

2010 28 013 A

アジアの研究機関との連携における
ラボラトリーネットワークの強化に関する研究
(課題番号：H20- 新興 - 一般 - 013)

平成 22 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)

研究代表者 渡 辺 治 雄

国立感染症研究所

平成 23 (2011) 年 3 月

目 次

1. 平成 22 年度総合研究報告書

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

研究代表者 渡辺 治雄 国立感染症研究所

1

2. 平成 22 年度研究分担者報告書

プロジェクト1：細菌

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

研究分担者 寺嶋 淳 国立感染症研究所
研究協力者 泉谷 秀昌 〃
伊豫田 淳 〃

19

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワーク ----- 26

研究分担者 泉谷 秀昌 国立感染症研究所

26

病原性大腸菌の侵入監視に関する研究 ----- 30

研究分担者 伊豫田 淳 国立感染症研究所

30

メコン川流域諸国とのラボラトリーネットワークの構築の試みーコレラ菌の分子疫学
解析 ----- 35

研究分担者 大西 真 国立感染症研究所
研究協力者 泉谷 秀昌 〃

35

Dr. Sithivong Noikaseumsy

(National Center for Laboratory and Epidemiology, Lao PDR)

ビブリオの分子疫学マーカーの開発、データベース化 ----- 41

研究分担者 森田 昌知 国立感染症研究所
研究協力者 泉谷 秀昌 〃
山本 章治 〃

41

	大西 真	”	
	黒田 誠	”	
	関塚 剛史	”	
アジアで流行する汎赤痢菌群に対するHfqワクチンの共同研究			46
研究分担者	三戸部 治郎	国立感染症研究所	
研究協力者	寺嶋 淳	”	
	志牟田 健	”	
	小泉 信夫	”	
<i>Vibrio cholerae</i> の新規 DNA フィンガープリンティング法, VCR-PCR 法と既知の PCR-based DNA フィンガープリンティング法との識別能等の比較			52
研究分担者	大澤 朗	神戸大学	
Bacteriophages determine the epidemic strength of <i>Shigella flexneri</i> serotypes			65
	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 2011			80
	Dr. Kai-Man Kam		
	(Public Health Laboratory Centre, Hong Kong)		
Molecular epidemiologic Analysis of <i>V. cholerae</i> O1 isolates by Pulsed-Field Gel Electrophoresis in Vietnam from 2007 to 2009			92
	Dr. Nguyen Binh Minh		
	(National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam)		
Application of PCR-based genotyping to <i>Campylobacter jejuni</i>			102
	Dr. Brent Gilpin		
	(Institute of Environmental Science & Research Limited, New Zealand)		
Serotypic shift of <i>tdh</i> ⁺ <i>V. parahaemolyticus</i> occurring in estuarine ecosystem of Bangladesh, 2006 – 2008			105
	Dr. Munirul Alam, Dr. Farhana Akther, Dr. Alejandro Cravioto		

(ICDDR.B, Bangladesh)

Prototype El Tor Displaces Classical and Variant El Tor from Endemic Cholera in Mexico, 1998 – 2008	123
Dr. Munirul Alam, (ICDDR.B, Bangladesh)	
Genotyping of <i>Vibrio cholerae</i> O1, <i>Shigella</i> spp and <i>Campylobacter</i> spp	131
Dr. T. RAMAMURTHY (National Institute of Cholera and Enteric Diseases, INDIA)	
Virulence factors and molecular subtyping of <i>Vibrio vulnificus</i> isolated in Thailand	152
Dr. Orn-Anong RATCHTRACHENCHAI (National Institute of Health, Thailand)	
Antimicrobial resistance of <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi from Bangladesh, Indonesia, Taiwan, Vietnam	162
Dr. Chien-Shun Chiou (Center for Disease Control, TAIWAN)	
Inter-laboratory <i>Shigella sonnei</i> MLVA Validation Study	181
Dr. Thong Kwai Lin (University of Malaya, Malaysia)	

プロジェクト2：ウイルス (Dengue熱)

マレーシアにおける Dengue熱患者血清中の Dengueウイルス感染増強抗体	191	
研究分担者	倉根 一郎	国立感染症研究所
研究協力者	高崎 智彦	”
	林 昌宏	”
	モイ・メンリン	”
日本脳炎実験室診断ネットワークの構築と IgM 抗体検査用パネル血清の評価	195	
研究分担者	高崎 智彦	国立感染症研究所
研究協力者	倉根 一郎	”

