

201225046A

アジアの感染症担当研究機関との
ラボラトリーネットワークの促進と
共同研究体制の強化に関する研究
(課題番号：H23- 新興 - 指定 - 020)

平成 24 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 倉根 一郎

国立感染症研究所

平成 25 (2013) 年 3 月

目 次

1. 平成 24 年度総合研究報告書

アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と 共同研究体制の強化に関する研究	1
研究代表者 倉根 一郎 国立感染症研究所	
研究協力者 渡邊 治雄 "	

2. 平成 24 年度研究分担者報告書

プロジェクト 1 : 中国

手足口病の疫学とエンテロウイルス 71 およびコクサッキーウイルス A16 の遺伝子解析 Epidemiology of HFMD and genetic characterization of HEV71 and CVA16	29
研究分担者 清水 博之 国立感染症研究所	
研究協力者 Xu Wenbo 中国 CDC	
Zhang Yong "	
レジオネラと肺炎球菌の分子疫学	36
研究分担者 倉 文明 国立感染症研究所	
研究協力者 前川 純子 "	
常 彬 "	
Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS: 重症発熱性血小板減少症)の 実験室診断法に関する研究	42
研究分担者 森川 茂 国立感染症研究所	
Molecular analysis and control of acute respiratory virus infections	48
研究分担者 松山 州徳 国立感染症研究所	

薬剤耐性淋菌の分子タイピング ----- 50

研究分担者	中山 周一	国立感染症研究所
研究協力者	志牟田 健	〃
	大西 真	〃

腸内細菌の molecular typing に関する研究 ----- 54

研究分担者	泉谷 秀昌	国立感染症研究所
-------	-------	----------

プロジェクト 2 : 台湾

赤痢アメーバに関する研究 ----- 57

研究分担者	津久井 久美子	国立感染症研究所
-------	---------	----------

日本および台湾における Dengue 熱輸入症例からの Dengue ウイルス 遺伝子解析 ----- 60

研究分担者	高崎 智彦	国立感染症研究所
研究協力者	小滝 徹	〃
	モイ メンリン	〃
	田島 茂	〃
	舒佩芸	台湾行政院衛生署疾病管制局
	鄧華眞	〃

結核菌の薬剤耐性 (台湾 CDC)

NDM-1 型薬剤耐性菌 (ベトナム NIHE) ----- 69

研究分担者	柴山 恵吾	国立感染症研究所
研究協力者	森 茂太郎	〃
	金 玄	〃
	松井 真理	〃
	鈴木 仁人	〃
	鈴木 里和	〃
	和知野純一	〃

非結核性抗酸菌感染症の研究 75

研究分担者	小林 和夫	国立感染症研究所
研究協力者	阿戸 学	〃
	松村 隆之	〃
	松本 壮吉	大阪市立大学大学院医学研究科
	前倉 亮治	国立病院機構刀根山病院
	北田 清悟	〃
	周 如文	台湾行政院衛生署疾病管制局
	王 振源	国立台湾大学医学院附設医院

ハンセン病の病原性と薬剤耐性に関する日台共同研究 78

研究分担者	甲斐 雅規	国立感染症研究所
研究協力者	牧野 正彦	〃
	前田 百美	〃
	中田 登	〃

下痢症ウイルスの高感度検出法の確立と分子疫学に関する共同研究 82

研究分担者	片山 和彦	国立感染症研究所
研究協力者	朴 英斌	〃
	戸高 玲子	〃

ブルセラ症の診断法の開発に関する研究

(含、日本・台湾のイヌにおけるイヌブルセラ菌感染状況調査) 87

研究分担者	今岡 浩一	国立感染症研究所
研究協力者	木村 昌伸	〃
	鈴木 道雄	〃
	水谷 浩志	東京都動物愛護相談センター
	山本 智美	〃
	久保田 菜美	〃
	岡本 その子	栃木県保健環境センター
	山本 明彦	国立感染症研究所
	柳井 徳磨	岐阜大学

台湾および石垣島の渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊調査	93
----------------------------------	----

