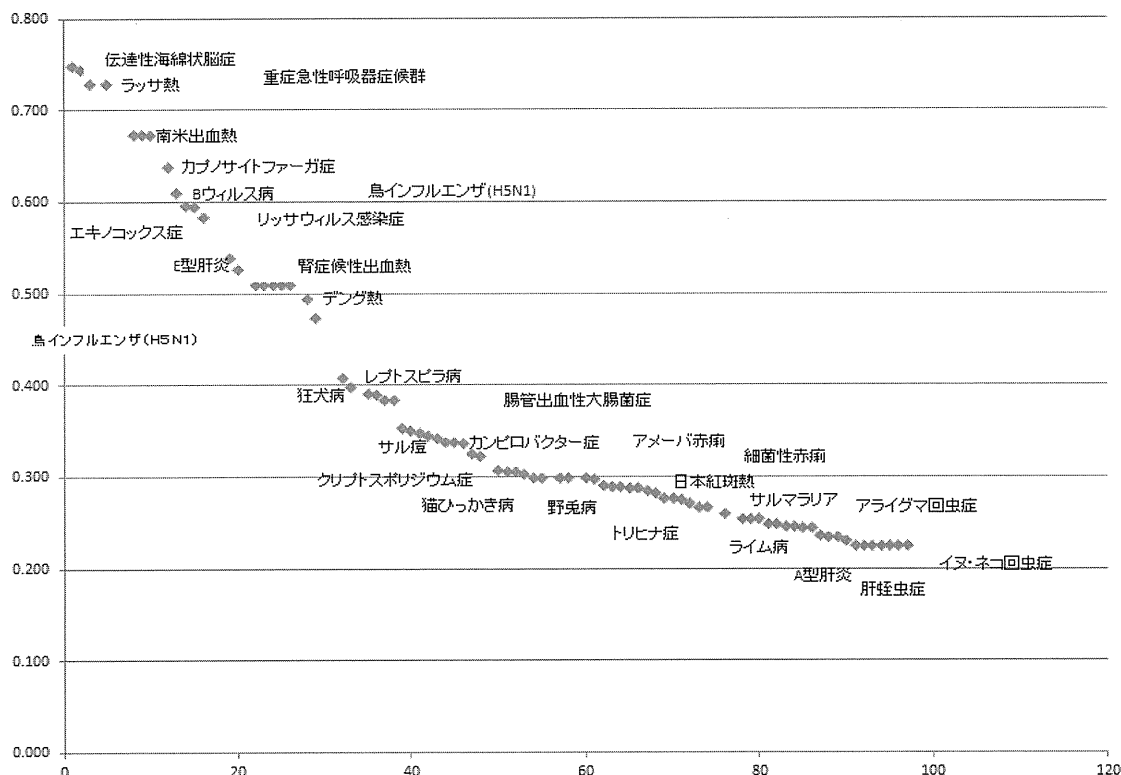


Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等

専門研究者による動物由来感染症の重要性序列化



動物由来感染症の重要度ポイント(階層分析法; Analytic Hierarchy Process による定量化)

感染症	評点	順位	感染症	評点	順位	感染症	評点
伝達性海綿状脳症	0.748	34	リンパ球性脈絡髄膜炎	0.395	67	エルシニア症・Y. enterocolitica	0.284
重症急性呼吸器症候群	0.744	35	狂犬病	0.391	68	シアルジア症	0.282
エボラ出血熱	0.728	36	腸管出血性大腸菌感染症	0.389	69	つづが虫病	0.276
マールブルグ病	0.728	37	回帰熱	0.384	70	日本紅斑熱	0.276
ラッサ熱	0.728	37	鼻疽	0.384	70	ニューカッスル病	0.275
ダニ媒介性脳炎	0.694	39	発疹チフス	0.353	72	エルシニア症・Y. pseudotuberculosis	0.271
ハンタウイルス肺症候群	0.675	40	水痘性口炎	0.350	73	サルマラリア	0.266
グリミア・コンゴ出血熱	0.672	41	サルモネラ症	0.348	74	Q熱	0.266
南米出血熱	0.672	42	サル痘	0.345	75	薑線虫症	0.266
ニパウイルス感染症	0.672	43	横川吸虫症	0.342	76	有鉤条虫症	0.260
東部馬脳炎	0.659	44	住血吸虫症	0.338	77	鼠咬症	0.255
カプノサイトファーガ症	0.638	45	カンピロバクター症	0.338	77	ライム病	0.255
Bウイルス病	0.609	46	オウム病	0.336	77	アライグマ回虫症	0.255
リッサウイルス感染症	0.596	47	アメーバ赤痢	0.325	77	鉤虫症(セイロン鉤虫)	0.255
鳥インフルエンザ(H5N1)	0.595	48	キンブラズマ症	0.322	81	アジア条虫症	0.248
エキノコックス症	0.583	49	ヒストプラズマ症(真菌症)	0.309	81	オンコセルカ症	0.248
ヘンドラウイルス感染症	0.573	50	クリプトスポリジウム症	0.307	83	クリプトコッカス症	0.246
日本脳炎	0.562	51	ロッキー山紅斑熱	0.305	84	日本海裂頭条虫症	0.246
e型肝炎	0.538	52	シャーガス病	0.305	85	結核bovis	0.244
腎症候性出血熱(HFRS)	0.527	53	細菌性赤痢	0.303	85	無鉤条虫症	0.244
黄熱	0.516	54	ブルセラ症・Bovis・Canis	0.299	87	肺吸虫	0.235
オムスク出血熱	0.509	55	猫ひっかき病	0.299	88	豚丹毒	0.235
キャサナル森林病	0.509	56	エーリキア症(Canis)	0.298	88	顎口虫症	0.235
西部馬脳炎	0.509	56	野兔病	0.298	90	A型肝炎	0.230
ベネズエラ馬脳炎	0.509	56	リステリア症	0.298	91	犬糸状虫症	0.224
リフトバレー熱	0.509	56	バベシア症	0.298	91	イヌ・ネコ回虫症	0.224
ウェストナイル熱	0.495	56	広東住血線虫症	0.298	91	ウリザネ条虫症	0.224
デング熱	0.495	61	非定型抗酸菌症	0.297	91	肝吸虫症	0.224
類鼻疽	0.472	62	リーシュマニア症	0.290	91	肝蛭虫症	0.224
ベスト	0.445	63	バストレラ症	0.288	91	東洋眼虫症	0.224
皮膚糸状菌症	0.424	63	アニサキス症	0.288	91	マンソン裂頭条虫症	0.224
チクングニア	0.408	65	炭疽	0.288	91	旋尾線虫症	0.224
レプトスピラ病	0.397	65	トリヒナ症	0.288			

●研究代表者の研究歴等

東京大学農学系大学院：ラウス肉腫への免疫応答、麻疹ウイルスの病原性

国立予防衛生研究所：SSPEウイルスの神経毒性

西ドイツギーゼン大学：ラウス肉腫の腫瘍抗原の検索

東京大学医科学研究所：神経疾患マウスの研究、モルビリウイルスのゲノム解析

筑波霊長類センター：サルエイズモデル、ヒト老人病モデル研究

東京大学農学部：環境ホルモンの神経発達への影響、BSE疫学調査、BSEリスク評価法開発

東京大学農学部附属牧場：プリオンK0牛の特性解析、超高熱発酵菌による腸管感染の統御

北里大学：野生動物感染症の研究

・過去に所属した研究機関の履歴

昭和51年 厚生省国立予防衛生研究所麻疹ウイルス部(厚生技官)

昭和52年—54年 西独ギーゼン大学ウイルス研究所留学

昭和55年 東京大学医科学研究所(助手、講師、助教授)

平成3年 厚生省国立予防衛生研究所筑波霊長類センター(センター長)

平成9年 東京大学大学院農学生命科学研究科(教授)

平成18年 東京大学農学部附属牧場(牧場長)

平成22年 北里大学獣医学部(教授)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

山内一也(東大名誉教授):指導者

故 藤原公策(東大名誉教授):指導者

宍戸 亮(元国立予防衛生研究所所長):指導者

ジョセフマサンガイ(フィリピン大学獣医学部):共同研究者

明石博臣(東京大学教授):共同研究者

森川 茂(国立感染症研究所):共同研究者

・主な研究課題

動物由来感染症の統御に関する研究と国際野生動物疾病届出システムの開発研究

我が国のBSE疫学調査、輸入牛肉等のBSEリスク評価とリスク管理に関する研究

霊長類を用いた環境汚染化学物質の神経系発達への影響に関する研究

超高熱発酵菌を利用した腸管感染症の統御法とその応用的利用法に関する研究

食の安全、安定供給を目指した人と家畜の感染症の統御に関する研究

動物の危機管理に関する総合的研究

・ これまでの研究実績 (2011、2010、2009 年)