国立感染症研究所における2010年輸入デングウイルス感染症の検査・診断状況 ----- 198

研究分担者	田島 茂	国立感染症研究所
研究協力者	高崎 智彦	”
	林 昌宏	”
	小滝 徹	”
	モイ・メイリン	”
	倉根 一郎	”

近年のチクングニア熱輸入症例における病原体および血清学的解析 ----- 204

研究分担者	林 昌宏	国立感染症研究所
研究協力者	倉根 一郎	”
	高崎 智彦	”

日本脳炎ワクチン接種により獲得されるウエストナイルウイルスに対する交差中和抗体反応性の解析並びに デング熱・チクングニア熱実験室診断の国内ネットワーク確立 ----- 210

研究分担者	高橋 和郎	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	青山 幾子	”
	弓指 孝博	”
	加藤 哲男	”

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, 2010 · ----- 214

Dr. Feng-Yee Chang, Dr. Jyh-Hsiung Huang, Dr. Pei-Yun Shu
(Taiwan Center for Disease Control, Taiwan)

GENOTYPE ANALYSIS OF DENGUE VIRUSES IN JAKARTA ----- 225

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

Characterization of Japanese Encephalitis Virus prevalent in China for establishment of the laboratory network for molecular epidemiology of Japanese Encephalitis and other mosquito-borne viruses prevalent in Asia ----- 236

Dr. Guo-Don Liang
(Institute for Viral Disease Control and Prevention, China CDC)

Establishment of Laboratory Network for Dengue, Japanese Encephalitis and Ebola Reston in the Philippines	245
---	-----

(Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)

Virological and serological surveillance of Dengue fever/Dengue hemorrhagic fever in Thailand, April 2010 to March 2011	248
--	-----

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

プロジェクト3：ウイルス (高病原性 H5N1 鳥インフルエンザ)

アジア地域の品質管理研究機関とのインフルエンザワクチンの品質管理試験法の標準化に関する研究	267
---	-----

研究分担者	田代 真人	国立感染症研究所
研究協力者	板村 繁之	”
	嶋崎 典子	”
	佐藤 佳代子	”
	河野 直子	”

プロジェクト4：ウイルス (風疹と CRS)

ラオス人民民主共和国ビエンチャン市の妊娠可能年齢女子の風疹抗体保有率	271
--	-----

研究分担者	駒瀬勝啓	国立感染症研究所
	山本久美	”
研究協力者	ペンサイ・マニライ	WHO Lao Office

ラオス・ビエンチャン市における妊娠可能年齢の女性を対象とした風疹の血清疫学調査について ～調査対象者の全体像と危険因子～	277
--	-----

研究分担者	山本久美	国立感染症研究所
	駒瀬勝啓	”

ベトナムにおける風疹の血清および分子疫学調査ならびに風疹迅速診断法の開発	282
--	-----

研究分担者	牛島廣治 駒瀬勝啓	藍野大学 藍野健康科学センター 国立感染症研究所
研究協力者	Tran Dinh Nguyen Nguyen Minh Phuong Ha Manh Tuan 周 玉梅 野村 裕子	東京大学 医学系研究科 パスツール研究所ホーチミン市 ホーチミン市第二小児病院 ジョージア州立大学 イムノプローブ社

プロジェクト5：ウイルス (狂犬病ウイルス)

狂犬病ウイルスに関する研究（海外の研究機関との連携） ----- 291

研究分担者	井上 智 山田章雄 朴 天鎬	国立感染症研究所 " 北里大学
研究協力者	野口 章 加来義浩 飛梅 実 阿戸 学 佐藤 豪 黒田 誠 杉浦尚子 宇田晶彦 奥谷晶子	国立感染症研究所 " " " " " " " "

Nguyen Thi Kieu Anh

The National Institute of Hygiene and Epidemiology,
Hanoi (NIHE)

Beatriz Quiambao, Daria Manal, Catalino Demetria

Research Institute for Tropical Medicine (RITM)

Qing Tang

China CDC

狂犬病の免疫組織診断系の検証と確立 ----- 324

研究分担者	朴 天鎬	北里大学
研究協力者	小嶋 大享 石田 誠 井上 智	" " 国立感染症研究所

野口 章	”
佐藤 豪	”
杉浦 尚子	”
井上 謙一	京都大学霊長類研究所
高田 昌彦	”

Summary of the cooperation project to evaluate the RFFIT, to extend and apply RFFIT in rabies surveillance supported by NIID grant in 2010	341
--	-----

Dr. Qing Tang

(Institute for Viral Disease Control and Prevention, China CDC)

Search for Lyssaviruses in some bat species in Northern Vietnam	349
---	-----

Dr. Nguyen Thi Kieu Anh

(National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam)