研究分担者	津田 良夫	国立感染症研究所
研究協力者	金 京純	日本大学生物資源科学部

百日咳類縁菌 <i>Bordetella holmesii</i> に特異的な LAMP 検出系の開発	100
---	-----

研究分担者	蒲地 一成	国立感染症研究所
研究協力者	鱒坂 裕美	〃
	大塚 菜緒	〃
	藤戸 亜紀	高知県衛生研究所
	鍋島 民	〃
	松本 道明	〃
	岡田 賢司	国立病院機構福岡病院
	姚淑滿	台湾 CDC
	江春雪	〃
	渡邊峰雄	北里大学

Genetic relationship of vector mosquitoes and the vector-borne pathogens between Taiwan and Japan	112
---	-----

**Dr. Pei-Feng Wang, Dr. Cheo Lin, Dr. Hwa-Jen Teng,
Dr. Pei-Yun Shu, Dr. Tsai-Ling Liao, Dr. Tsai-Ling Liao
(Centers for Disease Control, TAIWAN)**

Genetic analysis of highly virulent strains of <i>Entamoeba histolytica</i> in the high risk groups between Taiwan and Japan	127
--	-----

**Dr. Dar-Der Ji.
(Research and Diagnostic Center, Centers for Disease Control, Taichung,
TAIWAN)**

Drug-resistance mechanism, pathogenesis and genomics of tuberculosis: Gene mutations in isoniazid-resistant <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	141
--	-----

**Dr. Pei-Chun Chuang, Dr. Ruwen Jou,
(Centers for Disease Control, Department of Health, Taiwan)**

Molecular studies on virulence and drug resistance of leprosy: Laboratory diagnosis of leprosy

----- 150

Dr. Wei-Lin Huang, Dr. Chi-Liang Huang, Dr. Ruwen Jou,
(Centers for Disease Control, Department of Health, Taiwan)

Sapovirus epidemiological study & quick diagnostic system for diarrheal viruses ----- 160

Dr. Fang-Tzy Wu,
(Centers for Disease Control, Taiwan)

Development of diagnostic methods for brucellosis and leptospirosis. ----- 170

Dr. Chia-Ling Chen, Dr. Shih-Hui Chiu, Dr. Jung-Jung Mu,
(Centers for Disease Control, Taiwan)
Dr. Koichi Imaoka, Dr. Nobuo Koizumi
(National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan)

Genetic diagnosis and molecular epidemiology of *Bordetella pertussis* ----- 174

Dr. Shu-Man Yao, Dr. Chuen-Sheue Chiang,
(Centers for Disease Control, Department of Health, Taipei, TAIWAN)

プロジェクト3：インド

コレラ菌のゲノム進化と病原性	-----	181
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	〃
	大西 真	〃
汎赤痢菌群に対するユニバーサル・ワクチンの共同研究	-----	185
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	〃
	Hemanta Koley	インド国立コレラ腸管感染症研究所
腸管系寄生虫症の解析	-----	190
研究分担者	野崎 智義	国立感染症研究所
エイズの流行とウイルス変異に関する研究	-----	195
研究分担者	俣野 哲朗	国立感染症研究所
Laboratory-based collaboration network of infectious diseases in Asia	-----	199
	Dr. Sekhar Chakrabarti,	
	Dr. Banwarilat Sarkar	
	Dr. Asish K. Mukhopadhyay	
	Dr. Sandipan Ganguly	
	Dr. Hemanta Koley	
	(National Institute of Cholera and Enteric Diseases, Kolkata, India)	

プロジェクト4：ベトナム

腸内細菌の molecular typing に関する研究 ----- 227

研究分担者 泉谷 秀昌 国立感染症研究所

アジアの感染症担当研究機関とのレプトスピラ症に関するラボラトリーネットワーク
の促進と共同研究体制の強化に関する研究 ----- 231

研究分担者 小泉 信夫 国立感染症研究所

北部ベトナムにおける手足口病の疫学とウイルス遺伝子解析
Epidemiology and molecular characteristics of the hand, foot, and mouth disease in the North of Vietnam
----- 236