- Color Atlas of Monkey Diseases, ed. Y. Yoshikawa, Isebu Pub. 2011.
- Principle and practice of Biosafety, Strategy of Zoonosis Control, pp15-22, Y. Yoshikawa, Igaku-Hyoron sha 2011
- Alternative BSE risk assessment methodology of imported beef and beef offal to Japan.
Y. Yoshikawa, Horiuchi, M., Ishiguro, N., Kadohira, M., Kai, S., Mizutani, H., Nagata, C., Onodera, T., Sata, T., Tsutsui, T., Yamada, M. J. Vet. Med. Sci, 73, (online pub), 2011. .
- Detection of bat coronaviruses from *Miniopterus fuliginosus* in Japan. Shirato K, Maeda K, Tsuda S, Suzuki K, Watanabe S, Shimoda H, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Kyuwa S, Endoh D, Matsuyama S, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Yoshikawa Y, Akashi H, Mizutani T. *Virus Genes*. 2011 Aug 30. [Epub ahead of print]
- Reston Ebolavirus Antibodies in Bats, the Philippines. S. Taniguchi, S.Watanabe, JS. Masangkay, T. Omatsu, T. Ikegami, P. Alviola, N. Ueda, K. Iha, H. Fujii, Y. Ishii, T. Mizutani, S. Fukushi, M. Saijo, I. Kurane, S. Kyuwa, H. Akashi, Y. Yoshikawa, S. Morikawa. *Emerging Dis*. 17, 1559-1560, 2011
- Bats in the Guinness world records. Masangkay JS., Yoshikawa, Y., Puentes-pina, P., *Animal Scene*, 17, 93-96, 2011.
- PCR assay and conventional isolation of *Salmolella* spp. From Philippine bats. Baticados, WN. Reyes, AWB., Rovira, HG., Masangkay, JS., Ramirez, TJ., Yoshikawa, Y., *Acta Sci. Vet*. 39, 947—952, 2011.
- Report of Davao Rousette Bats. Yoshikawa, Y., Masangkay JS., Puentes-pina, P. *LABIO*, 45, 30-33, 2011.
- Shumpei Watanabe, Joseph S. Masangkay, Noriyo Nagata, Shigeru Morikawa, Tetsuya Mizutani, Shuetsu Fukushi, Phillip Alviola, Tsutomu Omatsu, Naoya Ueda, Koichiro Iha, Satoshi Taniguchi, Hikaru Fujii, Shumpei Tsuda, Maiko Endoh, Kentaro Kato, Yukinobu Tohya, Shigeru Kyuwa, Yasuhiro Yoshikawa, and Hiroomi Akash. *Bat Coronaviruses and Experimental Infection of Bats, the Philippines*. *Emerg. Infect. Dis*. 16, 1217-1223, 2010
- Fujii H, Watanabe S, Yamane D, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Kato K, Tohya Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y, Akashi H. Functional analysis of *Rousettus aegyptiacus* "signal transducer and activator of transcription 1" (STAT1). *Dev Comp Immunol*. 34(5):598-602. 2010
- Iha, K., Omatsu, T., Watanabe, S., Ueda, N., Taniguchi, R., Fujii, H., Ishii, T., Kyuwa, S., Akashi, H., Yoshikawa, Y. Molecular cloning and expression analysis of the bat Toll-like receptors 3, 7, and 9. *J Vet Med Sci* 72(2):217-220, 2010
- Nakagami, A., Negishi, T., Kawasaki, K., Imai, N., Nishida, Y., Ihara, T., Kuroda, Y., Yoshikawa, Y., Koyama, T. Alterations in male infant behaviors towards its mother by prenatal exposure to bisphenol A in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) during early suckling period. *2009 Psychoneuroendocrinology*, 34, 1189-1197
- Kutsukake, N., Ikeda, K., Honma, S., Teramoto, M., Mori, Y., Hayasaka, I., Yamamoto, R., Ishida, T., Yoshikawa, Y., Hasegawa, T. Validation of salivary cortisol and testosterone assays in chimpanzees by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *2009 Amer. J. Primatol*. 71, 696-706,
- Takahashi, M., Negishi, T., Imamura, M., Sawano, E., Kuroda, Y., Yoshikawa, Y., Tashiro, T. Alterations in gene expression of glutamate receptors and exocytosis-related factors by a hydroxylated-polychlorinated biphenyl in the developing rat brain *2009 Toxicology*, 257, 17-24
- Watanabe, S., Omatsu, T., Miranda, MEG., Masangkay, JS., Ueda, N., Endo, M., Kato, K., Tohya, Y., Yoshikawa, Y., Akashi, H *Epizootology and experimental infection of Yokose virus in Bat* *2009 Comparative Immunol. Microbiol. Infect. Dis*. (online published)
- Watanabe, S., Ueda, N., Iha, K., Masangkay, JS., Fujii, H., Alviola, P., Mizutani, T., Maeda, K., Yamane, D., Walid, A., Kaot,

- K., Kyuwa, S., Tohya, Y., Yoshikawa, Y., Akashi, H. Detection of a new bat gammaherpesvirus in the Philippines. 2009 *Virus Gene*, 19, (online published)
- Kiyohara, K., Hashimoto, S., Kawamura, T., Hamasaki, T., Yamamoto, S., Kanehashi, M., Yoshikawa, Y. Target cattle age of post-slaughter testing for bovine spongiform encephalopathy and infectivity entering the human food chain in Japan. 2009 *Food Control*. 21, 29-35
- Kurokawa, M., Hideshima, M., Ishii, Y., Kyuwa, S., Yoshikawa, Y. Aortic ER stress in streptozotocin-induced diabetes mellitus in APA hamsters. 2009 *Exp. Anim.* 58, 113-121
- Inoue, K., Maruyama, S., Kabeya, H., Hagiya, K., Izumi, Y., Une, Y., Yoshikawa, Y. Exotic small mammals as potential reservoirs of zoonotic Bartonella spp. 2009 Emerging Infect. Dis. 15, 526-532*
- Kuraoka, M., Furuta, T., Matsuwaki, T., Omatsu, T., Ishii, Y., Kyuwa, S., Yoshikawa, Y. Direct experimental occlusion of the distal middle cerebral artery induces high reproducibility of brain ischemia in mice. 2009 *Exp. Anim.* 58, 19-29

・ 平成24年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規公募課題の応募状況

「動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究 (24170501)」に応募

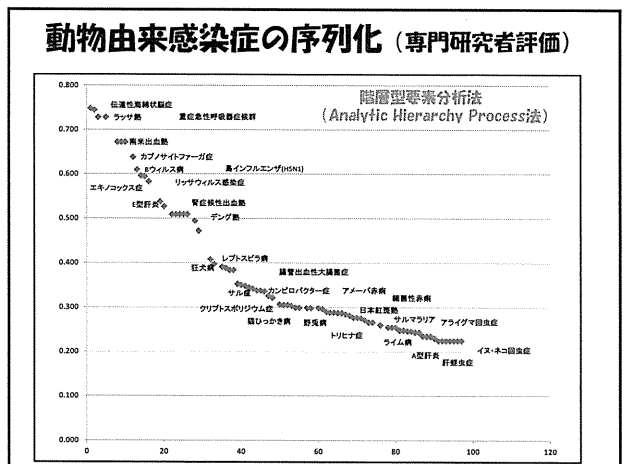
平成23年度厚生労働科学研究補助金
 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

動物由来感染症のリスク分析手法に 基づくリスク管理のあり方に関する研究

統一的风险評価とZoonosisのプライオリタイゼーション

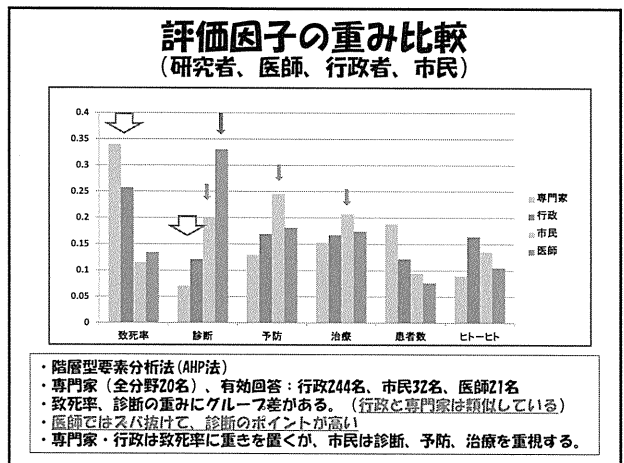
研究代表者：吉川泰弘
 研究分担者：門平陸代 深瀬徹 宇根有美 奥祐三郎 小泉信夫
 浦口宏二 井上智 今岡浩一 丸山総一 佐野文子
 安藤秀二 杉山広 川中正彦

ロボミコーシス:バンドウイルカ (太平洋沿岸では初めて) 2010, 2011のZ症例



動物由来感染症の重要度順位 (ポイント)

感染症	ポイント	感染症	ポイント	感染症	ポイント
伝達性海綿状脳症	0.745	リンパ球性網膜髄膜炎	0.395	エルシニア症・Y-enterocolitica	0.284
重症急性呼吸器症候群	0.744	狂犬病	0.391	ジアルジア症	0.282
エボラ出血熱	0.728	脳脊髄液性大腸菌感染症	0.389	つばね病	0.276
マールブルグ病	0.728	回腸炎	0.384	日本紅斑熱	0.276
ラッサ病	0.728	鼻疽	0.384	ニューカッスル病	0.275
ジニ真分性菌血症	0.694	免疫チフス	0.353	エルシニア症・Y-pseudotuberculosis	0.271
トングウイルス脳炎	0.675	水痘性口炎	0.350	サルマラリア	0.266
クリミア・コンゴ出血熱	0.672	サルモネラ症	0.348	Q熱	0.266
精液出血熱	0.672	サル痘	0.345	異棘虫症	0.266
ニハウイルス感染症	0.672	横川出血熱	0.342	有鉤虫症	0.260
重症髄膜炎	0.659	伝血虫症	0.338	猫免疫	0.255
カプノサイトファーガ症	0.638	カンピロバクター症	0.338	ライム病	0.255
リソウイルス病	0.609	オウム病	0.336	アラグマ回虫症	0.255
ノロウイルス感染症	0.596	アメーバ脳病	0.325	鉤虫症 (セイロン鉤虫)	0.255
鳥インフルエンザ(H5N1)	0.595	トキソプラズマ症	0.312	アジカ免疫	0.248
エボラ出血熱	0.583	ヒストプラズマ症 (真菌症)	0.309	オンコセルカ症	0.248
ヘンドラウイルス感染症	0.573	クリプトスポリジウム症	0.307	クリプトコッカ症	0.246
日本脳炎	0.562	ロッキー山紅斑熱	0.305	日本海裂頭条虫症	0.246
痘疹炎	0.538	シャーガス病	0.305	結核bovis	0.244
腎臓慢性出血熱 (HFRS)	0.527	細菌性赤痢	0.303	無鉤虫症	0.244
異熱	0.516	ブルセラ症・Bovis・Canis	0.299	肺吸虫	0.235
チムスク出血熱	0.509	短ひつかき病	0.299	豚丹毒	0.235
脊髄炎・森林病	0.509	エーリキア症 (Canis)	0.298	顎口虫症	0.235
西部脳炎	0.509	野兔病	0.298	A型肝炎	0.230
ベネズエラ脳炎	0.509	リスチリア症	0.298	犬糸状虫症	0.224
ワイルヘル熱	0.509	バベシア症	0.298	イヌ・ネコ回虫症	0.224
ウェスナイル熱	0.495	伝染性緑内障	0.298	クリブネ虫症	0.224
デング熱	0.495	非定型結核症	0.297	肝吸虫症	0.224
腸胃炎	0.472	リオンマニア症	0.290	肝臓虫症	0.224
ペスト	0.445	バズルネラ症	0.288	栗林吸虫症	0.224
炭疽芽胞菌症	0.424	ニニシキス症	0.288	マンソン裂頭条虫症	0.224
チングニア	0.408	炭疽	0.288	炭疽腸虫症	0.224
レプトスピラ病	0.397	トヒナ症	0.288		



研究のトピックス-1 食の安全

感染予防に資するサワガニの加熱条件の検討 (55℃)

未処理 2分 5分 10分

肺吸虫 サワガニ20%陽性 (宮崎、ウエズリマン)

肺吸虫の不活化
メタセルリアア
55℃、10分
(形態、感染性 -)

