y. Antifungal Agent Update : Candins. 26th International Congress of Chemotherapy and Infection. Toronto, Canada. 2009

Terao T, Hayashi T, Faruque ASG, Wagatsuma Y. Relationship between the anomalies of local and global meteorological elements and diarrhea diseases in Bangladesh. 第10回チュニジア-日本文化・科学・技術学術会議(TJASSST 10). チュニジア共和国、ハマメット, 2009年11月11-13日。

Wagatsuma Y. Climate change impact on health: seasonality, malnutrition and fetal programming. 第135回生存圏シンポジウム 第5回 国際研究集会「南アジアの気象環境と人間活動に関する研究集会」 Relationship between weather environment and human activity in South Asia. 京都大学東南アジア研究所 稲盛財団記念館. 2010年1月30-31日。

## 2) 国内学会

西村美保, 佐藤朝光, 木原悠希, 山尾卓也, 江下優樹, Yupha Rongsriyam, Narumon Komalamisra, Raweewan Srisawat, 鹿志毛信広, 見明史雄, 水谷哲也: Rapid determination of RNA viral sequence 法 ver4.0 によるネッタイシマカ幼虫からのウイルスの検出。第61回日本衛生動物学会大会。2009年4月2-4日、香川県高松市、サンポートホール高松, Med. Entomol. Zool., 60 (Suppl.): 54, 2009.

佐藤朝光, 山尾卓也, 江下優樹, 木原優樹, 西村美保, Yupha Rongsriyam, Narumon Komalamisra, Raweewan Srisawat, 鹿志毛信広, 見明史雄, 森川 茂, 水谷哲也: Rapid determination of RNA viral sequence 法 ver4.0 によるネッタイシマカ幼虫からの新

しいブニヤウイルスの検出。第61回日本衛生動物学会大会。2009年4月2-4日、香川県高松市、サンポートホール高松, Med. Entomol. Zool., 60 (Suppl.):55, 2009.

江下優樹, 児島奈弥, 牧野芳大, 湯 偉峰, 青野裕士, Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, 成田弘成,

高崎智彦, 林 昌宏, 倉根一郎 (2009) : チクングニアウイルスを用いた蚊の感染実験。第62回日本寄生虫学会・第59回日本衛生動物学会南日本支部合同大会、2009年11月7日(土)・8(日)、福岡大学文系センター棟、福岡県福岡市。第62回日本寄生虫学会・第59回日本衛生動物学会南日本支部合同大会プログラム講演要旨集: 23, 2009.

湯偉峰, 西村紗智子, 小河正雄, 江下優樹, 青野裕士, 牧野芳大 (2009) : 大分地域における1980-2008年の日本脳炎ウイルスの分子疫学。第50回日本熱帯医学会大会、沖縄県、中頭郡、沖縄コンベンションセンター、2009年10月22日(木)・23日(金)。第50回日本熱帯医学会大会プログラム抄録集 P02-8:69, 2009.

佐々木年則・澤邊京子・楯田龍星・金京純・津田良夫・伊澤晴彦・小林陸生. 国内に生息する蚊類の日本脳炎ウイルス感受性. 第62回日本衛生動物学会大会, 鹿児島市, 2010年4月2-4日

澤邊京子・佐々木年則・森林敦子・葛西真治・津田良夫・小林陸生. 2010. 日本脳炎ウイルスのアカイエカ体内での越冬の可能性について. 第62回日本衛生動物学会大会,



鹿児島市, 2010年4月2-4日

森林敦子・澤邊京子・金京純・津田良夫・小林睦生. コガタアカイエカの休眠導入期から覚醒期における脂質含量と脂肪酸組成の変動. 第62回日本衛生動物学会大会, 鹿児島市, 2010年4月2-4日

森林敦子・澤邊京子・金京純・津田良夫・小林睦生. 2009. 東京都の公園に秋に飛来したコガタアカイエカの脂質含量と脂肪酸組成. 第61回日本衛生動物学会大会, 高松市, 2009年4月2-4日

澤邊京子・森林敦子・津田良夫・葛西真治・伊澤晴彦・林利彦・金京純・小林睦生. 2008. 日本産アカイエカ種群蚊の越冬に関する研究(1). 第60回日本衛生動物学会大会, 下野市, 2008年4月17-19日

森林敦子・澤邊京子・津田良夫・葛西真治・小林睦生. 2008. 日本産アカイエカ種群蚊の越冬に関する研究(2). アカイエカおよびチカイエカの寿命と資質に関する室内実験. 第60回日本衛生動物学会大会, 下野市, 2008年4月17-19日

