

図 1. 採水地点

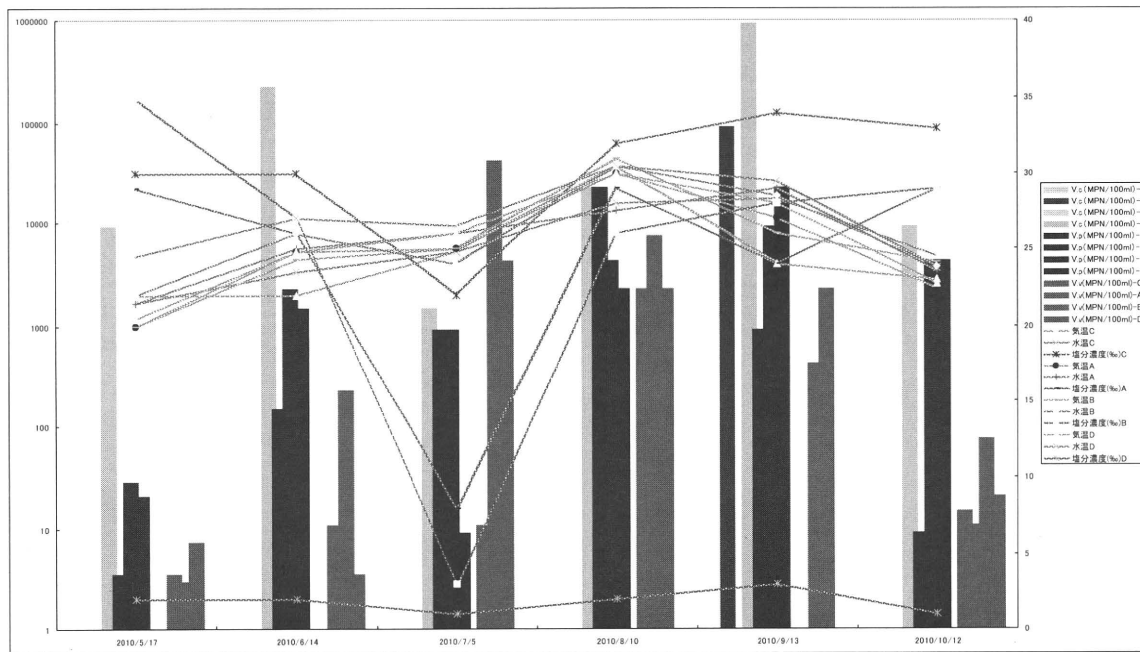


図 2. Vc, Vp, Vv 検出と環境因子の変化。

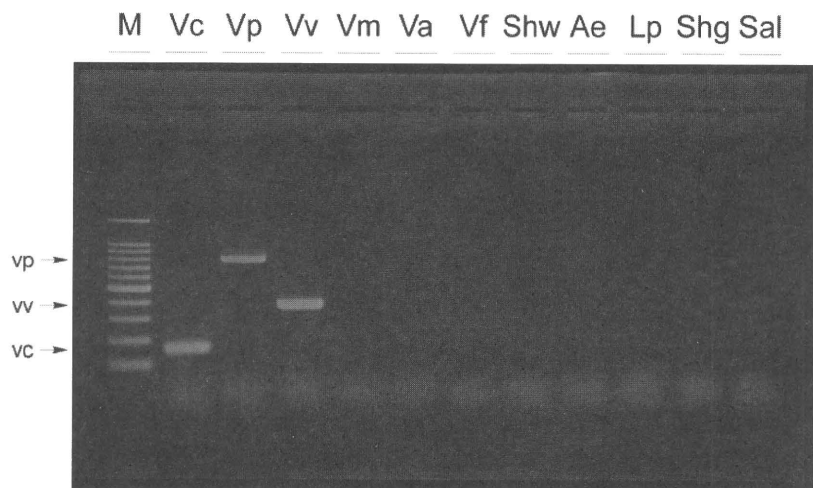


図 3. *atpA* 遺伝子配列の多型性に基づくマルチプレックス PCR。標的微生物である Vc, Vp, Vv を特異的に認識し、他のビブリオ属菌 (Vm, *V. mimicus*; Va, *V. alginolyticus*; Vf, *V. fluvialis*)、環境細菌 (Shw, *Shewanella* sp.; Ae, *Aeromonas* sp.; Lp, *Listonella* sp.)、ならびに腸内細菌科細菌 (Shg, *Shigella* sp.; Sal, *Salmonella* sp.) は認識しない。

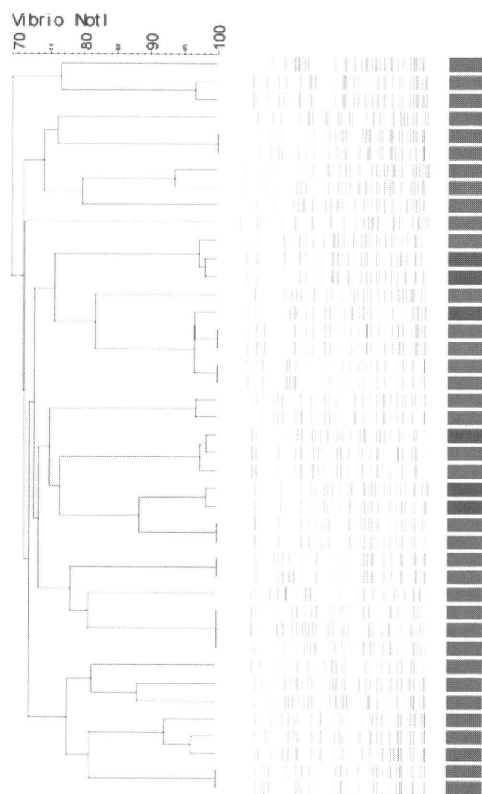


図 4. Vc 分離株の PFGE クラスタ解析。

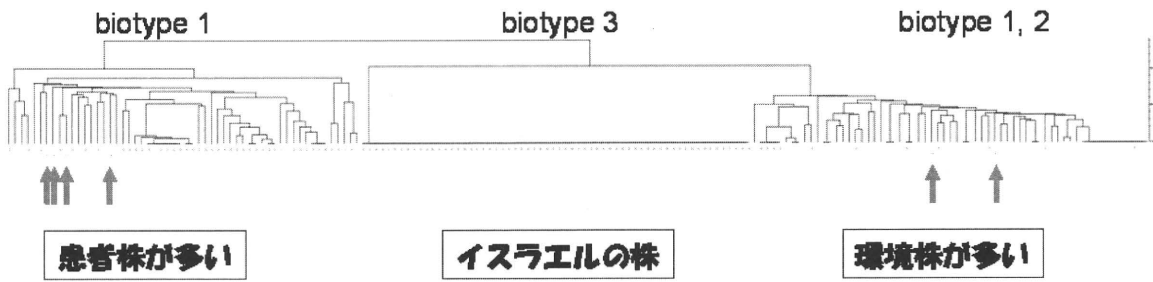


図 5. Vv 分離株の MLST 解析。矢印は本研究で分離された環境株。

厚生労働科学研究費補助金（平成 22 年度新興再興感染症研究事業）

分担研究報告書

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

### 地球温暖化と寄生虫感染症

研究分担者	大前 比呂思	国立感染症研究所 寄生動物部
研究協力者	山崎 浩	国立感染症研究所 寄生動物部
	杉山 広	国立感染症研究所 寄生動物部
	赤尾 信明	東京医科歯科大学 国際環境寄生虫学
	當眞 弘	琉球大学医学部 地域環境医学