軽種馬の肝で高率に検出されたエキノコックス (多包虫) : 米沢と香場

調査頭数: 218頭
 肝臓に結節性病変有り: 78頭
 エキノコックスを疑う病巣: 81頭
 特殊染色+遺伝子同定: 41頭
 感染率: 18.8%

寒冷性: Anisakis simplex, ヒトでの症例の主要原因
 温帯性: Anisakis pegreffii, ヒトでの症例は極めて稀
 熱帯性: Anisakis typica, ヒトでの症例あり

研究のトピックス-2 伴侶動物

学会発表・論文、情報提供を受けたもの
 把握患者数: 1993~2010年 20例 (うち6例死亡)
 主症状: 敗血症14例、他、髄膜炎等
 感染原因: 犬咬傷10例 (死亡1)、猫咬傷2例 (死亡1)、
 猫掻傷5例 (死亡1)、不明3例 (死亡1)

厚生労働省HPカブノサイトファーガ感染症に関するQ&A
<http://www.mhlw.go.jp/bunwa/kenkou/kekaku-kansenshou18/capnoeytophaga.html#05>

ロシア船携帯イヌからの狂犬病侵入リスク (ロシア犬 → 港湾 → キタキツネ)

調査対象の現状

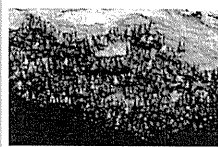
報告進(3ヶ月)
305隻、犬53頭
不法上陸犬1頭

港湾上のキツネの足跡 (観察例)

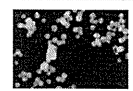
エキノコックス 陽性犬の迅速診断法

レプトスピラ 陽性犬 疫学調査

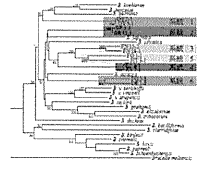
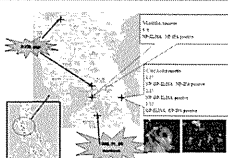
研究のトピックス-3 野生動物



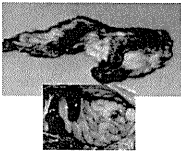
世界最大のルーセットコロニー



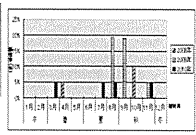
アジアのエボラウイルス
自然宿主をジュフワ
ルーセットオオコウモリ
と同定



輸入蹄畜類から新種の
バトナラ6種同定・登録



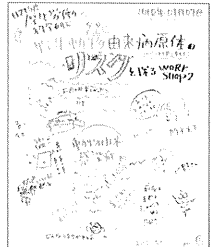
ニホンザルの破傷風
リスザルのエルシニア症
(7ヶ国・開発)



3年にわたるドバト
オウム病の定点疫学調査
夏季に長期に陽性

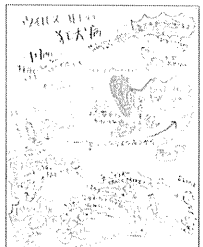
総括と展望

- ・31回の総括班会議(月1回)と6回の全体WSを開催、
4回の市民講座を開催(感染症ゲーム実施)。
- ・WSはリスク評価法の開発に非常に有効であった。
- ・各自の研究成果がリスク評価データに加えた。
- ・3年で定量的評価法、評価に基づく序列化を行った
専門家以外に、行政、市民、医者について調査を進めた。



上位にランクされる感染症
のうち、早急にリスク管理
対応の必要があると思われ
る動物由来感染症の選別。
例：Bウイルス、
リッサウイルス
エキノコックス
カフ/サイトファーガ等

リスク回避・危機管理対応
マニュアル、ガイドライン



平成23年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：節足動物が媒介する感染症への効果的な対策に関する総合的な研究

課題番号：H21-新興-一般-005
 予定期間：H21年度からH23年度まで
 研究代表者：小林 睦生
 所属研究機関：国立感染症研究所
 所属部局：昆虫医科学部
 職名：部長

年次別研究費(交付決定額)：1年目 54,000,000 円 2年目 48,600,000 円 3年目 41,310,000 円

I. 研究の意義

- (1) 地球規模の疾患であるデング熱に対してワクチンが無い。
- (2) ダニ媒介性感染症のクリミア・コンゴ出血熱の診断法や疫学研究が整備されていない。
- (3) 冬季国内における日本脳炎ウイルス(JEV)の動態は未だ不明である。
- (4) 疾病媒介蚊が保有するウイルス種に関する情報が不足している
- (5) デング熱媒介蚊の殺虫剤抵抗性に関する基礎的データが不足している。
- (6) 我が国のアタマジラミの薬剤抵抗性の全国的な実態が不明。
- (7) チクングニア熱などアルファウイルスの実験室診断の技術移転等が不十分。
- (8) 東日本大震災の被災地での衛生害虫発生状況調査は重要である。
- (9) 媒介蚊防除対策に必要な蚊の発生源に関する情報が不足しており、対策立案ができない。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) デング熱ワクチンに関して、感染増強抗体を誘導しない安全なDNAワクチンの開発を目指す。
- (2) 我が国におけるダニ媒介性ウイルス感染症に関する対策がより効果的になることが期待される。
- (3) JEVの冬季の感染環に関わる媒介節足動物および冬季のウイルス動態が特定できる。
- (4) 蚊のウイルス保有実態を把握し、蚊媒介性ウイルス感染症対策に資する科学的知見を得ることができる。
- (5) 薬剤作用点変異の簡便な分子検査法を開発・適用することにより、抵抗性シラミの全国的な頻度分布を明らかにできる。
- (6) ワクチンにより誘導される防御免疫を反映するデングウイルス中和抗体測定法を開発する。
- (7) 自然災害によって媒介蚊の発生状況がどのように影響されるかを明らかにし、今後の対策に資する。
- (8) 都市部における媒介蚊防除対策に効果的な薬剤の選択が可能となる。
- (9) マダニ人体刺咬が発生している都市周辺でのマダニ季節消長の解明が可能となる。

III. 3年間の研究成果

- ・研究代表者(小林睦生)
 - ・都市部でのヒトスジシマカの発生源と公園等の成虫の潜み場所との関係を明らかにした。(津田良夫)
 - ・東日本大震災の被災地(宮城県南部水田地帯および福島県北部水田地帯)における疾病媒介蚊の発生状況を明らかにした。昼間吸血性イナトミシオカの生態、特に吸血行動について知見が得られた。(小西英二)
 - ・確立したDNAワクチンは増強抗体を補体存在下では誘導せず、安全であることを確認した。モノクローナル抗体を用いて中和・増強活性に係わる抗原エピトープを解析し、新たな知見を得た。(高崎智彦)
 - ・チクングニアウイルス遺伝子迅速診断法(Hyper RT-PCR法)の開発を行い、上記診断法について患者血清を用いて評価し確立した。また、合成RNA遺伝子を作成し、陽性コントロールおよび定量を可能にした。
 - ・厚生労働省検疫所、地方衛生研究所に技術移転した。その結果、検疫所では2件のチクングニアウイルス遺伝子を検出し、ウイルス1株を分離した。(倉根一郎)
 - ・Fcレセプター発現細胞を用いた新たな中和抗体測定法を開発した。本法は抗体の感染増強活性と中和活性の総和としての中和抗体価を測定しうる新しい方法である。
 - ・フラビウイルス感染症、特にデング熱、ウエストナイル熱の診断に関して、地方自治体への技術移転し、診断技術に関する評価を行った。(西條政幸)

・6種の中国株のL-遺伝子の全塩基配列を決定し、クリミア・コンゴ出血熱の遺伝子診断システム開発や疫学研究に必要な情報を得た。

(沢辺京子)

- ・兵庫県イノシシ寄生キチマダニから日本脳炎ウイルスは分離できなかったが、同地域で捕集したアカイエカにJEV感受性が認められたことから、冬季のウイルス感染環に関与する可能性が示唆された。
- ・イエカ類、ヤブカ類から数種の新規ウイルスを分離し、蚊の保有ウイルスの実態解明が進んだ。

(川田 均)

- ・長崎市内のヒトスジシマカに関して、高いDDT抵抗性が認められ、ピレスロイド系殺虫剤であるペルメトリンに対して抵抗性が認められた。

(富田隆史)

- ・ピレスロイド作用点の二座位の変異の簡便な分子ジェノタイピングを可能にするQProbe法を開発した。
- ・ピレスロイド抵抗性アタマジラミコロニーの全国的頻度は14.1% (試験コロニー数 N=759) で、沖縄本島では100% (N=56) と著しく高い値を示した。

(山内健生)

- ・北陸地方でのイノシシ寄生マダニの調査、旗づくり法による採集で、南方系のマダニが新たに侵入していることなど、マダニ類の生態と季節消長を明らかにした。

(柴田伸一郎)

- ・カ及びヒト検体からのチクングニアウイルスのリアルタイムPCR高速化を実施。

IV. 今後考えらえる新たな課題

- (1) デング熱のDNAワクチンに関して中和・増強活性に係わる抗原エピトープを解析し、接種前感染者におけるDNAワクチンの安全性を検討する。
- (2) フラビウイルス感染での中和抗体測定法を用いて、中和抗体価と防御免疫の関係を明らかにする。
- (3) クリミア・コンゴ出血熱の流行地の拡大がみられ、また、中国等で新規ブニヤウイルスによる致死率の高いブニヤウイルス感染症の流行が確認された。クリミア・コンゴ出血熱だけでなく、その他のダニ媒介性ウイルス感染症対策を充実させる必要がある。
- (4) フィリピンに侵入したチクングニア熱流行状況の情報を収集し、医療機関等へ情報提供をおこなう。
- (5) JE媒介蚊の長距離飛翔による海外からのウイルスの侵入を気象解析データから裏付け、国内における冬季の感染環を明らかにすることで、国内におけるJE流行を予測する。
- (6) マダニ類、蚊類が保有するウイルスの分離を継続し、既知・未知のウイルス相の全様を明らかにする。
- (7) 震災被災地における衛生害虫の発生の予想、防除対策の啓発、実践的な防除マニュアルの作成。
- (8) ピレスロイドに新殺虫成分を付加した合剤が開発された場合は、ピレスロイド抵抗性遺伝型ごとに新薬の有効性を評価することに資する。
- (9) 定点畜舎におけるコガタアカイエカの連日捕集による同蚊の移動に関連する気象条件の解析、大型野生動物におけるマダニ相の調査から人刺症および疾病媒介のリスクの評価を行う。
- (10) ヒトスジシマカの幼虫発生源と成虫の潜み場所との環境解析による防除対策法の確立