プロジェクト6：原虫（マラリア）

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究 マラリア分野総括報告書	363
--	-----

研究分担者	大前比呂思	国立感染症研究所
	津田 良夫	”
	中野由美子	”
	田邊 和祐	大阪大学微生物病研究所
	坪井 敬文	愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター

マラリア免疫診断法の開発と評価	372
-----------------------	-----

研究分担者	大前比呂思	国立感染症研究所
研究協力者	亀井喜世子	平成帝京大学・公衆衛生学
	伊藤 誠	愛知医科大学・寄生虫学
	石川 洋文	岡山大学・環境学研究所
	Beranrd Bakotee	
	Solomon Islands Medical Training and Research Institute	

輸入マラリア薄層標本による薬剤耐性遺伝子の遺伝的多型 ：クロロキン耐性遺伝子の歴史	376
--	-----

研究分担者	中野由美子	国立感染症研究所	
我が国におけるマラリア媒介蚊の分布・分類の再検討と医学上重要な疾病媒介蚊の分子分類システムの構築 ----- 380			
研究分担者	津田 良夫	国立感染症研究所	
研究協力者	沢辺 京子	"	
	金 京純	岐阜大学大学院	
	當間 孝子	琉球大学医学部	
	比嘉由起子	長崎大学熱帯医学研究所	
	今西 望	明治大学農学部	
マラリア原虫の遺伝的多様性とその分布 ----- 386			
研究分担者	田邊 和祐	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 ----- 392			
研究分担者	坪井 敬文	愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター	
Assessment of Malaria Epidemic Situation and its Influential Factors in the Three Gorges Reservoir, China ----- 398			
	Tang Linhua,	National Institute of Parasitic Diseases,	
		China CDC	
The strengthening & integrating of malaria control activities in newly developed area in Kampot Province, Southern Cambodia ----- 403			
	Duong Socheat,		
	Chea Nguon,	National Center for Parasitology,	
		Entomology and Malaria Control	
		(CNM) (Cambodia)	
研究成果の刊行(英文) ----- 432			
3. 平成22年度業績			
研究成果の刊行に関する一覧表(業績) ----- 465			
学会発表一覧表(業績) ----- 479			

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金総合研究報告書

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワーク の強化に関する研究

研究代表者：渡邊治雄（国立感染症研究所）

概要：現代のようなグローバルな時代においては、アジアの特定な地域で発生している感染症が、旅行者、食材（食品）、動物等を介してアジア地域全域に瞬く間に拡散し、それが我が国にも侵入する機会は増大してきている。そのような時期に、各国の感染症の制御に責任を持っている国立研究機関と国立感染症研究所の連携を深め、感染症の患者及びその原因病原体の遺伝子型等の情報の共有化を図ることは重要である。政府も「東アジア構想」を掲げて、アジア諸国との連携の強化、感染症制御に向けての協力体制の促進を掲げている。アジアで問題となっている下痢症細菌（コレラ、赤痢、腸チフス等）、デング熱ウイルス、日本脳炎ウイルス等、狂犬病ウイルス、インフルエンザウイルス、麻疹ウイルス、マラリア等を主な対象病原体として、その病原体の表現型（生物型、薬剤耐性等）および遺伝型（塩基配列の差による型別）の解析結果の情報収集を図る基盤の作製を各国の研究機関との連携により行った。研究成果は、新規病原体の発生、あるいは既存病原体の変異およびその伝播を迅速に検知する源になる。

分担研究者	大澤 朗	神戸大学 農学部
細菌関係：	協力研究員	
寺嶋 淳	国立感染症研究所 細菌第一部	Dr. Jian-Guo Xu. (Chinese Center for Disease Control and Prevention; CDC, China)
伊豫田 淳	国立感染症研究所 細菌第一部	Dr. Orn-Anong RATCHTRACHENCHAI. (National Institute of Health; NIH, Thailand)
泉谷 秀昌	国立感染症研究所 細菌第一部	Dr. Kwai-Lin THONG. (University of Malaya, Malaysia)
大西 真	国立感染症研究所 細菌第一部	Dr. T. RAMAMURTHY. (National Institute of Cholera
森田昌知	国立感染症研究所 細菌第一部	
三戸部治郎	国立感染症研究所 細菌第一部	