**研究要旨** 現在国内に分布する広東住血線虫は、1930年代に台湾から沖縄に持ち込まれ、西日本の太平洋岸を中心に拡散したとされるが、詳細は不明である。今後の気候変化によるさらなる国内での拡散を予測するには、過去の侵入拡散経路の検討が不可欠であり、今年度は、今までに採取された広東住血線虫の分子系統解析を試みた。核リボソームDNAのITS2領域とミトコンドリアDNAのCO1領域の分子系統解析を行ったところ、首都圏と奄美大島の個体間、沖縄本島と小笠原の個体間、仙台と名古屋の個体間で、両領域の解析結果はともに完全に一致した。決定した配列と、Gene bankに登録されている遺伝子配列情報を元に、近隣接合法による系統樹を作成したところ、首都圏-中国広東省・浙江省グループ、那覇-小笠原-タイ-フィリピン-ハワイ-フロリダ-ブラジル-カナリア諸島グループ、仙台-名古屋-福建省グループの3つのクレードが形成された。日本国内への広東住血線虫の侵入と拡散には、複数の経路が関与している可能性が高い。また、日本で最も広東住血線虫症の報告数が多い沖縄県での広東住血線虫性髄膜炎の発生と、最近の気候変化の関連について検討したが、直接の相関関係は認められなかった。さらに、本州においては、中間宿主として重要なスクミリンゴカイの生息地調査を北関東地方で行ったが拡大傾向は指摘されなかった。

#### A. 研究目的

気候変化と寄生虫症の蔓延については、従来マラリアを中心に研究が進められてきたが、最近では、蠕虫を含む他の寄生虫についても、研究対象がひろがってきた。今年度は、最近の気候変化に伴って、日本国内において分布域の拡大が疑われる広東住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) について、調査を行った。

広東住血線虫は家住性ネズミを終宿主とする寄生虫で、中間宿主であるアフリカマ

イマイやナメクジなどの軟体動物内の感染幼虫がヒトに侵入すると、激しい頭痛を伴う脳脊髄膜炎を起こす人獣共通感染症である。東南アジア、太平洋諸島、オーストラリア、北米、インド、アフリカなど広範な地域に分布する。媒介効率が高い主要な中間宿主であるアフリカマイマイは、国内では沖縄県、鹿児島県奄美諸島、東京都小笠原諸島に生息しているが、広東住血線虫寄生ネズミは全国各地から報告されている。

現在日本国内に分布する広東住血線虫は、

1930年代に台湾から沖縄に持ち込まれ、西日本の太平洋岸を中心に拡散したとされる。今後、温暖化・気候変化によるさらなる国内での拡散を予測するには、今までの侵入拡散経路の詳細な検討が不可欠だが、今までそのような研究は殆どされてこなかった。そこで、本研究では、国内各地で採取された広東住血線虫ならびに東南アジア各国の研究者の協力によって得られた虫体での系統解析で、日本への侵入と拡散の過程を推測した。

また、広東住血線虫による髄膜炎の発生数は、日本では、アフリカマイマイが多数生息する沖縄県が多いが、最近の温暖化傾向で、九州南部でもアフリカマイマイの生息が認められている。一方、アフリカマイマイの生息しない本土の他の地域でも、本線虫の定着が報告され、スクミリンゴカイなど他の中間宿主による感染拡大が懸念されている。アフリカマイマイやスクミリンゴカイは、それ自体もイネなどに対する病害動物であり、その生息状態の確認は重要である。そこで、沖縄県での発生数と気候変化との関連を検討するとともに、ベクター生息状況の現状調査を行うこととした。

## B. 研究方法

国内で採取された広東住血線虫ならびに東南アジア各国の研究者の協力によって得られた虫体を用いて、核リボソーム DNA の ITS2 領域とミトコンドリア DNA の CO1 領域の分子系統解析を行い、本虫の地理的変異および系統関係の解析を試みた。解析には、

東京都港区および小笠原村、千葉県千葉市、神奈川県川崎市、沖縄県那覇市および南城市、宮城県仙台市、愛知県名古屋市、鹿児島県奄美大島市、中華人民共和国広東省、福建省、浙江省、台湾台中市、タイ国バンコク市の家住性ネズミあるいは軟体動物から得た成虫あるいは第 3 期幼虫を用いた（表 1）。虫体は DNA 抽出後、PCR 法で目的の領域を増幅し、ダイレクトシーケンシングにより配列を決定した。分子疫学的核リボソーム DNA の ITS2 領域とミトコンドリア DNA の CO1 領域の分子系統解析を行い、本虫の地理的変異および系統関係の解析を試みた。

さらに、沖縄県での今までの発症例を中心に、気候変化との関係について再検討した。また、1980年代に本州を中心に生息地の拡大が指摘された、スクミリンゴカイについて、茨城県・福島県を中心に生息調査を行った。

## C. 研究結果

ダイレクトシーケンシングにより配列を決定、解読した ITS2 領域は 600-620bp で、CO1 領域は 381bp であった。解析した地域のうち、首都圏と奄美大島の個体間、沖縄本島と小笠原の個体間、仙台と名古屋の個体間では、それぞれ ITS2 の結果および CO1 の結果はとも完全に一致した（図 1）。決定した配列と、Genebank に登録されている遺伝子配列情報を元に、近隣接合法による系統樹を作成したところ、首都圏-中国広東省・浙江省グループ、那覇-小笠原-タイ-フィリ

ピン-ハワイ-フロリダ-ブラジル-カナリア  
諸島グループ、仙台-名古屋-福建省グル  
ープの3つのクレードが形成された(図2)。  
また、C01のアライメント結果を用いて  
Parsimony network 解析を行ったところ、  
首都圏-中国広東省・浙江省のクレードは那  
覇-小笠原-タイのクレードと系統的な近縁  
関係が示唆されたが、仙台-名古屋-福建省  
のクレードとはネットワークを形成せず、  
両者とはかなり離れた系統関係にあること  
が示唆された。

広東住血線虫症は、沖縄県でも年間の発  
生数は2-3例程度で、本来比較的稀な寄生  
虫疾患である。しかし、2000年1月にはほ  
ぼ同時に、7例が発症している。そこで、  
その時の集団発生と気候変化の関係につ  
いて検索したところ、特にその年の1月の平  
均気温が高かったという傾向はみられな  
かった(図3, 4)。また10月には、従来、  
スクミリンゴカイの生息の北限とされてき  
た、茨城県北部と福島県南部の太平洋側の  
稲刈り後の水田で、陸生貝の生息調査を行  
ったが、生息は確認されなかった。