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) デング熱輸入症例が増加する中、在外邦人の安全・安心を含めて、予防ワクチンの開発は重要。
- (2) 我が国にも侵入し流行する可能性のあるデングウイルスに対するワクチン開発が促進される。
- (3) 空港検疫所におけるウイルス遺伝子検出時間のさらなる短縮が計れる。
我が国におけるクリミア・コンゴ出血熱の輸入感染症対策に貢献できる。
- (4) 日本脳炎の海外侵入、国内における越冬の感染環を明らかにすることでより詳細な日本脳炎の流行予測事業に役立ち、また、マダニ類、蚊類による感染症媒介のリスク評価につながる。
- (5) 衛生昆虫類の殺虫剤抵抗性の発達状況、遺伝子診断法の確立など予防対策に重要な情報が入手できる。
- (6) 媒介蚊、マダニ類の分布、発消長などを明らかにすることは、感染症のリスクの軽減につながる。
- (7) 被災地における衛生害虫の発生状況調査から適切な防除対策の啓発が可能となる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) 「チクングニア熱媒介蚊対策に関するガイドライン」を作成し、関係部署に配布した。
- (2) 「避難所・応急仮設住宅へお住まいの方々へ：ハエ、蚊からくらしを守るために：いま、できること」の内容のリーフレットを監修し、被災地の自治体関係部署へ配布した。
- (3) Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Recent progress in the treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever and future perspectives. *Future Virology* 5:801-9, 2010
- (4) Yamamoto K, Matumoto K, Lim CK, Moi ML, Kotaki A, Takasaki T. Chikungunya fever from Malaysia. *Intern Med.* 49(5):501-505, 2010
- (5) Atsushi Yamanaka, et al. Displacement of the Predominant Dengue Virus from Type 2 to Type 1 with a Subsequent

Genotype Shift from IV to I in Surabaya, Indonesia 2008-2010. PLoS One. 2011;6(11): e27322. Epub 2011 Nov 7.

(6)Moi ML, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Lim CK, Sakamoto M, Iwagoe H, Kobayashi K, Kurane I. Importation of dengue virus type 3 to Japan from Tanzania and Cote d'Ivoire. Emerg Infect Dis. Nov;16(11):1770-2, 2010.

(7)Kawada H, Higa Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Nguyen YT, Luu LL, Sánchez RAP, Takagi M. Widespread distribution of a newly found point mutation in voltage-gated sodium channel in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Vietnam. PLoS Negl.Trop.Dis. 3(10):e0000527

(8)Tsuda Y, O Komagata, S Kasai, T Hayashi, N Nihei, K Saito, M Mizutani, M Kunida, M Yoshida and M Kobayashi. A mark-release-recapture study on dispersal and flight distance of *Culex pipiens pallens* in an urban area of Japan. J. Am. Mosq. Control Assoc. 24: 339-343, 2008

(9) Kuwata R., Isawa H., Hoshino K., Tsuda Y., Yanase T., Sasaki T., Kobayashi M., Sawabe K. RNA splicing in a new rhabdovirus from *Culex* mosquitoes. J. Virol., 85: 6185-6196, 2011.

(10) Sawabe K, Hoshino K., Isawa H., Sasaki T., Kim K.S., Hayashi T., Tsuda Y., Kurahashi H., Kobayashi M. Blow flies were one of the possible candidates for transmission of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus during the 2004 outbreaks in Japan. Influenza Research and Treatment, 2011: ID 652652, 2011.

(11) Itokawa, K., Komagata, O., Kasai, S., Okamura, Y., Masada, M., Tomita, T, Genomic structures of Cyp9m10 in pyrethroid resistant and susceptible strains of *Culex quinquefasciatus*. Insect Biochem Mol Biol 40, 631-640, 2010.

(12)Kasai S, Ishii N, Natsuaki M, Fukutomi H, Komagata O, Kobayashi M, Tomita T. Prevalence of kdr-like mutations associated with pyrethroid resistance in human head louse populations in Japan. J Med Entomol. 46:77-82, 2009.

VII. III (2年間の研究成果)の概要図等

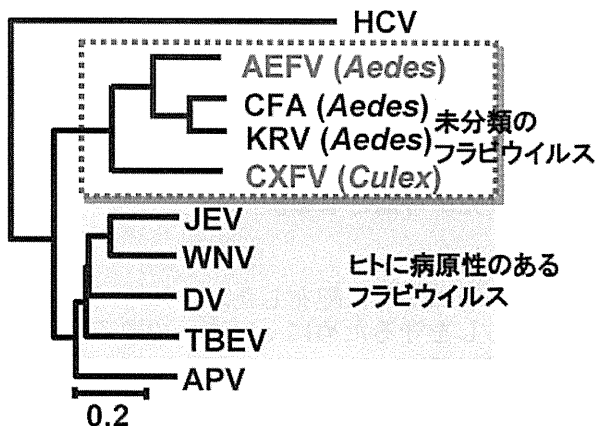
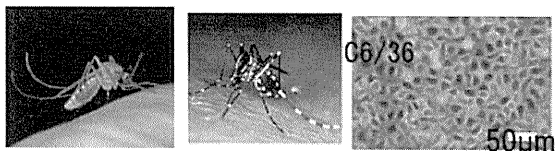
アルボウイルスに関する研究

DNAワクチンの開発

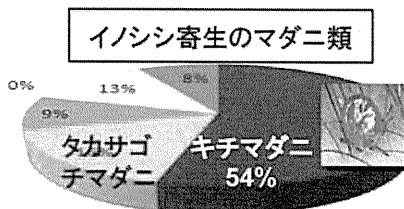
感染増強抗体を誘導しない安全なDNAワクチン

アルボウイルスの迅速な実験室診断の確立

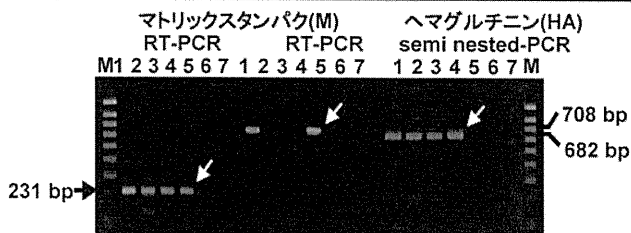
アカイエカ、ヒトスジシマカからの新規ウイルスの分離



媒介節足動物に関する研究

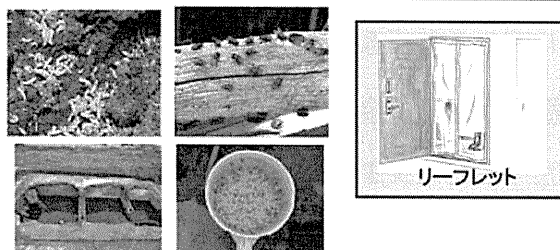


オオクロバエ類から分離された高病原性トリインフルエンザ



1, 2:オオクロバエ; 3, 4:ケバクロバエ
5, 6:オオイエバエ; 7:モモグロオオイエバ

震災被災地で大発生した衛生害虫類と仮設住宅での防虫対策



厚生労働行政の推進

国民の健康維持・安心、安全な社会

○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

獨協医科大学 医動物学教室 1977-1993年

ウプサラ大学理学部 (スウェーデン国) 1988-1989年

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

Kenneth Soderhall (University of Uppsala, Sweden, Biomedical Center, Professor)

山本 久 (獨協医科大学 医動物学教室 教授)

小倉信夫 (明治大学 農学部 教授)

主な研究課題

研究代表者は、蚊とフィラリア幼虫との関係、蚊の生体防御機構、甲殻類の生体防御機構の研究など一貫して病原体と媒介昆虫との関係に関して研究を行ってきた。国立感染症研究所では、腸管出血性大腸菌O157:H7に関して、イエバエが単なる機械的伝播者ではないことを明らかにした。ヒトスジシマカの東北地方における分布要因解析で年平均気温 11°Cが分布規定要因となっていること、米国における同蚊の分布拡大の将来予測を行った。また、オオクロバエから高病原性鳥インフルエンザウイルスの分離に成功し、鶏舎周辺でのハエ類の防除対策の重要性を喚起した。最近、我が国のホームレス由来コロモジラミから塹壕熱の病原体遺伝子を検出し、ネパール、フィリピンの特殊な環境に生活する子供達由来のアタマジラミからも病原体遺伝子を検出し、再興感染症の疫学的調査の重要性を指摘した。また、アカイエカ、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカから新規のウイルスを検出・分離し、現在、イノシシ寄生のマダニから病原ウイルスの検出を試みている。

- 1)Hoshino K., Takahashi-Nakaguchi A., Isawa H., Sasaki T., Higa Y., Kasai S., Tsuda Y., Sawabe K. and Kobayashi M. Entomological surveillance for flaviviruses at migratory bird stopover sites in Hokkaido, Japan, and a new insect flavivirus detected in *Aedes galloisi* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 2011 (in press)
- 2)Kuwata R., Isawa H., Hoshino K., Tsuda Y., Yanase T., Sasaki T., Kobayashi M., and Sawabe K. RNA Splicing in a New Rhabdovirus from *Culex* Mosquitoes. *Journal of Virology*, 85: 6185-6196. 2011.
- 3)Isawa H., Kuwata R., Hoshino K., Tsuda Y., Sakai K., Watanabe S., Nishimura M., Satho T., Kataoka M., Nagata N., Hasegawa H., Bando H., Yano K., Sasaki T., Kobayashi M., Mizutani T. and Sawabe K. Identification and molecular characterization of a new nonsegmented double-stranded RNA virus isolated from *Culex* mosquitoes in Japan. *Virus Research*, 155: 147-155. 2011.
- 4)Sawabe K., Hoshino K., Isawa H., Sasaki T., Kim KS., Hayashi T., Tsuda Y., Kurahashi H. and Kobayashi M. Blow flies were one of the possible candidates for transmission of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus during the 2004 outbreaks in Japan. *Influenza Research and Treatment*, 2011: 652652. 2011.
- 5)Sawabe K., Isawa H., Hoshino K., Sasaki T., Roychoudhury S., Higa Y., Kasai S., Tsuda Y., Nishiumi I., Hisai N., Hamao S. and Kobayashi M. Host-feeding habits of *Culex pipiens* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) collected at the urban and suburban residential areas of Japan. *Journal of Medical Entomology*, 47: 442-450, 2010
- 6)Sasaki T., Hiraoka T. and Kobayashi M. Hemolytic activity is mediated by the endogenous lectin in the mosquito hemolymph serum. *Journal of Insect Physiology*. 56: 1032-1039, 2010.
- 7)Sawabe K., Tanabayashi K., Hotta A., Hoshino K., Isawa H., Sasaki T. Yamada A. and Kobayashi M. Survival of Avian H5N1 Influenza A Viruses in *Calliphora nigribarbis* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 46: 852-855, 2009.
- 8)Kasai, S., Ishii, N., Natsuaki, M., Fukutomi, H., Komagata, O., Kobayashi, M., Tomita, T. Prevalence of kdr-like mutations associated with pyrethroid resistance in human head louse populations in Japan. *Journal of Medical Entomology* 46, 77-82, 2009.
- 9)Hoshino K, Isawa H, Tsuda Y, Sawabe K, Kobayashi M. Isolation and characterization of a new insect flavivirus from *Aedes albopictus* and *Aedes flabopictus* mosquitoes in Japan. *Virology*, 2009, 391(1):119-29,2009.
- 10)Sawabe K, Tanabayashi K, Hotta A, Hoshino K, Isawa H, Sasaki T, Yamada A, Kurahashi H, Shudo C, Kobayashi M. Survival of avian H5N1 influenza A virus in *Calliphora nigribarbis* (Diptera:Calliphoridae). *J Med Entomol.* 46:852-855, 2009.
- 11)Kobayashi M., Komagata O., Nihei N. Global warming and vector-borne infectious diseases. *J. of Disas. Res.* 3(2):105-112, 2008.
- 12)Kobayashi M., Kasai S., Sawabe K., Tsuda Y. Distribution and ecology of potential vector mosquitoes of West Nile fever in Japan. *Glob. Environ. Res.*, 12:27-33, 2008.
- 13)Komagata O, Kasai S, Obara I, Motoyama N, Tanaka I, Kobayashi M., Tomita T. Concomitant identification of subspecies and insecticide resistance-associated mutations in the mosquito *Culex pipiens* complex by primer 14
- 14)Hoshino K., Isawa H., Tsuda Y., Yano K., Sasaki T., Yuda M., Takasaki T., Kobayashi M., Sawabe K.: Genetic characterization of a new insect flavivirus isolated from *Culex pipiens* mosquito in Japan. *Virology* 359(2):405-414, 2007.
- 15)Seki N., Kasai S., Saito N., Komagata O., Mihara M., Sasaki T., Tomita T., Sasaki T., Kobayashi M. Quantitative