- and Enteric Diseases ; NICED, INDIA)
- Dr. Celia C. Carlos. (Research Institute for Tropical Medicine;RITM, Philippines)
- Dr. Bok Kwon Lee. (Korea National Institute of Health;NIH, Korea)
- Dr. Brent Gilpin. (Institute of Environmental Science & Research Limited;IESR, New Zealand)
- Dr. Phung Dac CAM. (National Institute of Hygiene and Epidemiology;NIHE, Vietnam)
- Dr. Chien-Shun Chiou. (Center for Disease Control;CDC, TAIWAN)
- Dr. Kai-Man Kam. (Public Health Laboratory Centre;PHLC, 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)
- ウイルス関係：
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
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
高橋 和郎 大阪府立公衆衛生研
究所
協力研究員
- 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)
- Dr. Guo-Dong Liang (China CDC, China)
- 田代 真人 国立感染症研究所ウ
イルス第三部
小田切 孝人 国立感染症研究所ウ
イルス第三部

駒瀬 勝啓	国立感染症研究所ウ イルス第三部	Tropical Medicine, Philippines)
山本 久美	国立感染症研究所感 染症情報センター	Dr. S. Jongwutives (Armed Forces Research Institute of Medical Science, Thailand)
牛島 廣治 部	鹿藍野大学医療保健 部	Dr. J. Prachumsri (Burapha University, Thailand)
山田 章雄	国立感染症研究所 獣医科学部	Dr. C. Nguon (National Centre for Parasitology, Entomology and Malaria Control, Cambodia)
井上 智	国立感染症研究所 獣医科学部	Dr. L. Shiahaan (North Sumatera University, Indonesia)
朴 天鎬 協力研究員	北里大学 獣医学部	Dr. T. Linhua (China CDC, China)
Dr. Q. Tang	(China CDC, China)	Dr. G. Yayi (China CDC, China)
Dr. Nguyen	Kieu Anh. (National Institute of Hygiene and Epidemiology; NIHE, Vietnam)	Dr. I. Mueller (Papua New Guinea institute of Medical Research)
Dr. Beatriz P.	Quiambao (Research Institute for Tropical Medicine, Philippines)	
原虫関係：		
大前比呂思	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	
津田良夫	昆虫医科学部、	
田辺和祐	大阪工業大学工学部	
坪井敬文	愛媛大学	
協力研究員		
Dr. R. Olveda	(Malaria Study group, Institute for	

A. 研究目的：

病原性鳥インフルエンザ、狂犬病等の多くの病気がアジアを中心に発生している。それらの発生状況を常時に把握し、わが国への侵入あるいは拡散を防止する事前対応が必要である。問題となる病原体の正確な情報、および特徴を日常的に把握し監視していくためにアジア地域（主に ASEAN 諸国を対象）の感染症を専門とする国立の研究機関（国立感染症研究所と同じような機能を持つ機関を対象にする）とのネットワークを構築し、感染症情報および病原体情報の交換、およびそのデ

ーターベース化を行う。①腸チフス、コレラ等の細菌性下痢症、②高病原性鳥インフルエンザ、デング熱、狂犬病等のウィルス性疾患、③マラリア等の原虫性疾患を対象に研究プロジェクトを組織し、病原体検査法の標準化および共通のマニュアルの作成、病原体の分子疫学的解析の共同研究、病原体情報の効率的交換の促進を図る。

- 1) アジアを起点として発生する新興・再興感染症は後を絶たない。一国で発生した感染症の原因となる病原体は SARS の事件が実証したように、ヒトあるいは物を介して瞬く間に世界中に拡散し、時には莫大なる被害をもたらす。
- 2) いつ発生するかまたはどのような状況で伝播するかわからない感染症に対しては、常時監視体制の強化が最も効果的防止法である。そのためには国を越えての協力体制の構築が求められている。
- 3) アジアを中心として問題となっているいくつかの疾患を例として各国の感染症対策に関与する国立研究機関と国立感染症研究所とのラボネットワークを構築し、情報の交換を促進する。それにより、わが国への病原体の侵入あるいは拡散を未然に防止あるいは最小限に食い止めることができる。

B. 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

（デング熱、チクングニア、インフルエンザ、狂犬病、風疹、麻疹と主に）

③原虫（マラリアを中心に）に分け、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。研究班における研究内容は、1) 国内の研究者による検査法の開発、分子疫学的指標の開発、データの解析法の開発等の研究、2) アジアの研究機関へ研究を委託し、各国で分離される病原体の収集、解析、データの保管等からなる。

- (1) 病原体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

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、迅速にその起源を把握でき、適切なる対策に結びつけることが期待できる