#### D. 考察

国内外で採取した広東住血線虫で決定し  
た配列と、Gene bankに登録されている遺  
伝子配列情報を元に、近隣接合法による系  
統樹を作成したところ、日本国内では、3  
つの異なったクレードが形成された。従来、  
台湾-沖縄-九州という侵入拡散経路だけ  
ではなく、中国や台湾から、直接、港湾の  
ある大都市部に侵入する複数の経路が考えら

れた。

最近の温暖化傾向は、沖縄でも明らかだ  
が、1996年1月の広東住血線虫症の集団発  
生と温度変化との間には、直接の相関はみ  
られなかった。従来は中間宿主の摂取が原  
因で発症した例がほとんどであったが、最  
近の症例の特徴としてはサラダなどの生野  
菜の摂取が疑われているが、感染源が不明  
な例が多い。もともと亜熱帯地域で、広東  
住血線虫及びアフリカマイマイが定着して  
いる沖縄県では、気温上昇に伴い発生数が  
増加したのではなく、汚染された野菜の流  
通と摂取により、偶発的にほぼ同時に報告  
例が増えた可能性が示唆された。

また、スクミリンゴカイの生息調査につ  
いては、茨城県以北での生息は確認されず、  
地表温度が $-4^{\circ}\text{C}$ 以下になると、数日間で  
死滅するスクミリンゴカイについては、冬  
季の最低気温が著しく上昇しない限り、生  
息地が大きく拡大する可能性については乏  
しいと推測された。

#### E. 結論

採取された広東住血線虫の遺伝子配列と  
Gene bankに登録されている遺伝子情報を  
元に、近隣接合法による系統樹を作成した  
ところ、日本国内では、3つの異なったク  
レードが形成された。広東住血線虫は、従  
来考えられていた、台湾-沖縄-九州という  
侵入拡散経路だけではなく、中国や台湾か  
ら、直接、港湾のある大都市部に侵入して  
きた可能性も大きい。

沖縄における広東住血線虫症の発生と、

気温変化との間には、直接の関係は認められなかった。また、本州における、中間宿主として重要なスクミリンゴカイの生息拡大も指摘されなかった。

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表

1 論文発表

Umehara, A., Kawakami, Y., Ooi, H.-K., Uchida, A., Ohmae, H. and Sugiyama, H. Molecular identification of *Anisakis* type I larvae isolated from hairtail fish off the coasts of Taiwan and Japan. International Journal of Food Microbiology, 143, 161-165, 2010.

2. 学会発表

Umehara, A., Kawakami, Y., Ooi, H.-K., Uchida, A., Ohmae, H. and Sugiyama, H. Molecular identification of *Anisakis* type I larvae isolated from hairtail fish off the coasts of Taiwan and Japan. International Congress of Parasitology (ICOPA XII), Melbourne, 15-20 August 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特許取得    なし

表 広東住血線虫の調査・分子系統解析

国 地域	中間宿主	終宿主
<b>日本</b> 東京 (港区) 小笠原諸島 (母島・父島) 千葉 (千葉) 神奈川 (川崎) 宮城 (仙台) 愛知 (名古屋) 鹿児島 (奄美大島) 沖縄 (那覇・南城)	アフリカマイマイ(20)  チャコウラナメクジ(3)  アフリカマイマイ(1)	ドブネズミ(1) ドブネズミ(10)  ドブネズミ(2) ドブネズミ(2) クマネズミ(2) ドブネズミ(3)
<b>中華人民共和国</b> 広東省 (深圳) 福建省 (福州) 浙江省 (温州)		ドブネズミ(2) ドブネズミ(2) ドブネズミ(2)
<b>台湾</b> (台中) <b>タイ</b> (バンコク)		ドブネズミ(2) ラット(1)