- analysis of proliferation and excretion of *Bartonella quintana* in body lice, *Pediculus humanus* L. Am. J. Trop. Med. Hyg., 77(3):562-566, 2007.
- 16) Kasai, S., T. Shono, O. Komagata, Y. Tsuda, M. Kobayashi, M. Motoki, I. Kashima, T. Tanikawa, M. Yoshida, I. Tanaka, G. Shinjo, T. Hashimoto, T. Ishikawa, Y. Higa, T. Tomita. Insecticide resistance in potential vector mosquitoes for West Nile virus in Japan. J. Med. Entomol., 44(5): 822-829, 2007.
- 17) Sawabe, K., Hoshino, K., Isawa, H., Sasaki, T., Hayashi, T., Tsuda Y., Kurahashi, H., Tanabayashi, K., Hotta, A., Saito, T., Yamada A. & Kobayashi, M.: Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A virus from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. Am. J. Trop. Med. Hyg, 75(2):327-332, 2006.
- 18) Roychoudhury S., Isawa H., Hoshino K., Sasaki T., Saito N., Sawabe K., Kobayashi M.: Comparison of the morphology of oocysts and the phylogenetic analysis of four *Ascogregarina* species (Eugregarinidae : Lecudinidae) has inferred from small subunit ribosomal DNA sequences. Parasitol. Int. 56(2):113-118, 2006.
- 19) Roychoudhury S. & Kobayashi M. New finding on the developmental process of *Ascogregarina taiwanensis* and *Ascogregarina culicis* in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*, J. Am. Mosq. Control. Assoc., 22:29-36, 2006
- 20) Sasaki T., Poudel S.K., Isawa H., Hayashi T., Seki N., Tomita T., Sawabe, K, Kobayashi M.: First molecular evidence of *Bartonella quintana* in *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae), collected from Nepalese children. J. Med. Entomol. 43(1):110-112, 2006.

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 (H21-新興一般-005)

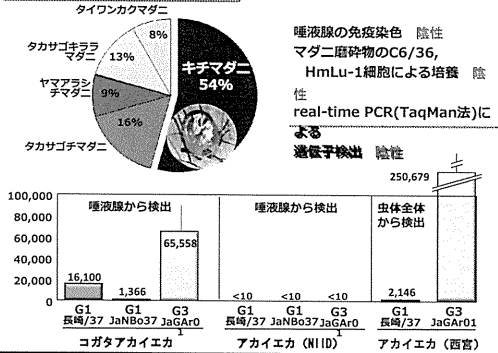
節足動物が媒介する感染症への効果的な対策に関する総合的な研究

- 1) 兵庫県産のイノシシから日本脳炎ウイルス (JEV) を分離し、マダニからJEVの分離の試み。
- 2) 西宮市由来のアカイエカにコガタアカイエカと同等のJEV増殖能力を確認。
- 3) 富山県、岩手県、名古屋市、新潟市、西宮市との間で、蚊の発生調査およびウイルス検出に関する共同研究を実施。
- 4) イエカ類からティウイルス (OMRV) とラドウイルス (CTRV) を新たに分離。
- 5) コガタアカイエカ胚由来の培養細胞株を樹立し、JEV とデングウイルスの増殖活性を確認。
- 6) アタマジラミの殺虫剤抵抗性遺伝子解析により、全国平均で14.1%の遺伝子保有率を確認。
- 7) テクングニアウイルスの迅速高感度ウイルス遺伝子検出法を確立、地衛研に技術移転。
- 8) デング熱ワクチンによる感染増強を誘導しない抗体の検索と結合部位を特定。
- 9) 東日本大震災被災地における衛生害虫発生状況調査と自治体への助言

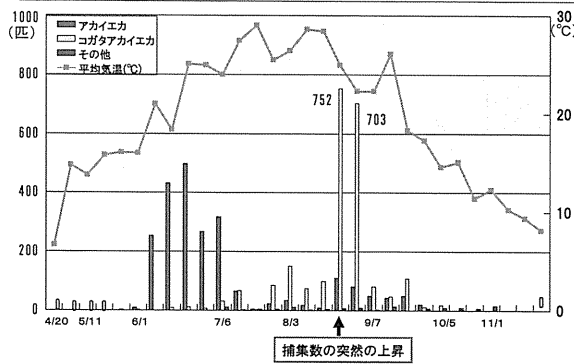
国立感染症研究所 昆虫医学部 小林 隆生

六甲山系捕獲のイノシシからのJEVの分離とアカイエカのウイルス感受性

・2008年～2010年に合計157頭のイノシシ検毛から7種3,442頭のマダニ類を採取

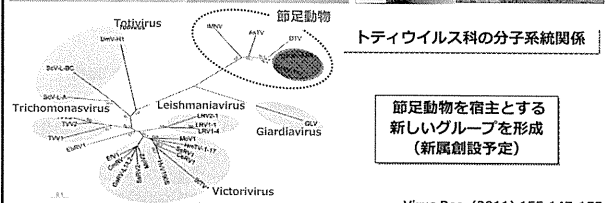
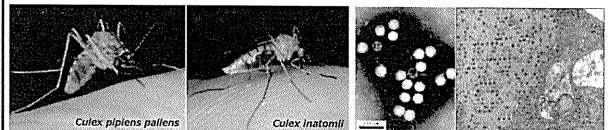


平成23年新潟市の水田地帯の豚舎における蚊の捕集数



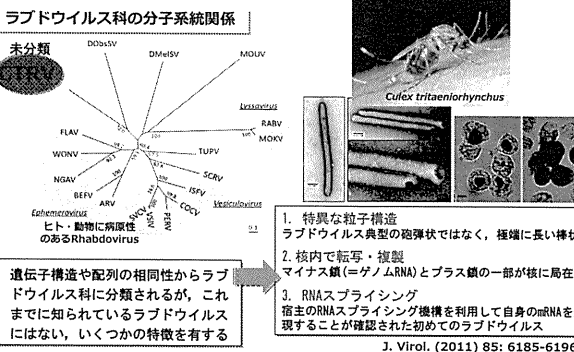
本邦産イエカ属蚊から分離された新規2本鎖RNAウイルス

国内のアカイエカ、イナトミシオカから新規ティウイルスを分離・発見
Omono River virus (OMRV)