C. 研究結果：

細菌関係；

(1) 細菌チーム；主任研究者（渡邊治雄）、分担研究者（寺嶋、泉谷、伊豫

田、森田、大澤、大西)

a. アジア各国との連携：

アジア（韓国、中国、台湾、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、オーストラリア、ニュージーランド）および米国 CDC 等の国立の感染症研究所との連携を図り、コレラ菌等の腸管系細菌のゲノム情報 (PFGE) に基づくデータベース化およびそのネットワーク (Pulse-Net) の構築を行った（各国に研究委託金を渡し、各国の分離株の解析を依頼した。詳細は各分担研究者の報告書を参照）。PFGE の方法論の精度管理に関しては、毎年香港衛生研究所が担当し、希望国の研究者を相手に研修会と実習を行い、精度の維持を行っている。加盟国のうち少なくとも8カ国ぐらいが毎年参加しており、同じ“物差し”で解析を行えるようになってきている。また、加盟国との研究報告会を12月に香港衛生研究所において3日間かけて開催した。お互いの研究成果の報告とネットワークの問題点に関して討議された。ネットワークを維持していくための資金的問題が討議されたが、現在は当該厚生科学研究費によりほとんどが支援されており、それに対する感謝が示された。今後どのようにするかが大きな課題として指摘されている。

b. アジアでのコレラの流行

インド、バングラデシュ等を中心として現在流行しているコレラ菌は、古典型コレラ毒素を産生するエルトル型コレラ菌のハイブリッド型にシ

フトしてきており、それが臨床症状の悪化に關与している可能性が示唆された。日本人の海外で罹患してきたコレラ患者の分離株を調べても、東南アジア地区でハイブリッド型が流行していることが示唆された。また、ラオスとの共同研究において、ラオスで発生したコレラのアウトブレイク原因コレラ菌の解析を行った結果、ハイブリッド型であり、メコン川流域にも拡散していることが分かった。今後はベトナム、カンボジアの流行株の比較を行うことによりその伝播範囲を推定できるであろう。

c. 赤痢菌の解析

PFGE 以外の手法として MLVA (multi-locus variable-number tandem repeat analysis) 法の有効性を検討した。ソンネ型赤痢菌に対応するプライマーの設定、その分離能に関して解析した結果、良好との結果を得ている。台湾 CDC との実験室間での評価を行った結果においても分離能において優れていることが判明しており、今後は国際的評価を行う必要がある。

ソンネ型 *hfq* 欠損株は TTSS の発現が増加しているにも関わらず動物実験での病原性が低下していることが示されたため、新たに血清型の異なる *S. flexneri* 2a の 2457T 株から *hfq* 欠損株を作成し、*S. sonnei* 株で攻撃試験を行うことで、ユニバーサルワクチンとしての効果を検討した結果した。その結果、免疫群ではチャレンジ後の病巣の軽減が見られ、ワクチンの候補とな

り得るので、更なる検討を加えることになった。

d. 腸管出血性大腸菌の解析

EHEC の分離株の遺伝型 (96 loci における一塩基多型法 SNP) と臨床症状の重症度との間に相関があるとの報告がある。特に、clade 8 の株が重症度の高い患者から分離されるとの報告がある。米国で 2006 年に単離された、HUS 患者が多くみられたほうれん草アウトブレイク由来株は clade 8 に属する。我が国の 2004-2008 年に分離された 0157 株では HUS 患者由来株においても無症状保菌者由来株においてもクレード 1 の割合は低く差がなかったが、1999-2003 年の間では、クレード 1 は無症状保菌者由来株と比較して、HUS 患者由来株において有意に多く存在することが明らかとなった。また、1999 年から 2009 年までの結果をまとめると、HUS 株で有意にクレード 8 が多く存在することが分かった。

ウィルス関係：

(1) デング熱等（研究分担者；倉根、高崎、田島、林、高橋）：

a. デング熱

国内の医療機関よりデング熱疑いで当研究室に送付された患者検体数は、2010 年は 181 例であった。このうち陽性のものは 122 例 (68%) に達し、過去最多を記録した一昨年 (67 例) および昨年 (45 例) を大きく超え過去最多記録を更新した。理由としては、比較的多くの日本人が渡航する地域でデング感染症が例年以上に流行してい

た可能性や、国内医療機関でのデング感染症に対する認識が高まったことなどが考えられる。

b. 日本脳炎

日本脳炎 IgM 捕捉 ELISA 法のためのパネル血清・髄液 (血清 253 サンプル、髄液 153 サンプル) をそれぞれ評価した。昨年度選定したパネル血清・髄液第一版に引き続き、第 2 版を選定した。このパネルにより評価したところ、デングウイルスと日本脳炎ウイルスの鑑別法として、血清希釈法による抗体価希釈法は非常に優れていることが確認された。

c. チクングニヤウイルス (CHIKV) 感染症

マレーシアにおけるチクングニア疑い患者血清を用いて、これまでに確立した中和法、IgM 捕捉 ELISA 法により確定診断が可能であることを示した。また、チクングニア疑い患者の中にはデング熱と確定された患者も含まれていることから、東南アジアの患者においてはチクングニアウイルス、デングウイルスに対する検査を同時に行うことが必要である。