研究分担者 清水 博之 国立感染症研究所

研究協力者 **Dr. Nguyen Thi Hien Thanh**
The National Institute of Hygiene and Epidemiology,
Hanoi (NIHE)

Laboratory diagnosis of enteroviruses from cases with Hand, Foot, and Mouth Disease in
2011-2012 in Vietnam North ----- 240

Dr. Nguyen Thi Hien Thanh, Dr. Tran Nhu Duong
The National Institute of Hygiene and Epidemiology,
Hanoi (NIHE)

ベトナム北部に流行する麻疹ウイルス、風疹ウイルスの解析 ----- 261

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

研究協力者 **Dr. Nguyen Thi Hien Thanh**
The National Institute of Hygiene and Epidemiology,
Hanoi (NIHE)

ベトナム国立衛生疫学研究所 (National Institute of Health and Environments : NIHE)との
炭疽および狂犬病に関するラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に

関する研究 ----- 267

研究分担者	井上 智	国立感染症研究所
研究協力者	野口 章	国立感染症研究所
	奥谷晶子	〃
	加来義浩	〃
	飛梅 実	〃
	阿戸 学	〃

Bazartseren Boldbaatar IVM

Nguyen Thi Kieu Anh

Hoang Thi Thu Ha

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

ベトナムにおけるヒストプラスマ症の基礎的、臨床的研究 ----- 297

研究協力者	大野 秀明	国立感染症研究所
研究協力者	田辺 公一	〃
	梅山 隆	〃
	山越 智	〃
	宮崎 義雄	〃

Thi Thu Ha Hoang

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

Nguyen Van Tien (Bach Mai Hospital, Vietnam)

Clostridium difficile 感染症の信頼性の高い細菌学的検査システムの確立と
アジアにおける *C. difficile* 感染実態調査 ----- 303

研究分担者	加藤 はる	国立感染症研究所
研究協力者	妹尾 充敏	〃
	柴山 恵吾	〃

Vu Thi Thu Huong

Tăng Thị Nga

Lê Thị Trang

Tham Chi Dung

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

The SECOND PHASE REPORT in 2012

Strengthening the research capacities of the National Institute of Hygiene and Epidemiology

on some neglected infectious diseases in Vietnam 307

Ministry of Health

The National Institute of Hygiene and Epidemiology,

Hanoi (NIHE)

3. 平成 24 年度業績

研究成果の刊行に関する一覧表（業績） 383

学会発表一覧表（業績） 395

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金総合研究報告書

アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの

促進と共同研究体制の強化に関する研究

研究代表者：倉根 一郎（国立感染症研究所 副所長）

研究協力者：渡邊 治雄（国立感染症研究所 所長）

概要：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。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。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。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。2011 年度から中国 CDC、台湾 CDC、ベトナム NIHE、インド NICED との研究協力を開始し、図 1 に示した疾患および病原体の解析を行ってきている。各国の病原体の伝播状況、及び遺伝的解析結果が共有されてきている。もっとも大きな成果は、2013 年 1 月にわが国最初の SFTS 事例が確認されたが、それは、まさしくこの研究ネットワークを通して中国 CDC から事前にウイルスおよびウイルス情報を得られていたので、検査準備が整っており迅速に対応できたことである。アジア各国との協力態勢の維持はわが国の防疫にとっても重要なものである。

研究分担者：	中山 周一	細菌第一部	
中国 CDC: Center for Disease Control との共同研究	駒瀬 勝啓	ウイルス第三部	
	泉谷 秀昌	細菌第一部	
清水 博之	ウイルス第二部	2) 台湾 CDC との共同研究	
森川 茂	ウイルス第一部	津久井久美子	寄生動物部
松山 州徳	ウイルス第三部	津田 良夫	昆虫医科学部
倉 文明	細菌第一部	小林 和夫	免疫部