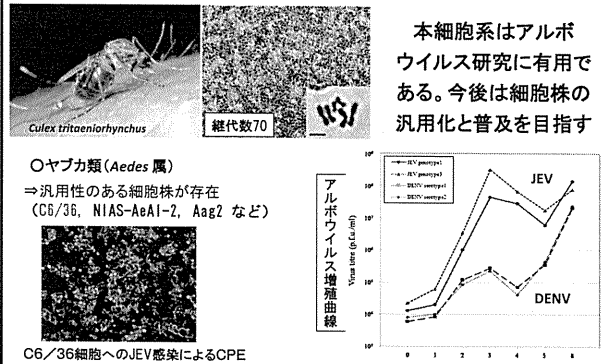


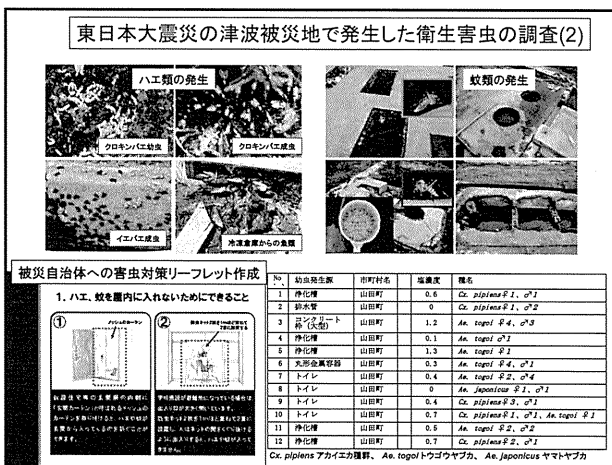
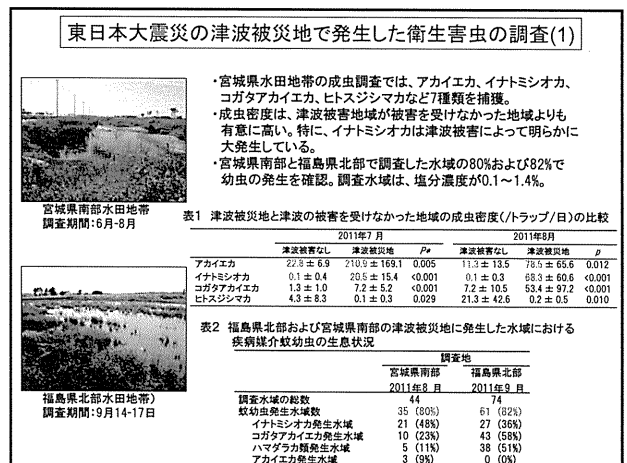
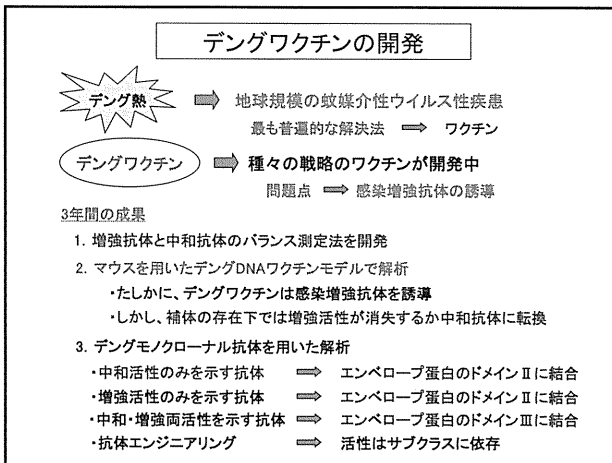
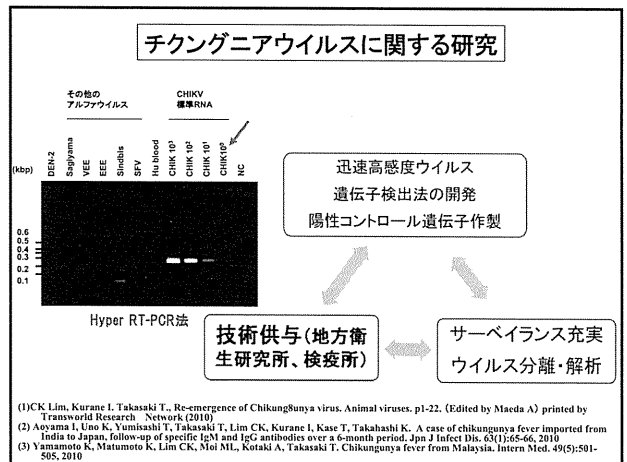
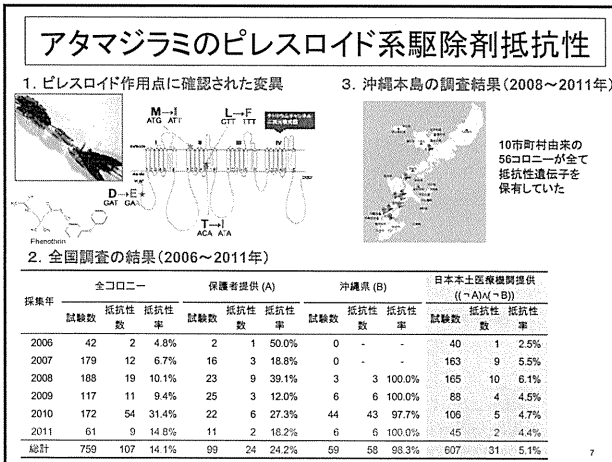
コガタアカイエカから分離された新規1本(-)鎖RNAウイルス

国内のコガタアカイエカから新規ラドウイルスを分離・発見
Culex tritaeniorhynchus rhabdovirus (CTRV)



コガタアカイエカ胚由来培養細胞の樹立 NIID-CTR1 cell line





平成23年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題： リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究

課題番号： H21-新興-一般-006

予定期間： H21年度からH23年度まで

研究代表者： 岸本 壽男

所属研究機関： 岡山県環境保健センター

所属部局： _____

職名： 所長

年次別研究費(交付決定額)：

1年目 46,000,000 円 2年目 48,600,000 円 3年目 41,310,000 円 計 135,910,000

I. 研究の意義

- (1) リケッチア等のダニ媒介性細菌感染症の発生例増加の要因や、新規リケッチア症の実態は、ほとんど不明である。
- (2) これらの早期診断体制は未整備であり、病態解析や治療法の確立も不十分である。
- (3) 疫学、臨床、診断・検査、基礎的検討、予防・啓発を含めた総合的対策が求められている。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 依然数百例の発生がある新型つつが虫病と、近年再出現した古典型つつが虫病、また症例が増え死亡例もみられる日本紅斑熱に関する実態把握とリスク対策。
- (2) 国内での新規紅斑熱リケッチア症や、ヒトアナプラズマ症、複数のダニ媒介性病原体の共感染症例、輸入リケッチア症などの新たな課題に関する実態把握とリスク対策。
- (3) 早期診断法の開発・普及と、検査診断の地域連携ネットワークの構築によるレファレンス体制の確立。
- (4) 患者の病態解析、とくに重症化の機序解明と、治療薬の作用機序の詳細な検討による治療法確立と、これらの解明のための分子生物学的アプローチ。
- (5) 医療関係者ならびに一般社会への適切な情報提供と、啓発法の検討。
以上を同時に有機的に進めることがリケッチアを中心としたダニ媒介細菌感染症の総合的対策につながり、国民の健康保健維持向上に資することが期待される。

III. 3年間の研究成果

・研究代表者(岸本壽男)

以下の疫学的研究、臨床的研究、検査・診断的研究、基礎的研究、予防・啓発的研究の5本柱を、同時に有機的に進め統括した。

- (1) 疫学的研究: リケッチア症に関する疫学の実態解明を進めた。
- (2) 臨床的研究: 多医療施設での症例解析をもとにした臨床像や重症化の病態解析、将来の治療指針等の作成や有効薬剤の保検適応に向けた治療のエビデンス蓄積を行った。日本紅斑熱による感染性電撃性紫斑病の重症例と死亡例の解析をした。
- (3) 検査・診断的研究: リケッチア症の診断とレファレンス体制構築における課題の改善に努めた。
- (4) 基礎的研究: 発症や重症化、複数のダニ媒介性細菌の共感染等のメカニズム解析や、細胞レベルでの宿主の免疫応答。またゲノム情報の応用等をした治療薬のメカニズム解析と新たな治療法の開発を検討した。

(5) 予防・啓発的研究:疫学情報の医療関係者、行政、メディア、一般社会への適切な情報提供と、啓発による感染予防を目指した。

・研究分担者(高田伸弘)

(1) 新たな日本紅斑熱多発地の三重県志摩半島で、ベクターと病原種に絡んだ環境要因の地域特異性を示唆した。和歌山県紀南地方ではつつが虫病と紅斑熱の住み分けについて同様環境要因の関わりを指摘した。環瀬戸内海地域でも各々感染環の存在を確認した。

(2) 新規紅斑熱リケッチア種については、*R. helvetica* や *R. asiatica* のほか北アジア共通種 *R. heilongjiangensis* の分布を中日本～北海道まで探査し、北日本の降雪が少ない太平洋側の日照性草地での分布が主であると判明した。

(3) つつが虫病について、タテツツガムシをリスクマップ試作のモデルとし、南東北などで患者発生相にシンクロした分布を証明した。宮古島では、わが国の新たな感染環として東南アジア共通性のデリーツツガムシによる患者続発を明らかにした。

(4) ダニ防除については、①再興した秋田県のアカツツガムシについて、石川県のタテツツガムシを比較対象に、河川敷環境での殺虫剤散布の効果を見た。その結果、毎年発生する時期に、狭い地区に一過性に実施する意義が示唆された。②日本紅斑熱が発生した住居周辺の防除対策として、マダニに対する薬剤および環境整備等によるコントロールでは、各戸で簡易に安価にできる方法を示した。

(5) 中国南部、欧州北半部にて各々現地調査を行い、わが国との比較で示唆に富む成績を得た。

・研究分担者(藤田博己)

(1) ダニ類の全国的な実態調査:北海道では、紅斑熱群のヒト病原種 *R. helvetica* を高率に保有するシュルツェマダニが生息する地域が見いだされ、同リケッチア感染症の潜在が強く疑われた。

東北地方では、宮城県仙台市での極東型紅斑熱の初確認以降、病原体 *R. heilongjiangensis* の主要媒介者のイスカチマダニが青森、岩手、宮城の広い範囲に生息していることが判明。これら 3 県では東日本大震災と津波がダニ類の生息状況にも大きな影響を与えたと予想されたが、津波被災地でも生息にはほとんど影響が認められなかった地域が確認された。

(2) つつが虫病については、秋田県におけるアカツツガムシの生息調査を継続し、現在でも広い範囲に及ぶことが改めて確認。東北で発生が続くタテツツガムシ媒介性症例に関して、福島県南部では濃厚なタテツツガムシの生息が確認され多発要因と推測された。

(3) 南西諸島の紅斑熱では、奄美大島の感染推定地のヤマアラシチマダニから初めて *R. japonica* を分離し得た。沖縄本島で 2 例目の患者から *R. japonica* の DNA を検出し、分布が確認された。

(4) 日本紅斑熱の簡易抗体検査法として間接赤血球凝集反応を開発した。リケッチアからの赤血球感作物質のアルカリ多糖体の抽出法として、簡易で特異性・感度ともに従来法と同等以上に優れた方法を確立した。

・研究分担者(田原研二 平成 21 年度単年)

(1) 中・四国地域におけるリケッチア症の発生状況と疫学を、患者、動物、ダニ、病原体で調査。

(2) 日本紅斑熱患者の各種臨床検体からの *R. japonica* 検出を、リアルタイム PCR 法を用いて行い、痂皮を用いる有用性を確認した。

・研究分担者(山本正悟 平成 21、22 年度)

(1) 疫学的解明:①つつが虫病と日本紅斑熱の発生状況の把握と、発生地におけるベクター探査及び野鼠の病原体保有調査を実施。②動物と感染リスクの相関を明らかにするために、宮崎県内で捕獲されたイノシシについて紅斑熱群リケッチアに対する抗体保有状況と病原体の保有状況を調べた。③アナプラズマ症について、宮崎県における発生の可能性を調査した。

(2) レファレンス体制の構築:①九州地域内の患者発生情報を入手するとともに、②血清診断用の抗原、血清診断用抗原スライド、陽性コントロールの提供、遺伝子診断に関する情報提供を行った。

・研究分担者(御供田 睦代 平成 23 年度単年)

(1) 九州地域のレファレンス体制の確立:九州地域内でのリケッチア症患者診断のための検査をサポートし、早期診断に役立てた。

(2) 疫学調査:九州地域の患者発生地調査で、患者及び媒介動物から原因病原体を検出した。

・研究分担者(松本道明 平成 22、23 年度)