2011 年 1 月までに日本において 19 例の輸入症例が確認されている。輸入症例の患者血清より分離したウイルスを解析した結果、現在アフリカおよびアジア地域で流行地域を急速に拡大している東・中央アフリカ型の遺伝子型のウイルスが検出されたことから今後も引き続き流行動向を解析する必要が示された。

(2) ラオスの麻疹・風疹ウイルス (研

究分担者；駒瀨、牛島等）：

ラオスにおいて妊娠可能年齢女子（15才-35才）を対象に風疹抗体保有調査を実施した。15-35才女性における風疹感受性者は16.8%であったが15-20才では35.5%、最初の妊娠年齢である20-24才では約20%が感受性者であり、風疹の流行と妊娠の時期が重なればCRSの発症が容易におこると考えられた。一方、不十分なワクチン接種はCRS発症のリスクを増加させる可能性があることから、慎重に実施するとともに、風疹の症例数、CRSの症例数の把握できる体制の構築が重要と思われた。

風疹の抗体保有率に関しては、全体で約8割程度で、年齢が高くなるに従って、抗体保有率は上昇していた。インタビュー調査の結果、風疹の抗体保有と生活・社会的因子との関連に関しては、いずれの因子も関連は認められなかった。

(3) 狂犬病（研究分担者；山田、朴、井上）：

ラボラトリーネットワークの確立と強化を推進するために、RITM（フィリピン）、NIHE（ベトナム）、China CDC（中国）の担当者と実技を交えた議論と研修を行う事により、共同研究の推進と連携強化に必要な研究成果・技術の評価と見直し、課題点の補強、連携研究の方向性等について明確にすることができた。また、新しいコンセプトの診断・治療法を開発する目的で、マウス感染モデルを利用した狂犬病の麻痺症状についてマイクロアレイ

による解析マーカー遺伝子の検索を行い、感染マウスの脊髄で特異的に遺伝子の発現低下を示す遺伝子群（神経疾患関連遺伝、GABA関連遺伝子、イオンチャンネル関連遺伝子）を見いだすことができた。今後、構築されたラボラトリーネットワークを活用して実験室内で得られた知見を自然感染事例に応用、若しくは検証して行く予定である。

(4) インフルエンザ（研究分担者；田代、小田切、板村等）：

2008/09シーズンの5月以降から、ブタインフルエンザウイルス由来の新型A/H1N1ウイルスによるパンデミックが起こった。ミャンマー、ラオス、モンゴルからは臨床検体を受け入れ、感染研で新型インフルエンザ用に構築したPCR診断系が高感度に稼働することが確認され、これらのマニュアルを連携している周辺諸国へ提供することができた。

インフルエンザ・パンデミック対策としてワクチン供給は重要でありそのためにワクチンの品質管理はその基盤となるものである。インフルエンザワクチンの力価試験（一元放射免疫拡散試験法[SRD試験法]）のアジア地域での標準化及びアジア地域でのインフルエンザワクチンの品質管理研究機関の連携強化を目的として、SRD試験の実験室内再現性についてインドネシアの国立試験研究機関であるNational Quality Control Laboratory of Drug and Food（国立医薬食品品質管理研究室）との間で共同研究を実施

した。測定基準を含めて標準化された試験手順に基づいて試験を実施すると、従来得られていた試験成績と同等の再現性が得られることが判った。今後、連携する試験研究機関の実験室間再現性を検討していくことが重要な課題であり、このような共同研究を随時実施していくことでインフルエンザワクチンの品質管理精度を連携試験研究機関で一定にすることが可能になり、その結果、品質の一定したワクチンの供給が実現することが期待される。

原虫関係（分担研究者；大前、田辺、坪井、中野、津田）：

a. 原虫抗原を検出するマラリア迅速診断キット

Histidine rich protein-2 (HRP-2)、Parasite lactate dehydrogenase (pLDH) の両方を同時に検出するマラリア迅速診断キットでも、原虫密度の低い三日熱マラリアを検出できる感度が低く、今後、用途を考えた迅速診断キットの使用が大切と思われた。また、尿中の熱帯熱マラリア原虫抗体価は、3年程度で陰性化することが多く、マラリア低浸淫地における Rapid assessment やマラリア対策の成果をモニタリングする指標として利用できると思われた。

b. 熱帯熱マラリア原虫組換えタンパク質の作製

コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いることにより、コドンを何ら改変することなくゲノムワイドに熱