図1 国内に分布する広東住血線虫の種内変異

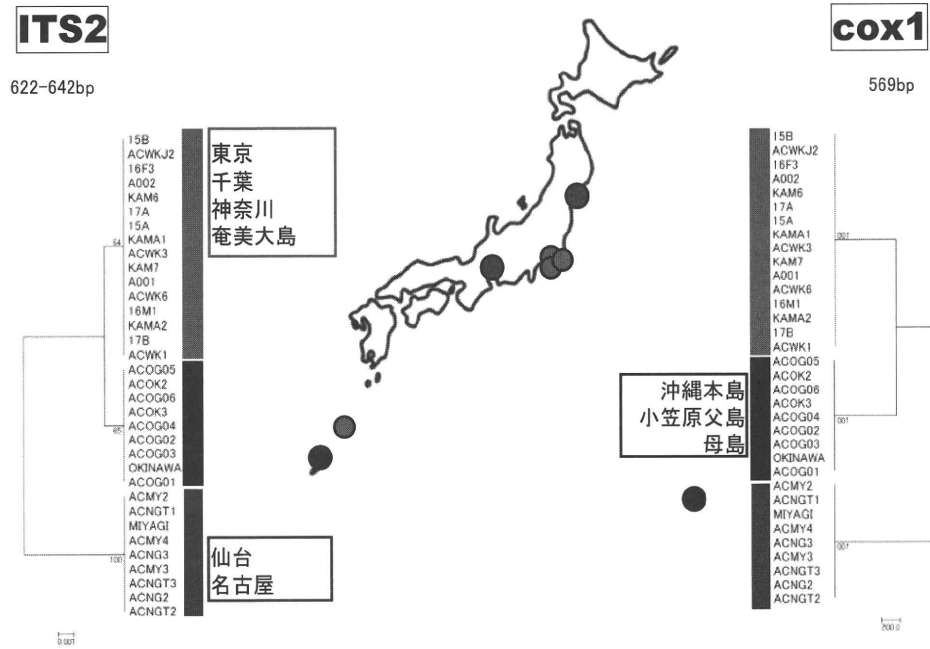


図2 東南アジアに分布する広東住血線虫との比較

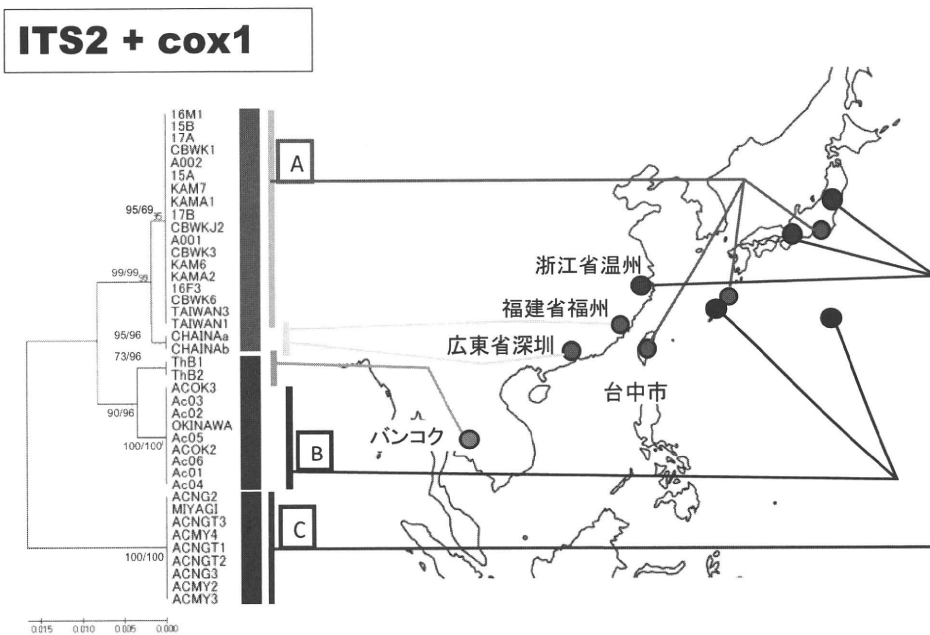


図3 沖縄県における広東住血線虫症の発生状況の変化

年平均気温変化との関係

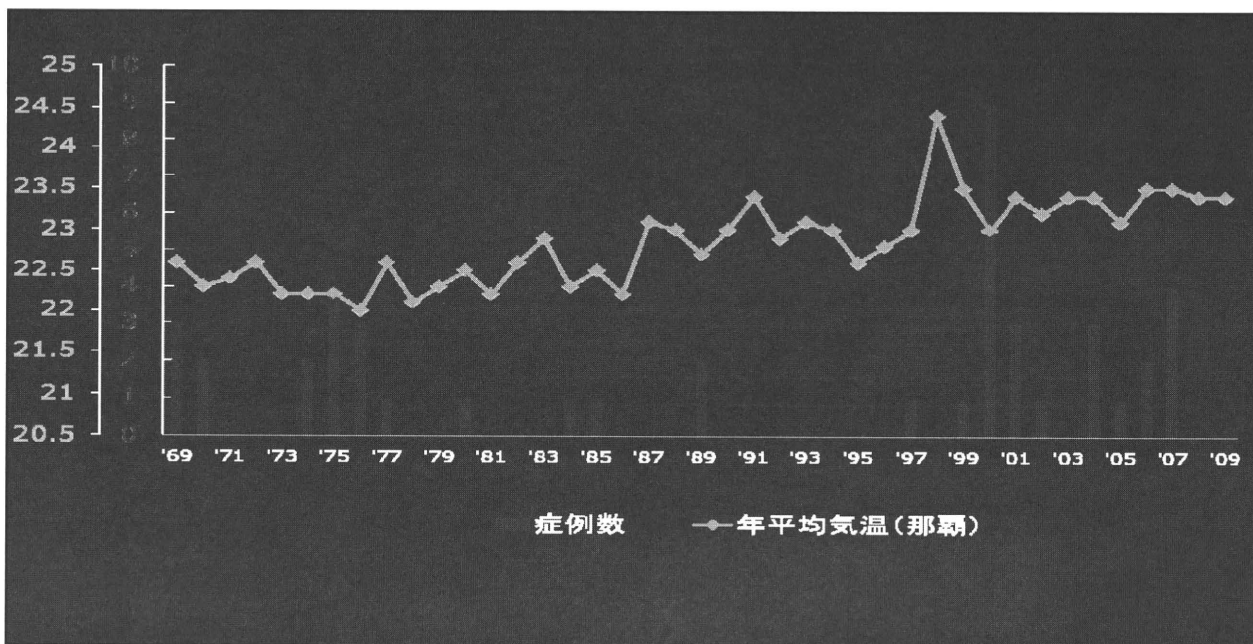
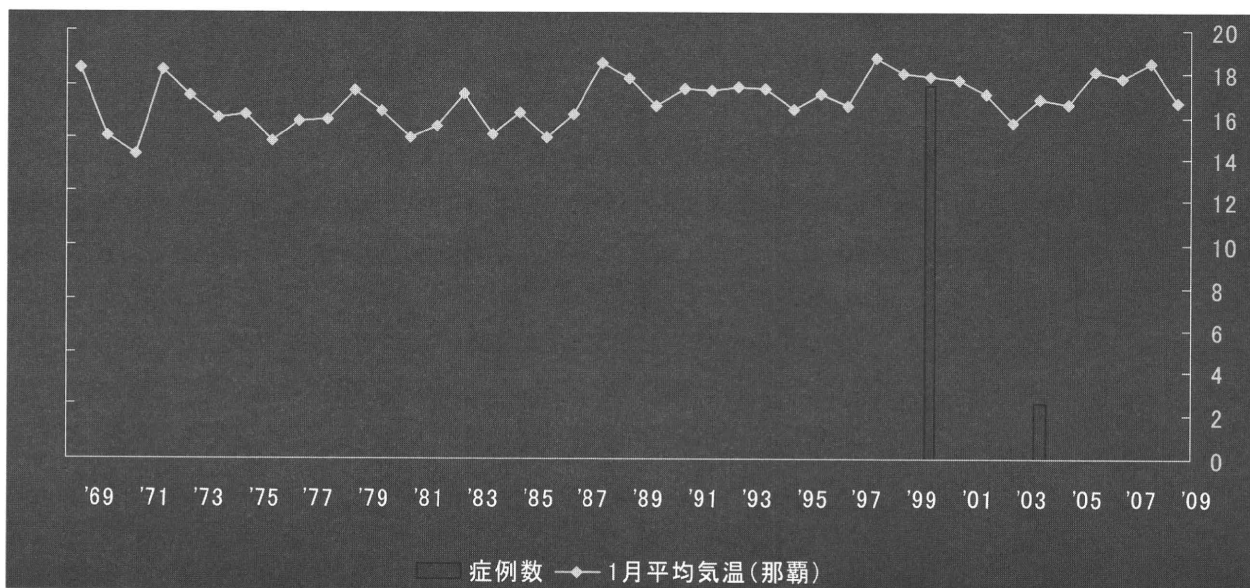


図4 沖縄県における広東住血線虫症の発生状況変化

各年1月の発生数と月平均気温の推移



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）  
分担研究報告書

環境の変化による病原真菌の動態と深在性真菌症の発病に関する解析

研究分担者 宮崎義継（国立感染症研究所 生物活性物質部）  
研究協力者 大野秀明、田辺公一（国立感染症研究所 生物活性物質部）  
Trepradab Norkaew、Pojana Sriburee（チェンマイ大学医学部  
微生物学教室）  
前田 健（山口大学農学部獣医微生物学）  
鈴木和男（和歌山県ふるさと自然公園センター）

**研究要旨** 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るが、地球温暖化によりその生息地域の拡大、活動性の上昇が懸念されている。わが国ではヒストプラズマ属の存在は以前から疑われてはいるものの、その証明はなされていない。我々の検討の結果、環境検体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生息が示唆された。この結果は、疫学的のみならず日本における公衆衛生学的にも極めて重要な知見であると考えられる。一方、ヒストプラズマ症の流行地域であるタイではその感染源についての報告はほとんどないが、我々の検討から他の流行地と同様にコウモリの堆積糞を含む土壌に関わっていることが示唆された。今後の感染経路の解明に重要な情報となりうるものと考えられる。

A. 研究目的

地球の温暖化に伴い感染拡大が危惧される感染症のうち、深在性真菌症としてはヒストプラズマ症、高病原性クリプトコックス症などが考えられる。ヒストプラズマ症はわが国においては輸入真菌症とされ、米国のミシシッピ川流域や東南アジア、オーストラリア、中南米のなかの温暖な地域がおもな流行地域であるが、地球の温暖化はヒストプラズマ属の生息・活動地域拡大をもたらす可能性がある。