高崎 智彦 ウイルス第一部
 柴山 恵吾 細菌第二部
 甲斐 雅規 ハンセン病研究センター
 片山 和彦 ウイルス第二部
 今岡 浩一 獣医科学部
 蒲地 一成 細菌第二部
 小泉 信夫 細菌第一部

3) インド NICED: National Institute of Cholera and Enteric Disease との共同研究

森田 昌知 細菌第一部
 三戸部治郎 細菌第一部
 野崎 智義 寄生動物部
 俣野 哲朗 エイズ研究センター

4) ベトナム NIHE: National Institute of Health and Epidemiology との共同研究

泉谷 秀昌 細菌第一部
 清水 博之 ウイルス第二部
 井上 智 獣医科学部
 駒瀬 勝啓 ウイルス第三部
 大野 秀明 生物活性物質部
 小泉 信夫 細菌第一部
 柴山 恵吾 細菌第二部

5) PulseNet-Asia

寺嶋 淳 細菌第一部

6) 国際協力の調整

宮川昭二 国際協力室

A. 研究目的:

高病原性鳥インフルエンザ、デング熱、下痢性疾患等のアジアで発生している感染症が旅行者等を通しわが国に進入する危険性が常に存在している。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。そのため、感染研では東アジア地区(中国、韓国、台湾)やインド等に存在する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)やASEAN機構との共同研究契約(MOU)を締結してきている。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当該研究機関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を行う。本研究においてはアジアで問題となっている感染症、①腸管系下痢症、②麻疹、インフルエンザ等の呼吸器系感染症、③ベクター媒介性疾患等の新興感染症を対象に研究プロジェクトを組織し、アジア地域とのネットワークを構築し、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。さらにアジアの

各地域の研究機関に研究委託を行い、そこで分離される病原体の分布、病原体の遺伝学的特徴等の調査・解析、そのデータベースの構築を行う。今までに、コレラ菌、デング熱ウイルスを用いて、アジア・環太平洋諸国の CDC 様研究機関との共同研究により、ゲノムの多様性を解析する手法の標準化、その制度管理 “いわゆる PulseNet Asia” や “パルボネット” の構築を行ってきた実績がある。昨年度から上記①～③に該当する疾患を対象に、特に政府も掲げている東アジア地区の研究機関（中国 CDC、韓国 CDC/NIH、台湾 CDC）と感染研の連携を強化してきている。さらにベトナム NIHE、インド NICED との連携も強化している。これ対象国；中国 CDC、台湾 CDC、インド NICED、ベトナム NIHE

全体計画：腸管係感染症、呼吸器系感染症、ベクター媒介性感染症および新興感染症の病原体を中心に、東アジアの CDC 様機能を持つ感染症の国立の専門研究機関（中国 CDC、韓国 CDC/NIH、台湾 CDC）およびインド（NICED）、ベトナム（NIHE）との共同研究を促進する。これらの研究所は、今までに感染研との間で共同研究契約（MOU）を締結してきた機関であり、実質的な共同研究体制の確立に繋がる。プロジェクト間の連携は、毎年少なくとも1回以上会合を持ち、進捗状況、意見交換を行う。現在は、病原体の移動・輸入が難しい状況にあるので、各国で患者、あるいは動物等から分離される病原体を解析し（委託研究）、そのデータベース

らを通し、Asia の CDC 様研究機関との連携と、病原体情報交換のパイプの強化及びその維持が可能となる。病原体を各国から手に入れるのは国際的に非常に難しい状況にある。原則的には各国で分離される病原体は委託して各国で解析してもらい、わが国では輸入感染症として分離される病原体を解析しそれらの比較解析、データベース化を行うことを基本とする。また、連携各国との国際シンポジウムを定期化し、情報の交換、人的交流を図る。それらが総合的に、アジア地区への我が国の国際貢献、および感染症コントロールに貢献することに繋がるであろう。