- (1) 疫学的調査: 四国 4 県の日本紅斑熱患者発生状況の把握と解析を進めた。
- (2) 四国のダニ相調査: 高知県、徳島県、香川県において患者発生地域におけるダニ相調査を実施。調査ではダニ採取等未経験者への実地研修も兼ね、今後の疫学調査・解析に寄与した。
- (3) 四国地域の地方衛生研究所ネットワークの構築: レファレンス体制の一環としてネットワーク構築の準備をするとともに、日本紅斑熱の実験室診断用抗原スライドを各県に配布した。患者把握を目的に、ハイリスク地域の医療機関との連携を図った。
- (4) 啓発活動: 高知県の日本紅斑熱患者のハイリスク地域の室戸地域における住民意識調査を実施し、作成した啓発チラシ等を活用し、高知県内で新たに患者報告のあった市町村に対し、保健所と協働し市町村広報等での啓発を行った。

・研究分担者(岩崎博道)

- (1) リケッチア症急性期の血中 TNF- α 濃度が、重症度の予測因子となることが明らかとなった。
- (2) 日本紅斑熱において、MINO と CPFX の併用は TNF- α 産生抑制を増強することが分かった。
- (3) ケモカイン(IL-8, MIP-1 α , MCP-1 etc)の血中濃度は重症度に関連性があることが判明した。

・研究分担者(安藤秀二)

- (1) 国内のつつが虫病と日本紅斑熱検査体制の実態を調査し、将来的な課題を浮き彫りにした。
- (2) 現行のリケッチア症の実験室診断・検査法に関する問題点について解析した。
- (3) 国内に分布するリケッチアの多様性について分子生物学的解析を行い、情報の蓄積を行った。

・研究分担者(堤 寛)

- (1) 日本紅斑熱が疑われる症例の皮膚(刺し口)生検ホルマリン固定パラフィン切片を用いた免疫染色と切片から抽出した DNA を対象とした real-time PCR 法による早期診断法を確立し、60 症例以上の症例に臨床応用した。
- (2) 血清抗体価の上昇を欠く症例で、早期治療による血清抗体価上昇の抑制が示唆された。
- (3) 剖検例の解析で、リケッチアの血管内皮、マクロファージ、尿細管上皮への感染が示された。

・研究分担者(阿戸 学)

- (1) 基礎実験に支障を来たすマイコプラズマ汚染リケッチア株について、正常マウスおよび免疫不全マウス内での継代により、マイコプラズマ除菌に成功。*O. tsutsugamushi* ストックを順次清浄化した。
- (2) *O. tsutsugamushi* 感染マウスモデルで病原性、宿主免疫について検討するため、臨床経過、サイトカイン産生応答、肝臓の病理組織学的検索を行った。その結果、従来の *Orientia* の遺伝学的分類とは異なり、①サイトカインストームを伴う Giliam 株および Karp 株感染、②炎症性サイトカインの産生を伴わず、腹水の貯留と *Orientia* の増殖のみを認める Kaisei 株および Kato 株感染、③マウスに病原性を示さない Kawasaki 株および Kuroki 株の 3 群に分類されることを明らかにした。

・研究分担者(大橋典男)

- (1) 西日本地域に生息するマダニから新遺伝子型の紅斑熱群リケッチア、アナプラズマ、新型エーリキアの検出に成功。これらの地域の不明発熱性疾患の起因細菌である可能性を示唆。
- (2) 野生シカと野ネズミからの 3 種のアナプラズマ属細菌の検出に成功。このうち 1 つはシカ感染型アナプラズマと確認。
- (3) シュルツェマダニからヒト感染型アナプラズマおよびヒト感染型ネオエーリキアの検出に成功した。
- (4) 血清中のアナプラズマ抗体の検出技術の開発に成功した。
- (5) リケッチア症が疑われた不明発熱性疾患の血清中のアナプラズマ抗体の検出に成功した。
- (6) リケッチア症が疑われた患者の中に、*R. japonica* と *A. phagocytophilum* の混合感染を発見した。

・研究分担者(川端寛樹)

- (1) ライム病 *Borrelia garinii* 国内流行型と欧州型の病原性解析、特に宿主応答を指標とした病原性解析を行った。感染初期(皮内での免疫反応)、播種期における免疫逃避能力および髄膜刺激性について In vitro 解析を行い、国内流行株は欧州株と同等かそれ以上の病原性を示すことが明らかとなった。このことは、我が国で見出される *B. garinii* 株の一部は欧州で見出される神経ボレリア症など重篤な症状を引き起こす可能性が高いことを示している。これは In vivo でのマウスモデル実験でも確認された。

・分担研究者(猪熊 壽 平成 21、22 年度)

- (1) 伴侶動物、野生動物、家畜などが、リケッチア関連疾患に及ぼす疫学的役割を検討した。
- (2) 伴侶動物のダニ媒介性細菌感染状況調査: 全国のネコとイヌの血液を用い、*Anaplasma* 科細菌と紅斑熱群リケッチア感染状況を調査し、ネコで *A. bovis* 感染個体が 2 検体得られ、同病原体がネコにも感染することが示されたが、紅斑熱の保菌動物としての可能性は低いものと考えられた。イヌについては、紅斑熱群リケッチア感染状況では 1 頭が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *R. felis* 近縁であったが、ヒトへの関与は不明。
- (3) 野生動物のダニ媒介性細菌感染状況調査: 日本紅斑熱患者が急増している熊本県上天草地方において保菌動物として疑われているイノシシの疫学的役割を解明するため、感染状況を調査した。イノシシは *R. japonica* に感染するものの、保菌動物になる可能性は低いと考えられたが、イノシシ寄生マダニの調査では、イノシシが、*R. japonica* 感染マダニを人や家畜の生活環境内に持ち込む可能性が示唆された。

・研究分担者(鈴木正嗣)

- (1) 北海道、岐阜県、島根県、兵庫県、沖縄県などにおいて、地元行政や生態学研究者、狩猟者団体と協働で、系統的な野生動物(イノシシ、ツキノワグマ、エゾシカ等)やダニの採材とリケッチア調査を行い、野生動物のリケッチア症に関連する役割を検討した。
- (2) 2009 年～2010 年に島根県美郷町で捕獲されたイノシシについて紅斑熱群リケッチアの保有状況を調査した。タカサゴキララマダニとマダニが咬着していたイノシシの皮膚から *R. tamurae* の遺伝子断片が検出され、イノシシ体内へのリケッチアの侵入が確認された。
- (3) 岐阜県内と京都府内で捕獲されたツキノワグマの血液の一部から、*R. sp.* HJ126 と相同性の高い遺伝子が検出され、別の 1 検体から *R. canadensis* に近縁な配列の遺伝子が検出された。

・研究分担者(内山恒夫)

- (1) ほ乳動物由来細胞および節足動物由来細胞についてリケッチア感染細胞実験系を確立し、以下を明らかにした。①リケッチア外膜蛋白質の Sca0 と Sca5 が、ほ乳動物細胞へのリケッチアの付着を担う因子と判明。マダニのオートファジー関連蛋白質 Atg12 に対する抗体を作製し、飢餓誘導マダニ細胞中でのオートファジー発現をモニター可能となった。②病原性リケッチアを種々の細胞で共感染しても、単独感染と同様の増殖動態をとる。③非病原性リケッチアは、ほ乳動物細胞胞中で増殖抑制を受けるが、病原性リケッチアの重感染により増殖が誘導される。非病原性リケッチアの増殖抑制には、オートファジーが関与する。
- (2) *O. tsutsugamushi* に関する病原性の解析: ①強毒、弱毒株間で共通に発現が見られる蛋白質の主要なものを同定した。②オリエンチアゲノム中に 5 つの病原性関連遺伝子を同定した。③オリエンチア感染によりトリグリセリドの蓄積を伴う脂肪滴が形成される。④オリエンチア菌株ストック中のマイコプラズマ汚染を除去できた。

・研究分担者(林 哲也)

- (1) *O. tsutsugamushi* の全ゲノム情報を基に、ペプチドグリカン合成阻害薬であるホスホマイシンがつつが虫病治療薬となりうる可能性を細胞レベルおよびマウス感染モデルで明らかにした。
- (2) *O. tsutsugamushi* の IKEDA 株および Boryong 株のゲノム情報および両株のゲノム比較から、MLST 解析に有効な遺伝子群を同定し、*O. tsutsugamushi* の MLST 解析のプロトコールを作成し、進化系統を正確に反映した精度の高い菌株タイピングシステムであることを示した。
- (3) 日本紅斑熱リケッチア (2 株)、新型紅斑熱リケッチアである *R. heilongiagensis* および近縁の非病原性リケッチアである LON タイプ株の全ゲノム解析を行い、日本紅斑熱リケッチア (1 株) および *R. heilongiagensis* については全ゲノム解読に成功した。日本紅斑熱リケッチア (1 株) と LON タイプ株についても概要配列を取得し、現在フィニッシング作業中である。

・研究分担者(角坂照貴 平成 23 年度単年)

- (1) 殺ダニ効果が期待される 8 種の製剤 (農薬および天然物) を使用して、2 種のツツガムシ幼虫に対する殺ダニ効果を継続接触試験法と直接噴霧試験法で検討した。スミチオン (フェニトロチオン) は、樹木類から草本植物まで広域にわたって使用可能であることから、河川、養殖池等に飛散、流入しないよう注意して使用すれば生息数低減に効果的と考えられた。

・研究分担者(岡部信彦)

- (1) 全国各地でのリケッチア感染症啓発活動状況の把握が進んだ。
- (2) リケッチア感染症ハイリスク地域でも、風評被害の影響等から啓発活動が行えない地域の存在が明らかとなった。
- (3) 動的コンテンツを活用した啓発用 WEB ページを作製し、国立感染症研究所 HP の Web で公開した。
- (4) HP の Google analytics™を用いたアクセス解析結果や、HP 上でのアンケート結果等から、全国各地の幅広い層にリケッチア感染症を啓発できたことが推測された (11/30 現在約 8000 アクセス、9 割新規)。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 疫学的研究については、古典型つつが虫病の再出現に対する実態把握とリスク対応、また急増している日本紅斑熱と、新たな紅斑熱リケッチア症への具体的な対策の検討。
- (2) 臨床的検討では、日本紅斑熱による電撃性紫斑病はじめ重症例への対応を多施設検討でさらに重点的に検討し、保険する。
- (3) 検査・診断的研究では、恒久的リケッチア実験室診断体制の構築のため、必要な要件を洗い出し、優先度の高い項目についての強化の方法を検討し、実施する。レファレンス体制の維持に必要な情報を整理し、バイオリソースとしてのリケッチアのバンク構築をすすめる。
- (4) 基礎的研究としては、動物実験系、細胞実験系の確立を進める。
- (5) 予防・啓発的研究として、HP 等でより専門的なリケッチア関連情報を医療関係者向けに作成。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) リケッチア感染症は致死的になり得る疾患であるが、病原体の扱いは一般検査機関では困難であり、本研究班の成果は、感染研・地衛研での診断体制構築、維持強化に直ちに貢献できる。
- (2) 新型紅斑熱リケッチア症、ヒトアナプラズマ症、輸入リケッチア症などへの対策の整備立案、感染症法改定への提言で、サーベイランスシステムの厚生労働行政に寄与できる。
- (3) リケッチア感染症への総合的対策として、適切な情報提供や、予防・啓発を進めることで、国民の保健・医療・福祉の向上、健康維持に貢献できる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者(岸本壽男)