ヒストプラズマ属は健常者にも播種性感染症を起こすこともある病原性の強い真菌である。わが国でヒストプラズマ症と診断あるいは疑われた患者は中南米や北米、東南アジアで感染したと考えられる例が大多数であるが、約 15%では明らかな海外渡航歴がないとされる。また、近年わが国の犬や猫のヒストプラズマ症が報告されるなど、日本におけるヒストプラズマ属の存在が以前より示唆されているが、わが国の環境からヒストプラズマ属の検出・分離培養に成功した報告はない。

一方、東南アジアにおいてヒストプラズマ症は年間を通じて発生が認められ、また HIV 感染者に合併する感染症として認識されているが、その感染源ならびに環境中のヒストプラズマ属のリザーバーが何であるか未解明な点が多い。

このような背景のもと、本年度も引き続きわが国の環境中でのヒストプラズマ属生息の可能性についての検討と、東南アジアにおけるヒストプラズマ症の感染源、ヒストプラズマ属リザーバーの検出について検討を行い、今後のヒストプラズマ症対策に資することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. PCR 法を用いた *Histoplasma capsulatum* 遺伝子の検出系作成.

*H. capsulatum* 遺伝子検出用 PCR 法の標的遺伝子として昨年度報告した M antigen 遺伝子のほか、新たに 100-kDa 蛋白遺伝子 (Bialek R et al. J Clin Microbiol 40: 1644-7, 2002) を標的とし、これを用いた nested PCR 法を行った。PCR 条件等は昨年度の報告書に記載した条件で行った。なお増幅産物については、direct sequence 法により 2 本鎖両方向から塩基配列を確認した。

### 2. 自然環境からのヒストプラズマ属検出の検討.

日本における対象検体は昨年度の報告書に記載したとおりである。一方、今回はタイ・チェンマイ地方における環境検体からの検出も検討した。タイの検体はチェンマイ大学チームが中心となり採取し、チェンマイの北にある 2 つの洞窟からコウモリの堆積糞を含んだ土壌が採取された。

### a. PCR 法

堆積糞と土壌約 15g を 50 ml チューブに移し、適量の PBS (penicillin 50 µg/ml、streptomycin 50 µg/ml を含む) に懸濁後ボルテックスを使い十分に混和し、60 分室温で静置した。その後遠心し、上清を 100 µl を採取し滅菌チューブに入れ、等量の lysis buffer と混和した。次に、proteinase K を終濃度 60µg/ml となるように加え、55°C で 60 分 incubate し、さらに 95°C で 10 分間加熱した。その後、Westase™ (Takara) 処理を行い、phenol-chloroform 法で DNA を抽出し、エタノール沈澱を行い、最終的に 50 µl の TE buffer に溶解し、その 10 µl を PCR 法に供した。

### b. 真菌分離培養法

2. で採取した堆積糞と土壌を PBS (クロラムフェニコール 50 µl/ml、0.05% tween 80) に懸濁し、PCR 用サンプル調整と同様に混和後、静置した。軽く遠心した後、その上清を 100 µl を BHI 寒天培地に接種し、30°C で 8 週間培養を行った。

### c. マウス腹腔内接種法による分離培養法

現在までに報告されている方法 (Am J Trop Med Hyg 69: 663-669, 2003) に準じて行った。具体的には、3. と同様に処理した PBS 上清 1 ml を 9 週令、メスの ICR マウス腹腔内に接種した。接種後 8 週目にマウスを屠殺後、肝臓、脾臓を摘出し、生理食塩水に懸濁したものをホモジネートした。この溶液の適量を BHI 寒天培地に接種し、30°C で 4 週間培養を行った。

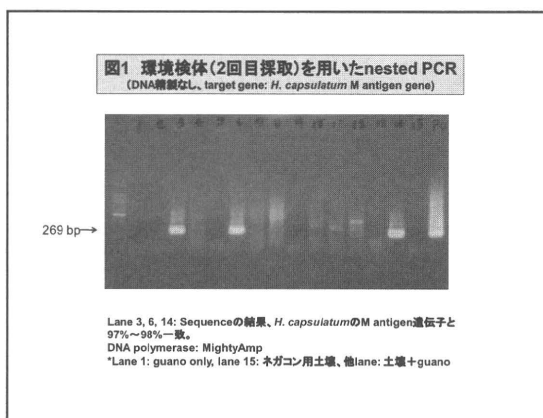
なお、上記検討はわが国で採取した検体については国立感染症研究所で、タイで採取された検体はチェンマイ大学微生物学教室で、双方同じプロトコールを用いて検討した。

### C. 研究結果

#### 1. 自然環境からのヒストプラスマ属検出の検討

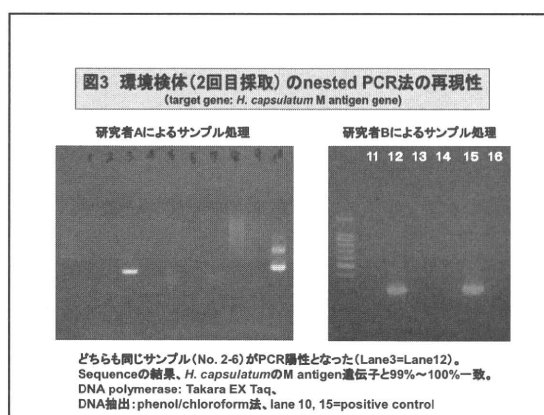
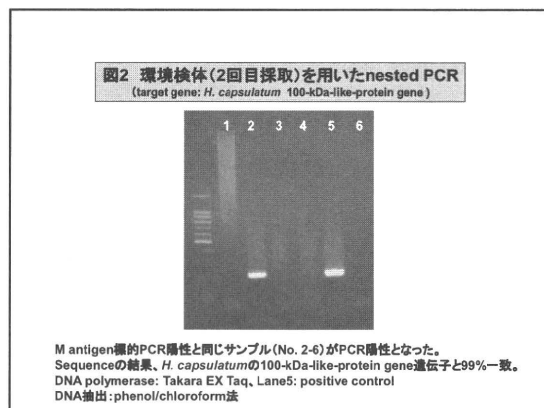
(日本で採取された検体での検討)

昨年度の検討で、調査対象とした地点で採取された検体のうち、一つのサンプルがヒストプラスマ属 PCR 法陽性の結果となったことはすでに報告した。今年度は、同じ対象地点で 2 回目のサンプル採取を行い、同様に検討した。その結果、採取した 14 検体中 3 検体 (#3、#6、#14) が M antigen 遺伝子を標的とした PCR 法で陽性を示した (図 1)。