北浦一孝・藤井克樹・早坂大輔・高島郁夫・高崎智彦・鈴木隆二・倉根一郎: ダニ媒介性脳炎ウイルス感染マウスにおける脳炎発症に関わる脳内浸潤T細胞の解析 第57回日本ウイルス学会学術集会(東京)2009年10月25-27日

山内健生・小原真弓・渡辺護・安藤秀二・品川保弘・長谷川澄代・中村一哉・滝澤剛則(2009年4月3日)「富山県産哺乳類に寄生

していたマダニ類」 第61回日本衛生動物学会大会 サンポートホール高松(高松市)

小原真弓、山内健生、渡辺護、長谷川澄代、滝澤剛則: 富山県におけるマダニ類調査: 第17回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー、大野市、2009年6月

小原真弓、山内健生、渡辺護、安藤秀二、石倉康宏、品川保弘、長谷川澄代、中村一哉、堀元栄詞、岩井雅恵、倉田毅、滝澤剛則: 富山県におけるマダニ類と保有リケッチア: 第16回リケッチア研究会、新宿区、2009年11月

秋山稔、村田亮、高島郁夫、荻和宏明、渡辺智正、倉根一郎、前田潤子、前田秋彦 PCR法による組み換えウエストナイルウイルスの作製 第44回日本脳炎ウイルス生態学研究会 北海道千歳市 6/19-6/20

秋山稔、村田亮、高島郁夫、荻和宏明、渡辺智正、倉根一郎、前田潤子、前田秋彦 PCR法を用いた組み換えウエストナイルウイルスの作製 第148回日本獣医学会 鳥取 9/25-9/27

前田秋彦、前田潤子、村田亮、白藤浩明、金平克史、荻和宏明、高島郁夫、倉根一郎 ウエストナイルウイルスと日本脳炎ウイルスの鑑別中和試験法の開発 日本ウイルス学会 東京 10/25-10/27

宮崎義継、大野秀明. カビが起こす肺の病気. 第57回日本化学療法学会西日本支部総会市民公開講座. 名古屋. 2009

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興研究研究事業）

平成 21 年度 分担研究報告書

食水系細菌感染症と環境モニタリングに関する研究

研究分担者 泉谷秀昌 国立感染症研究所 細菌第一部  
研究協力者 八尋俊輔 熊本県保健環境科学研究所 微生物部  
森田昌知 国立感染症研究所 細菌第一部

研究要旨 地球温暖化に伴い細菌感染症のリスクも影響を受ける。温暖化に付随する現象の一つである海水温の上昇は、食水系細菌感染症のリスク変化をもたらすことが予想される。本研究では上記細菌感染症に関連したコレラ菌、腸炎ビブリオ、ビブリオ バルニフィカスを含むビブリオ属菌の環境分布調査に関して有効な手法等の開発・検討を主眼とする。

A. 研究目的

地球温暖化によって影響を受ける気候変動の一つに海水温の上昇がある。海水温の上昇はそこに生息する生物の活発性、活動時期を変え、ひいては優勢生物種の変化、生態系の変化をもたらさる。こうした変化は当然のことながら水中に生息する細菌にも生じうるもので、そうした細菌の中にヒトに感染するものが存在すればヒトへの感染リスクもまた変動する。本研究では地球温暖化と細菌感染症の関係において、水との関連が深い食水系感染症を引き起こす細菌、特にビブリオ属菌（主に *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* ; 以下それぞれ Vc, Vp, Vv）に着目し環境モニタリングを行うための基礎技術の開発を目的とする。

B. 研究方法

【ビブリオ属菌と環境因子】

2009 年 4 月から 12 月までの間、毎月 1~2 回、地点 A、地点 B および地点 C において、ほぼ満潮時に岸壁から海水を採取した(図 1)。採取した海水 10mL を倍濃度アルカリペプトン水 (APW) 10mL の 3 本に、1mL を APW10mL3 本に接種し、以下  $10^{-4}$  まで PBS で 10 倍段階希釈し、各 1mL を APW10mL に接種後、 $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  で  $18 \pm 2$  時間培養した。また、定性試験として、海水 500mL を APW で培養した。その後、混濁がみられた培養液から 1 白金耳を選択培地 (クロモアガービブリオ寒天培地) に塗抹し、 $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  で  $18 \pm 2$  時間培養した。寒天培地上の Vc、Vp、Vv と疑われるコロニーを純培養し、各種生化学性状試験 (オキシダーゼ、1%NaCl 加 TSI、1%NaCl 加 LIM、1%NaCl 加 VP、0、3、8、10% 塩分濃度発育試験) で同定し、かつそれぞれの同定を目的とした PCR で陽性バンドが確認されたものを Vc、Vp、Vv