共通目標：各研究機関との共同研究プロトコルの作成を行った。各病原体の分離・検査法の確立と統一、検査マニュアルの作成、分子疫学的手法の開発と統一化、解析マニュアルの作成を H23 年度から開始した。統一された方法に基づき各国で分離される病原体の疫学マーカーの解析を行い、わが国のものとの比較検討を行う。結果のデータベース化を行い、共通に利用できる体制を構築する（H24、25年度）。新しい解析手法の開発に成功した場合には、お互いの国間での技術移転を行う。人的な交流も促進し、健康危機の発生時には迅速に情報の交換が行える体制を構築する。主任研究者が全体の進捗を調整する。分担研究者は研究組織に記載した病原体を担当する

各論（図1に概略を示す）：

中国CDC+韓国CDC/NIH：(1)腸管感染症として細菌（赤痢菌、コレラ菌）、ウイルス（EV71）の病原体の分子疫学手法の開発、病原体のgenotypeの比較解析、(2)ウイルス性出血熱；最近中国でダニを媒介とするブニヤウイルスが新規に発見された。その検査法の確立および媒介蚊、ウイルスの分布域を共同で調査する。また、新しいウイルスの存在に関する調査を行う。(3)呼吸器感染症：レジオネラ、麻疹、インフルエンザ等の病原体疫学調査、分子疫学調査をおこなう。一定のGenotypingにより病原体のデータベース化、(4)淋菌の薬剤耐性、その伝播に関する分子疫学解析を行う。

台湾CDC：(1)ベクター媒介性ウイルス感染症：台湾ではデング熱が流行している。その媒介蚊、ウイルスのgenotypeの疫学調査、(2)腸管病原体；赤痢アメーバ、下痢性ウイルス疾患の疫学調査、genotypingの比較、(3)結核菌の薬剤耐性：薬剤耐性パターン及び病原体のgenotypeの比較による国を超えての菌の伝播の調査、(4)らい菌の薬剤耐性調査、(5)希少感染症としてのレプトスピラ、ブルセラの調査、診断法の開発。

インドNICED：(1)インドで問題となっている下痢性疾患の迅速診断法の開発、新規の遺伝型の発生メカニズムの解析；病原体としてコレラ、赤痢、原虫症ジアルジアを扱う。(2)インド

ではHIV感染症が重要な課題。HIVウイルスのgenotypeの比較解析。ウイルスゲノムの変異とHLAとの関連性の進化的解析。

ベトナムNIHE：(1)ベトナムで流行しているEV71、HFMDの解析、(2)国境を越えて移動する狂犬病ウイルスの解析、(3)真菌の中重症のヒストプラズマ症の疫学、(4)麻疹、風疹の分子疫学、(5)コレラの流行解析と分子疫学、(6)炭疽菌の分子遺伝学的解析、(7)増加する耐性菌NDM-1の解析

C. 研究結果：

・研究代表者、研究協力者（倉根、渡邊）

(1) 中国 CDC，台湾 CDC，ベトナム NIHE，インドNICEDとの共同研究の進捗状況の把握

(2) 各国の研究所のプロジェクト担当者と感染研のカンターパートの話し合いを調整し、問題となる共通の感染症に関する共同研究を行った。下記のように共同研究発表会を開催した；台湾とは2012年9月21日に台湾CDCにて、中国とは2012年11月21日にNIIDで、ベトナムとは2013年3月1日にNIIDにて行った。そのプログラムを別添として示した。