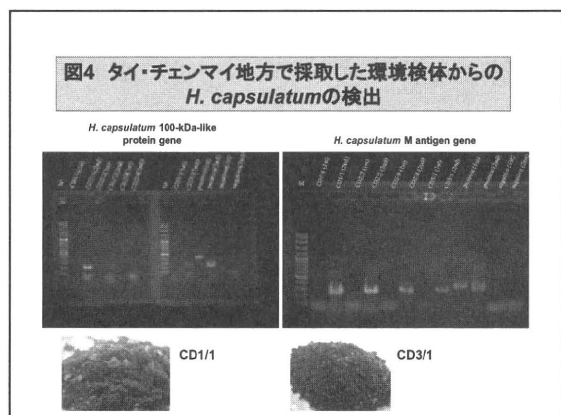
さらに、この増幅産物の塩基配列を確認したところ、*H. capsulatum* の遺伝子と 98% の一致率であった。一方、100-kDa 蛋白遺伝子を標的とした PCR 法では先の 3 検体のうち 1 検体 (#6) が陽性を示し、塩基配列の確認で、*H. capsulatum* の遺伝子と 99% の一致率が認められた (図 2)。また、この PCR 法の結果は違う日に処理した検体からも再

現性をもって認められた (図 3)。



(タイで採取された検体での検討)

今回の検討では、Chiang Dao Cave、Pha Dang Cave の 2 か所から、複数のコウモリの堆積糞を含む土壌検体が採取された。Chiang Dao Cave の検体では 21 検体中 4 検体が、Pha Dang Cave の検体では 28 検体中 3 検体が M antigen 遺伝子、100-kDa 蛋白遺伝子を標的とした両 PCR 法で陽性を示した (図 4)。また増幅産物の塩基配列は *H. capsulatum* のそれぞれの遺伝子と 95~98% の一致率が確認された。



## 2. 環境サンプルからの *in vitro* *H. capsulatum* 分離培養法

*H. capsulatum* 検出用PCR法が陽性であった検体のPBS懸濁液上清を1検体あたり約60枚のBHI寒天培地に接種したが、明らかな*H. capsulatum*の発育は観察されなかった。また、タイで採取された検体を用いた分離培養でも菌の発育は認められなかった。

## 3. マウス腹腔内接種法による分離培養法

日本で採取された検体のうち、PCR法が陽性を示した検体のみを供試した。1検体当たり3匹のマウスの腹腔に懸濁液上清を接種したが、現時点まで明らかな*H. capsulatum*の発育は認めていない。なお、タイのサンプルについては現在接種が終わり、検討を継続している。

## D. 考察

ヒストプラズマ症は健常人にも認められる深在性真菌症であるが、HIV感染者など免疫不全者に合併すると容易に播種し、致死率が25~80%にも達すると報告されている。また、米国では深在性真菌症のなかで

も罹患者が多い感染症であり、感染者は毎年50万人にも及ぶとされている。

ヒストプラズマ属は一般的に土壤中に生息しており、コウモリや鳥の糞などで活発に発育し、そこから空气中に散布された胞子を吸入することで経気道的にヒトに感染すると考えられている。このため、汚染地域での集団感染もしばしば報告されている。一方、その生息域は世界的に広範囲であり、日本近辺でも台湾でもその存在が疑われている。一方、わが国の土壤等からヒストプラズマ属菌が分離された報告は未だないが、本症と診断された症例には海外渡航歴のない例も散見されるため、ヒストプラズマ属の国内生息が以前から疑われている。地球温暖化とこのようなヒストプラズマ症の背景を考え合わせた場合、将来的に日本に生息しているヒストプラズマ属の活発化や生息地域拡大により、わが国におけるヒストプラズマ症の国内感染事例の増加が懸念される。この様な背景から、本研究では日本やタイでのヒストプラズマ属の検出ならびに生息状況の調査を目的とした。

調査対象地域としてはコウモリの生息を第一の条件として、現在まで同様の調査がなされていない地域とし、寄せられた情報をもとに選定した。今回の検討では、PCR法のみではあるが、ヒストプラズマ属特異的な2種類のPCR法で陽性結果が得られるなど、ヒストプラズマ属が日本でも生息しているのは確実であろうと考えている。これに関して、真菌一般を検出するPCRを用い増幅産物の塩基配列を確認する方法も行ったが、この検討でもヒストプラズマ属の遺伝子断片が確認されている。我々の結果は、客観的なデータにより、ヒストプラス

マ属が日本の環境中に生息している可能性を示したはじめての報告となるものである。一方、我々の検討では未だ培養での菌体の証明はできていないが、検体中の菌の生死や、活動性が関与していると考えられる。またマウスの腹腔内接種法による培養法も、マウスの免疫能によって排除された可能性も否定できないため、今後改良した方法で行う予定である。またタイで採取された検体を用いた検討でも、日本での検討と同様、PCR法では陽性が得られたが、分離培養法では菌体の証明が困難であったことは、本菌の培養の難しさを証明するとともに、PCR法の有用性を示す結果であろうと考える。

タイ・チェンマイ地域では毎年4~6名程度の培養陽性のヒストプラズマ症が発生しているが、培養陽性率からみると実数は数十例の患者が発生していると考え、感染源について検討した報告はない。我々の検討から、これらヒストプラズマ症の感染源としてコウモリの堆積糞がリザーバーとして関与していることが示され、今後この地域での対策に貢献できるものとする。

我々の検討結果は公衆衛生学的にも極めて重要な問題を提示するため、今後更なる検討が加えられることを期待する。

## E. 結論

1. 地球温暖化により問題となる真菌症と考えられるヒストプラズマ症について、ヒストプラズマ属の日本における生息を調査した結果、菌の発育は認められなかったが、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。

2. タイにおけるヒストプラズマ症の感染源について、コウモリの堆積糞がリザーバーとして関与していることが推測された。

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kohno S, Izumikawa K, Ogawa K, Kurashima A, Okimoto N, Amitani R, Kakeya H, Niki Y, Miyazaki Y; Japan Chronic Pulmonary Aspergillosis Study Group (JCPASG). Intravenous micafungin versus voriconazole for chronic pulmonary aspergillosis: a multicenter trial in Japan. *J Infect.* 61(5):410-8, 2010.
2. Kaneko Y, Ohno H, Kohno S, Miyazaki Y. Micafungin alters the expression of genes related to cell wall integrity in *Candida albicans* biofilms. *Jpn J Infect Dis.* 63:355-357, 2010.
3. Miyazaki T, Yamauchi S, Inamine T, Nagayoshi Y, Saijo T, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Roles of calcineurin and *Crz1* in antifungal susceptibility and virulence of *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother* 54(4): 1639-43, 2010
4. Miyazaki T, Inamine T, Yamauchi S, Nagayoshi Y, Saijo T, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Role of the Slr2 mitogen-activated protein kinase pathway in cell wall integrity and virulence in

- Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 10(3):343-52, 2010
5. Kaneko Y, Ohno H, Fukazawa H, Murakami Y, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. Anti-Candida-biofilm activity of micafungin is attenuated by voriconazole but restored by pharmacological inhibition of Hsp90-related stress responses. Med Mycol. 48(4):606-12, 2010.
  6. Hoshino Y, Fujii S, Shinonaga H, Arai K, Saito F, Fukai T, Satoh H, Miyazaki Y, Ishikawa J. Monooxygenation of rifampicin catalyzed by the *rox* gene product of *Nocardia farcinica*: structure elucidation, gene identification and role in drug resistance. J. Antibiot. 63:23-8, 2010
  7. Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. Intern Med 49:491-495, 2010.
  8. 河野 茂、二木芳人、網谷良一、小川賢二、倉島篤行、宮崎義継：肺アスペルギルス症に対する micafungin の臨床効果。日本化学療法学会誌 58, 128-139. 2010
2. 学会発表
- 1) 梅山 隆、大野秀明、棚町千代子、橋本好司、佐川公橋、田辺公一、山越 智、宮崎義継。福岡県筑後地区周辺におけるクリプトコッカス症多発発生例の疫学的検討。第 22 回日本臨床微生物学会総会、岡山 (2011 年 1 月)
  - 2) 筋野恵介、樽本憲人、山口敏行、前崎繁文、大野秀明、宮崎義継。ミカファンギン低感受性 *Candida famata* および *fermentati* 血症の 3 例。第 59 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京 (2010 年 10 月)
  - 3) 田辺公一、大野秀明、山越 智、宮崎義継。タイにおける自然環境からの *Histoplasma capsulatum* の検出に関する検討。第 59 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京 (2010 年 10 月)
  - 4) 金子幸弘、大野秀明、宮崎義継。抗真菌薬投与下における *Candida* バイオフィルムのキチン合成・分解酵素遺伝子発現調節。第 54 回日本医真菌学会総会、東京、(2010 年 10 月)
  - 5) 若山 恵、大久保陽一郎、篠崎 稔、中山晴雄、蜜田亜希、大野秀明、宮崎義継、中谷行雄、亀井克彦、渋谷和俊。In situ hybridization を用いたヒトヒストプラズマ症の組織診断の検討。第 54 回日本医真菌学会総会、東京 (2010 年 10 月)
  - 6) 山越 智、橋本ゆき、梅山 隆、田辺公一、金子幸弘、大野秀明、宮崎義継。 *Aspergillus fumigatus* 分泌蛋白質 Y-1 を標的とした ELISA 検出系の構築と病原性の検討。第 54 回日本医真菌学会総会、東京 (2010 年 10 月)
  - 7) 高園貴弘、泉川公一、行徳 宏、池田直樹、神田哲郎、宮崎泰可、関 雅文、掛屋 弘、山本善裕、柳原克紀、大野秀明、矢口貴志、宮崎義継、亀井克彦、河野 茂。



軽症の糖尿病患者に発症した *Aspergillus udagawae* による気管支アスペルギルス症の 1 例. 第 54 回日本医真菌学会総会、東京 (2010 年 10 月)

8) 宮崎義継、山越 智、金子幸弘、福田恵子、田辺公一、梅山 隆、大野秀明、金城雄樹. 真菌感染局所におけるヒト線維芽細胞の線維化と炎症への影響. 第 54 回日本医真菌学会総会、東京 (2010 年 10 月)

9) 田辺公一、名木 稔、山越 智、大野秀明、宮崎義継. 病原真菌 ABC タンパク質と機能阻害物質との相互作用部位の検討. 第 58 回日本化学療法学会総会、長崎 (2010 年 6 月)

10) 金子幸弘、今村圭文、大野秀明、河野 茂、宮崎義継. *Candida albicans* の biofilm に対する抗真菌薬の拮抗作用に関連した Hsp90 関連ストレス応答に関する検討. 第 58 回日本化学療法学会総会、長崎 (2010 年 6 月)

11) 名木 稔、田辺公一、山越 智、大野秀明、宮崎義継. 病原真菌 *Candida glabrata* におけるステロールトランスポーターの機能解析. 第 58 回日本化学療法学会総会、長崎 (2010 年 6 月)

12) 樽本憲人、金城雄樹、山越 智、大野秀明、宮崎義継. *Candida albicans* の細胞壁分泌蛋白抗体による in vitro 増殖抑制効果の検討. 第 58 回日本化学療法学会総会、長崎 (2010 年 6 月)

13) 宮崎義継、梅山 隆、田辺公一、大野秀明. ヒストプラスマ等のアウトブレイク型真菌症への対策. 第 31 回衛生微生物技術協議会、鹿児島 (2010 年 5 月)

14) 金子幸弘、大野秀明、河野 茂、宮崎義継. *Candida albicans* の抗真菌薬

治療抵抗性と Hsp90 関連ストレス応答. 第 84 回日本感染症学会総会、京都 (2010 年 4 月)

15) 乾佐知子、中村竜也、清水千裕、奥田和之、佐野 一、中田千代、藤本弘子、大倉ひろ枝、植村芳子、田辺公一、大野秀明、宮崎義継、高橋伯夫. *Candida glabrata* の薬剤感受性と micafungin 低感受性株の検出について. 第 84 回日本感染症学会総会、京都 (2010 年 4 月)

16) 田辺公一、大野秀明、宮崎義継. *Candida glabrata* のステロール取り込みと病原性の関係. 第 84 回日本感染症学会総会、京都 (2010 年 4 月)

20) Ohno H, Tanabe K, Kaneko K, Umeyama T, Yamagoe S, Miyazaki Y. Evaluation of two-stage PCR for diagnosis of Histoplasmosis. 12<sup>th</sup> Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases, Singapore (2010 年 12 月)

21) Norkaew T, Sriburee P, Takarn P, Tharavicitkul P, Tanabe K, Ohno H, Miyazaki Y. Detection of *Histoplasma capsulatum* in soil contaminated with bat guano by nested PCR. 12<sup>th</sup> Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases, Singapore (2010 年 12 月).

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

# 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

### 分担研究報告書

分担する研究項目：熱帯アジアにおける感染症と地球温暖化  
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 教授

#### 研究要旨

**目的：**本研究では、アジアにおける温暖化影響評価と予測のための疫学的・統計学的解析法の開発、温暖化研究ネットワーク構築と、温暖化影響解析手法の技術移転を目的とする。

**方法：**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協定を締結し、下痢症発生データに関して共同研究利用承認を得た。気象データベースに関しては、バングラデッシュ気象局と京都大学防災研究所の協力を得て研究利用可能とした。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行った。

**結果：**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。また、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。

**まとめ：**気象因子の変異は、病原細菌の増殖、人への暴露状況、人の栄養状態や免疫機能の変動を伴って、これらの現象を起こしているものと考えられる。疾病発生や病原微生物等の増殖に関わる因子について、気候変動との関連を明らかにする更なる研究が必要とされる。

#### A. 研究目的

これまでバングラデッシュでは、コレラの発生とベンガル湾の海水温の上昇などについて、特定の数年間についての研究は報告されてきたが、地上気象因子の変動との長期的関連をみる研究はなかった。

本研究では、アジアにおける温暖化影響評価と予測のための疫学的・統計学的解析法の開発、温暖化研究ネットワーク構築と、影響解析手法の技術移転を目的とする。

#### B. 研究方法

はじめに、バングラデッシュにおける地上気象因子が下痢疾患発生数に及ぼす影響について、気象データベースと疾病発生データベースを作成し、過去20年間にわたる量的エビデンスを計測することから開始した。