帯熱マラリア原虫組換えタンパク質約 1700 種を含むプロテインアレイの作製に成功した。確立したハイスループット抗原スクリーニング法（アルファスクリーン法）により、マリ共和国のマラリア流行地から得た 10 名の免疫血清との反応性を検討した結果、10 名全員の血清と反応した抗原 8 種類、半数（5 名）以上の血清と反応した抗原が 47 種同定された。以上の結果より、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いた熱帯熱マラリア原虫プロテインアレイのハイスループット抗原スクリーニングシステムが樹立され、ゲノムワイドな熱帯熱マラリア原虫新規抗原探索が可能となったと考えられた。

c. マラリア原虫の遺伝的多様性とその分布

P. falciparum 集団の抗原多様性の約 7～9 割が、東アフリカからの分離域までの地理的距離によって決定されていることが明らかとなった。アフリカから地理的に遠くなるほど *P. falciparum* の抗原多様性が低くなる。これは、マラリア獲得免疫やワクチンの効果が地域によって大きく異なることを示唆する。

マラリア媒介蚊であるハマダラカ類 *hyrcanus* グループの分子分類を行うための手法を確立できた。北海道釧路湿原には、これまで我が国では生息が確認されていなかったハマダラカの種類が生息していることが明らかになった。

d. クロロキン耐性遺伝子の歴史

1950年代後半にインドシナ半島で発生したクロロキン（CQ）耐性熱帯熱マラリアは、1978年にはアフリカ東側から全土に広まっていた。CQ耐性を付与する *pfcrt* 変異をアーカイブサンプルから検出したところ、もっとも古い1984年のサンプルからインドシナ半島型の *pfcrt* 耐性型を検出した。またアフリカでのマラリア流行度の高さを反映し、野生型も多く検出された。最後に、CQとPyr耐性熱帯熱マラリアは、異なる時代にアフリカに移入したことを遺伝学的に示した。

e. 我が国におけるマラリア媒介蚊の分布・分類

日本脳炎ウイルス媒介能を持ち *Cx. gelidus* subgroup に属する *Cx. gelidus* と *Cx. sitiens* subgroup に属する *Cx. sitiens* について分子分類のためのプライマーを作成した。ヤブカ類（特にデング熱媒介蚊、チクングニヤ熱媒介蚊）の卵を分子分類するためのプライマーを開発した。これまでに開発したプライマーを使用することで、形態的に破損した日本脳炎ウイルスやフィラリア媒介蚊でも種の同定ができるようになった。

アジアの研究機関との共同研究

表1にアジア地域の国立の研究機関との共同研究の課題名と担当者を示した。各担当者の研究報告書は、当該報告書に含めた。日本国内の研究者との共同研究を通して、各国で発生している各病原体の性質に関するデータを集積していく。また、このよう

な共同研究を通し、研究者間の交流が促進され、必要なときにデータの交換が行われ、その結果を感染症対策に生かせる基盤が整うことが期待できる。

D. 考察：

アジアの特定な地域で発生している感染症が、旅行者、食材（食品）、動物等を介してアジア地域全域に拡散し、それが我が国にも侵入する機会は増大してきている。そのような時期に、各国の感染症の制御に責任を持っている国の研究機関との連携を深め、情報の共有化を図るためのネットワーク化に向けた試みを行うことは時期を得ている。政府も「東アジア構想」を掲げて、アジア諸国との連携の強化を促進している。特に、各地域、各国において発生している病原体の表現型（生物型、薬剤耐性等）および遺伝型（塩基配列の差による型別）の解析結果の情報を収集を図る基盤的研究成果は、新規病原体の発生、あるいは既存病原体の変異およびその伝播を迅速に検知する源になる。そのような目的を持って、アジアで問題となっている下痢症細菌（コレラ、赤痢、腸チフス等）、デング熱ウイルス、日本脳炎ウイルス等、狂犬病ウイルス、インフルエンザウイルス、麻疹ウイルス、マラリア等を主な対象病原体として、研究を進めてきている。

細菌においてはPFGE、MLVA等の分子疫学的解析手法の標準化に向けての検討がアジア諸国13カ国（+米国CDC）の協力の下に進めてきている。

各国の 12 の研究機関に委託研究費を分配し、その国における病原体の解析を共通の手法を用いて研究していただきその成果を報告書としてまとめることができた。デングウイルス、狂犬病ウイルス、マラリアにおいてもアジア諸国との共同研究の促進を図った。それらの結果は、感染研とアジアの研究機関との連携の強化、人的交流、およびアジアで発生している病原体の遺伝型等のデータベースの構築として生かせるであろう。