- (1) Takeshita N, Imoto K, Ando S, Yanagisawa K, Ohji G, Kato Y, Sakata A, Hosokawa N, Kishimoto T. Murine typhus in two travelers returning from Bali, Indonesia: an underdiagnosed disease. *Journal of Travelers Medicine*. 17:356-358, 2010.
- (2) Ando S, Kurosawa M, Sakata A, Fujita H, Sakai K, Sekine M, Katsumi M, Saitou W, Yano Y, Takada N, Takano A, Kawabata H, Hanaoka N, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T. : Human *R. heilongjiangensis* Infection, Japan. *Emerg Infect Dis*. 16: 1306-1308, 2010.
- (3) 川上万里, 梅川康弘, 田原研司, 木田浩司, 藤井理津志, 岸本寿男: 日本紅斑熱の一例: 岡山県初発例. *肝臓*. 51;714-721, 2010.
- (4) 森志朋, 櫻井英一, 赤坂俊英, 坂田明子, 安藤秀二, 岸本寿男. Pre-DIC を併発し polymerase chain reaction (PCR) 法で診断したツツガムシ病の 1 例. *臨床皮膚科*. 64 : 512-516, 2010.
- (5) 山下眞史, 木田浩司, 岸本壽男, 田原研司: 急性感染性電撃性紫斑病を合併した日本紅斑熱の 1 例. *病原微生物検出情報 IASR*, Vol. 31, 135-136, 2010.
- (6) 安藤秀二, 坂田明子, 花岡希, 川端寛樹, 藤田博己, 黒澤昌啓, 斉藤若奈, 矢野泰弘, 高田伸弘, 酒井克朗, 勝見正道, 関根雅夫, 小黒美舎子, 熊谷正憲, 岸本寿男. *Rickettsia heilongjiangensis* 国内感染の

第一症例の確認経過と感染源調査. 病原微生物検出情報. 31 : 136-137, 2010.

(7) 岸本寿男: リケッチア感染症 (つつが虫病・日本紅斑熱) 小児科診療 小児の治療指針 2010 増刊号. 73:141-142, 2010.

(8) 岸本寿男: つつが虫病, エーリキア症, Q 熱, オウム病, 日本紅斑熱, 肺炎クラミジア感染症 日本紅斑熱. 家庭医学大全科 6 訂版 法研 (東京):2495-2498, 2010.

(9) Hanaoka N, Matsutani M, Kawabata H, Yamamoto S, Fujita H, Sakata A, Azuma Y, Ogawa M, Takano A, Watanabe H, Kishimoto T, Shirai M, Kurane I, and Ando S. : Diagnostic assay for *Rickettsia japonica*: Emerg Infect Dis, 15: 1994-1997, 2009.

(10) Tamano Matsui, John Kobayashi, Hiroshi Satoh, Tsuguto Fujimoto, Nobuhiko Okabe, Shuji Ando, Toshio Kishimoto and Seigo Yamamoto: Surveillance Recognition, and Reporting of Tsutsugamushi Disease (Scrub typhus) and Japanese Spotted Fever by General Practice Clinics in Miyazaki Prefecture, 2007 Journal of Infection and Chemotherapy, 15: 269-272, 2009 .

11) Uchiyama, T., Ogawa, M., Kishi, M., Yamashita, T., Kishimoto, T., and Kurane, I. Restriction of the growth of typhus group rickettsiae in tick cells. Clinical Microbiology and Infection 15 (Suppl. 2) 332-333, 2009.

(12) Ogawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Uchiyama, T., Hagiwara, K., Hanada, K., Kurane, I, and Kishimoto, T. Shotgun proteomics of *Orientia tsutsugamushi*. Clinical Microbiology and Infection 15 (Suppl. 2), 239-240, 2009.

(13) 岸本寿男, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志: 薬剤感受性測定法と耐性菌 2 特殊微生物の抗微生物薬感受性測定法 クラミジア, リケッチア. 臨床と微生物. 36, 581-587, 2009.

(14) Nozomu Hanaoka, Akiko Sakata, Ai Takano, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe, Ichiro Kurane, Toshio Kishimoto, and Shuji Ando. Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive control in PCR for *Orientia tsutsugamushi*. Microbiology and Immunology. 53: 305-308, 2009.

(15) Ai Takano, Shuji Ando, Toshio Kishimoto, Hiromi Fujita, Teruki Kadosaka, Yoshiki Nitta, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe. Presence of novel *Ehrlichia* sp. in *Ixodes granulatus* found in Okinawa, Japan. Microbiology and Immunology, 53: 101-106, 2009.

研究分担者(高田伸弘)

(1) A, Takano., M, Nakao., T, Masuzawa., N, Takada., Y, Yano., F, Ishiguro., H, Fujita., T, Ito., X, Ma., Y, Oikawa., F, Kawamori., K, Kumagai., T, Mikami., Nozomu Hanaoka, S, Ando., N, Honda., K, Taylor., T, Tsubota., S, Konnai., H, Watanabe., M, Ohnishi., H, Kawabata. : Multilocus Sequence Typing Implicates Rodents as the Main Reservoir Host of Human-Pathogenic *Borrelia garinii* in Japan. Journal of clinical microbiology. 49(5): 2035-2039, 2011.

(2) 高田伸弘: 病気のはなしー最近のリケッチア症. 検査と技術, 39(4): 262-268. 医学書院 2011.

(3) 高田伸弘: 医ダニ類の形態と病害. モダンメディア, 57(6): 185-188, 栄研化学 2011.

(4) Ando, S., Kurosawa, M., Sakata, A., Fujita, H., Sakai, K., Sekine, M., Katsumi, M., Saitou, W., Yano, Y., Takada, N., Takano, A., Kawabata, H., Hanaoka, N., Watanabe, H., Kurane, I. & Kishimoto, T. : Human *Rickettsia heilongjiangensis* Infection, Japan. Emerg. Infect. Dis., 16: 1306-1308, 2010.

- (5) Iwasaki, H., Mizoguchi, J., Takada, N., Tai, K., Ikegaya, S. & Ueda, T. : Correlation between the concentrations of tumor necrosis factor- α and the severity of disease in patients infected with *Orientia tsutsugamushi*. Int. J. Inf. Dis., 14: 328-333, 2010.
- (6) Tabara, K., Kawabata, H., Arai, S., Itagaki, A., Yamauchi, T., Katayama, T., Fujita, H & Takada, N. : High incidence of rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick. J. Vet. Med. Sci., 72. 2010.
- (7) Yamauchi, T., Tabara, K., Kanamori, H., Kawabata, H., Arai, S., Katayama, T., Fujita, H., Yano, Y. & Takada, N. : Tick fauna associated with sika deer density in the Shimane Peninsula, Honshu, Jpn. Med. Entomol. & Zool., 60 : 297-304, 2009.
- (8) Takada, N., Fujita, H., Kawabata, H., Ando, S., Sakata, A., Takano, A. & Udom, C. : Spotted fever group *Rickettsia* sp. closely related to *Rickettsia japonica*, Thailand. Emerg. Infect. Dis., 46: 610-611, 2009.
- (9) 及川陽三郎, 田原研司, 荒井朋子, 所 正治, 高田伸弘 : わが国の野鼠血液からの病原体検出状況—特にネズミバベシアについて分布と感染性の考察. 大原年報, 49: 9-14, 2009.
- (10) 高田伸弘 : 島嶼調査の方法論. 大原年報, 49: 15-22, 2009.
- (11) Iwasaki, H., Mizoguchi, J., Takada, N., Tai, K., Ikegaya, S. & Ueda, T. : Correlation between the concentrations of tumor necrosis factor- α and the severity of disease in patients infected with *Orientia tsutsugamushi*. Int J Infect Dis 14: 328-333, 2010.
- (12) 玉置幸子, 那須征太郎, 玉置信彦, 辻 薫, 山西康仁, 水本博章, 西本英一郎, 東 冬彦, 玉置英人, 永井 勲, 森田祐二, 高田伸弘 : 郷土病 (ダニ媒介) への取り組み. 感染と消毒, 12 : 38-42, 2009.
- (13) 岩崎博道, 安藤秀二, 高田伸弘 : 肝リケッチア症. 日本臨床, 68, 2010 (印刷中)
- 研究分担者(藤田博己)
- (1) 馬原文彦, 藤田博己 : つつが虫病と日本紅斑熱 (特集 ヒトと家畜・ペット・野生動物の感染症—口蹄疫から学ぶ) — (野生動物と動物由来感染症). 公衆衛生, 75, 31-35, 2011.
- (2) Tabara, K., Kawabata, H., Arai, S., Itagaki, A., Yamauchi, T., Katayama, T., Fujita, H. and Takada, N. : High incidence of rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick. J. Vet. Med. Sci., 73: 507-510, 2011.
- (3) 佐藤寛子, 柴田ちひろ, 佐藤了悦, 斎藤博之, 安部真理子, 齊藤志保子, 國生泰範, 高橋 守, 藤田博己, 角坂照貴, 高田伸弘, 川端寛樹, 高野 愛, 須藤恒久 : 夏季の古典型つつが虫病症例と感染推定地周辺におけるツツガムシの生息状況調査—秋田県. 病原微生物検出情報, 31: 123-124, 2010.
- (4) 竹之下秀雄, 成田 雅, 山本正悟, 安藤秀二, 藤田博己 : 福島県におけるタテツツガムシによるつつが虫病. 病原微生物検出情報, 31: 125-126, 2010.
- (5) 安藤秀二, 坂田明子, 花岡 希, 川端寛樹, 藤田博己, 黒澤昌啓, 齊藤若菜, 矢野泰弘, 高田伸弘, 酒井克朗, 勝見正道, 関根雅夫, 小黒美舎子, 熊谷正憲, 岸本壽男 : *Rickettsia heilongjiangensis* 国内感染の第1症例の確認経過と感染源調査. 病原微生物検出情報, 31: 136-137, 2010.
- (6) 佐藤寛子, 國生泰範, 柴田ちひろ, 斎藤博之, 齊藤志保子, 藤田博己, 須藤恒久 : 秋田県において15年ぶりに確認された古典型つつが虫病的1例. 感染症誌, 84: 454-456, 2010.