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協定を締結し、下痢症発生データに関して共同研究承認を得た。気象データベースに関しては、バングラデッシュ気象局と京都大学防災研究所の協力を得て研究利用可能とした。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。

さらに、胎児コホートや出生コホート研究により、気候変動による疾病発生が、早期栄養・

早期免疫プログラミングを通じて影響されているかの検証を行った。

（倫理面への配慮）

国際下痢症研究センター（ICDDR, B）の研究審査委員会及び倫理委員会に研究プロトコルを提出し、承認を得た。

#### C. 研究結果

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、はじめのピークは4月から5月にかけてで、2つ目のものは8月から10月にかけてであった。はじめのピークは1ヶ月のラグをもって気温上昇変動と相関するとともに、先行する冬の寒さにも関連していた（1°Cごとに16%の疾病発生数の上昇）。2つめのピークについては、ラグをもたず、同期間、特に雨季の後期に降った降雨量と関連していた（110mm/moごとに30%の疾病発生数の上昇）。

コレラ患者のみを分析した結果、平均雨量が45mmの閾値から、10mm増加するごとに患者数は14%（95%信頼区間：10.1%–18.9%）増加した。また、閾値以下の雨量においても、10mm減少するごとに24%（95%信頼区間：10.7%–38.6%）増加した。

バングラデシュにおいて、約5000人の妊婦-

胎児-小児コホートについて4.5歳児までフォローアップを完了した。妊婦とその子供の血液データからmicronutrientsに気象因子による影響が示唆された。

#### D. 考察

下痢症発生と気象因子の時系列分析によって、その関連性のパターンを同定することができた。また、その影響は、温度や雨量など、気象因子の絶対量と、その変動の両方に影響され、特にある閾値以上、もしくは以下では、下痢症患者数の増減の程度を数量化することが可能であった。水位のデータをモデル中に組み入れた後も、大きく雨量と下痢症発生の関係を変えることはなかった。これは、水位の上昇という現象は、降雨が特定以上となるあるパスウェイを示しているにすぎないことを示唆していると考えられる。

季節変動や年々変動にみられる変異は、病原細菌側の因子と、ヒト側の因子、たとえば発病率や重症化因子を考慮に入れなければならない。現在の疾病サーベイランス手法（医療施設による systematic sampling）での発生度の精度を上げるため、妥当性検定を実施することを考慮し、医療施設における疾病モニタリングと、地域罹患データの住民番号によるリンク構築の必要性について、共同研究機関と調整を行っている。これによって、アジアレベルでの標準化感染症サーベイランス手法についての改良と提案を行って行く予定である。

大洪水の前後のコレラとコレラ以外の下痢患者数の分析では、大洪水が特に影響を及ぼしたのは、圧倒的に低所得者層であった。水系感染においては、飲料水ソースや社会経済指標もモデルに組み入れて、地球温暖化インパクト測定モデルの改善を図る必要があると思われる。

出生コホートを用いた研究は、micronutrientsや免疫機能の気候変動との関連分析が進んでおり、感染症重症化の早期予防につながる示唆を得ることが期待される。

#### E. 結論

気象因子の変異は、病原微生物の増殖や人への暴露の変動を伴って、これらの現象を起こしているものと考えられる。病原微生物等の増殖因子について、気候変動との関連の明らかにするさらなる研究が必要とされる。気候変動は、食糧生産に大きな影響を与え、熱帯アジアの途上国においては、食糧セキュリティを低下させることが報告されている。このことは、すでに低栄養児の多い開発途上国において、一層問題を深刻にしている。この低栄養と感染症重症化の悪循環に対する地球温暖化影響インパクトに関して、明確なエビデンスを出してゆく必要がある。

#### F. 健康危険情報

該当せず。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし。

2. 学会発表

Hisamatsu M, Ma E, Wagatsuma Y. The effect of meteorological factors on fetal growth. チュニジア-日本 文化・科学・技術学術会議, チュニジア共和国, チュニス, 2010年11月30日.

Hisamatsu M and Wagatsuma Y. Temperature effect during pregnancy influenced on birth size -- an example of the use of Matlab HDSS, Bangladesh. 第1回 Health and Demographic Surveillance System(HDSS)研究会, 京都. 2010年11月28日.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当せず。

「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」  
—1978～2007年における中国・広東省のデングウイルス感染症発生状況と  
気象との関連性についての研究—

研究代表者： 倉根 一郎 国立感染症研究所・副所長  
研究分担者： 前田 秋彦 京都産業大学・教授  
研究協力者： 柯 昌文 中国・広東省感染症予防制御研究所・副所長  
Jiang Shu 中国・広東省感染症予防制御研究所・研究員

**研究要旨：**1978～2007年、中国・広東省では周期的にデングウイルス（DENV）感染症の流行が認められた。調査期間における患者数は顕著に減少した。1990年以前は、DENVの4つの血清型の内のいずれかの型の流行が認められたが、近年は1型が主流となっている。また、調査地である広州市の気象とデングウイルス感染症流行との相関は、相対湿度の低下や日射量の増加が本感染症の流行年と一致する傾向があった。

### A. 研究目的

中国・広東省では、日本脳炎やデング熱等の蚊媒介性フラビウイルス感染症の流行が毎夏報告されているが、これまで系統的な解析は行われていなかった。そこで本研究では、広東省におけるデング熱やデング出血熱等デングウイルス（DENV）感染症に関する近年の発生状況を調査するとともに、当該地の気象との関連について解析することを主たる目的とした。

### B. 研究方法

中国・広東省の1978～2007年におけるDENV感染症の疫学データと当該年度の気象データを共同研究者である中国・広東省感染症予防制御研究所の柯昌文博士とともに収集した。

（倫理面への配慮）

中国・広東省におけるDENV感染症データの収集においては、生命倫理の観点よりインフォームド・コンセント等を含め中国での倫理規定に則って行った。

### C. 研究結果

1. 中国・広東省の1978～2007年におけるDENV感染症の発生状況  
本省の1978～2007年におけるDENV感染

症の患者数を図1に示す。

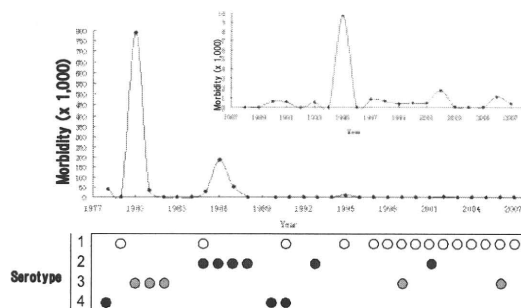


図1. 中国・広東省の1978～2007年におけるDENV感染症の発生状況

各年度のDENV患者数を記す（上段）。1997年以降の患者数の推移を上段右上に示す。また、各流行時に検出されたDENVの血清型を下図に記す。DENV1～4型を、それぞれ黄、赤、薄紫、黒丸として記す。

1980および1986、1995、2002年と6～10年間隔で比較的大きい流行が認められたが、患者数は顕著に減少していた。また1990年代半ばより、DENV1型の流行が主となっている（図1、下図）。

図2に、1978～2007年のDENV感染症の月別患者数を示す。比較的大きな流行（1980