感染症の伝播には国境はない。今回の新型インフルエンザのようにいつどのような病原体の勃発、その拡散が起こるか予測できない。その発生を迅速に検知するためにも、近隣諸国との連携、および病原体の検出技術の均一化が重要である。幸いにも我が国は科学的にも技術的にもアジア諸国のなかでは先んじている。我が国がリーダーシップをとり、アジア諸国の感染症対応の責任を担う国立の研究機関とのネットワークを構築し、人的、技術的な交流を深めておくことが、強いては我が国への新規病原体の侵入防止、および拡大の迅速把握に結びつき、我が国の感染症対策に役立つこととなる。構築されつつあるネットワークのさらなる発展および維持に当該研究の果たす役割は大きいと考える。

E. 結論：

一国で発生した感染症の原因となる病原体は、SARS の事件が実証したように、ヒトあるいは物を介して瞬く間

に世界中に拡散し、時には莫大なる被害をもたらす。それを未然に阻止する対策が求められている。いつ発生するかまたはどのような状況で伝播するかわからない感染症に対しては、常時監視体制の確立が最も効果的防止法である。そのためには国を越えての協力体制の構築が求められている。本研究はアジア諸国を中心として感染症対策に関与する研究機関と国立感染症研究所とのネットワークを構築し、各国における研究促進を図ると共に、感染研との人的交流を促進し、危機発生時に迅速に対応できる下地を作ることである。細菌、ウイルス、原虫の代表的病原体に対するネットワークの構築ができてきたと考えられる。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

別途記載。

- (1) 田代、小田切 ; WHO:WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans - update . 18 August 2009
- (2) Takasaki ;WHO Training Workshop Report of JE; Hands-On Training on the Laboratory Diagnosis of JE. Seoul, Korea 15-19 June 2009.
- (3) Kam KM, Luey CK, Parsons MB, Cooper KL, Nair GB, Alam M, Islam MA, Cheung DT, Chu YW,

- Ramamurthy T, Pazhni GP, Bhattacharya SK, Watanabe H, Terajima J, Arakawa E, Ratchtrachenchai OA, Huttayananont S, Ribot EM, Gerner-Smidt P, Swaminathan B; for the Vibrio parahaemolyticus PulseNet PFGE Protocol Work Group. Evaluation and Validation of a PulseNet Standardized Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocol for Subtyping *Vibrio parahaemolyticus*: an International Multicenter Collaborative Study. J Clin Microbiol. 46 (8):2766-2773 (2008).
- (4) Tokunaga, A., Yamaguchi, H., Morita, M., Arakawa, E., Izumiya, H., Watanabe, H., and Osawa, R. Novel PCR-based genotyping method, using genomic variability between repetitive sequences of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 El Tor and O139. Molecular & Cellular Probes 24 (2):99-103 (2010)
- (5) Morita M., Ohnishi M., Arakawa E., Yamamoto S., Nair G.B., Matsushita S., Yokoyama K., Kai A., Seto K., Watanabe H., Izumiya H. Emergence and genetic diversity of El Tor *Vibrio cholerae* O1 that possess classical biotype *ctxB* among travel-associated cases of cholera in Japan. J. Med. Microbiol. 59: 708-712. (2010)
- (6) Aoyama I, Uno K, Yumisashi T, Takasaki T, Lim CK, Kurane I, Kase T, Takahashi K. A case of chikungunya fever imported from India to Japan, follow-up of specific IgM and IgG antibodies over a 6-month period. Jpn J Infect Dis;63 (1):65-6 (2010).
- (7) Bazartseren B., Inoue S., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D., Sugiura N., Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., Kotaki A., and Yamada A. Molecular Epidemiology of Rabies Virus in Mongolia, 2005-2008. Jpn. J. Infect. Dis. 63: 358-363. (2010)
- (8) Bazartseren B., Inoue S., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D., Sugiura N., Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., Kotaki A., and Yamada A. Molecular Epidemiology of Rabies Virus in Mongolia, 2005-2008. Jpn. J. Infect. Dis. 63: 358-363. (2010)
- (9) Somboon, P., Rory, A., Tsuda, Y., Takagi, M. and Harbach, R. E. Systematics of *Anopheles (Cellia) yaeyamaensis* sp. n., alias species E of the *An. minimus* complex in southeastern Asia (Diptera: Culicidae). Zootaxa 2651: 43-51. (2010)