中国 CDC チームとの共同成果；中国側の成果も一緒にまとめた。（日本の担当者名を示す）

- (1) 細菌性腸管感染症としてソネ型赤痢菌の MLVA 法の解析を行った。中国株との比較を開始した。ラボ間のネットワークを構築していくうえで、解析手法の共通化、標準化、harmonization は重要である。(泉谷)
- (2) 中国本土では、2008 年以来、多数の死亡例を含む手足口病あるいはエンテロウイルス 71 (EV71) 感染症の流行が報告されている。中国で流行している EV71 は genogroup C4 がほとんどで、より詳細には C4b (1998-2004 年) と C4a (2003-2012 年) に分類される。中国で重症例が多いが、その原因究明は今後の課題である。(清水)
- (3) 2009 年に中国で発生した重症発熱性血小板減少症 (SFTS) の原因ウイルスは、ブニヤウイルス科フレボウイルス属の新種のウイルス (SFTS ウイルス: SFTSV) であることが中国 CDC によって報告されている。SFTSV を媒介するフタトゲチマダニは、中国のみならず、日本を含めアジア、太平洋地域に広く生息している。遺伝子検出の PCR, 組み換え SFTSV 核蛋白質を抗原とした ELISA および間接蛍光抗体法による SFTSV 抗体の検出法を開発した。わが国へ中国 CDC から SFTSV が分与された。この研究班ができたため、病原体分与が可能となった。大きな成果であった。わが国で発生した SFTS の解析が 2013 年にスムーズに進んだ一つの要因でもあった。(森川)
- (4) TMRSS2 の発現した Vero 及び HeLa 細胞は、新型コロナウイルスでは 100 倍もの高い感受性が見られことが分かった。ウイルス増殖が非常に低いと考えられている NL63 株において、51 倍の増殖が見られた。TMRSS2 細胞はコロナウイルスの研究とサーベイランスの分野に貢献できるものと考えられる。(松山)
- (5) レジオネラ症の主要起因菌である *Legionella pneumophila* の分子疫学的解析には、sequenced based typing (SBT) 法が有用である。肺炎球菌についても Multi Locus Sequencing Typing (MLST) 法は有用である。MLST 法/SBT 法は菌株間の異同の確認が容易であるので、データベース化され、世界規模でのデータが蓄積してきている。中国及び日本の株の比較解析を行う。(倉)
- (6) セフトリアキソンに耐性の淋菌の出現と拡散動向を把握することを中心に分離株サーベイランスとその分子タイピングを行った。既に日本で出現した *penA* 遺伝子変異による耐性株の顕著な拡散は認められなかった。 β -lactamase の基質拡張型変異の一步手前となるタイプの淋菌の存在を中国で検討する。(中山)

台湾 CDC

- (1) 年々デング熱が流行しているが、わが国同様海外からの輸入症例も多い。我が国の 2010 年のデング熱輸入症例数は 245 であり、台湾では 300 例を超えた。日本および台湾のフィリピン、インドネシアからのデング熱輸入症例からの分離ウイルスは、近似なウイルスであることが多かった。高崎)
- (2) 日本・台湾由来赤痢アメーバ臨床株の遺伝子型の系統解析から、日本で見出された非病原性株は台湾で多く見出された非病原性株と系統が似ていること、病原性に関与する可能性が示唆されていた AIG1 family protein (EHI_176590) が東アジア株の解析から実際の病態に関与する可能性が示された。また、AIG1 family protein (EHI_176590) の分布は赤痢アメーバの系統に依存することも示唆された。(津久井)
- (3) 渡り鳥飛来地に生息する疾病媒介蚊に着目して、台湾と石垣島の水田地帯で媒介蚊採集を行った。調査はドラISTRAP を用いた成虫調査によった。2011 年と 2012 年に各 2 回現地調査を実施して、合計 31 種類の疾病媒介蚊が採集された。このうち両地域で共通して採集された種類はコガタアカイエカ、ヨツホシイエカなど 12 種類で、いずれも生息密度の高い主要な種類であった。日本脳炎ウイルスの検出を試みたが、検出できなかった。(津田)
- (4) 活動性非結核性抗酸菌 (特に、*Mycobacterium avium* complex : MAC) 感染症の迅速簡便血清診断 (所要 : 約 3 時間) の研究開発に関し、台湾-日本 (台日) 共同研究を推進した。血清診断キット (キャピリア® MAC 抗体 ELISA タウンズ) の異なる地域や民族における有用性を検討した。平成 24 年度の共同研究成果として、1) 台日でヒトを対象とする医学研究倫理審査の承認、2) 台湾の MAC 感染症患者血清を収集、3) MAC 抗体価を測定し、感度 : 59%、特異度 : 91% であった。(小林)
- (5) アジアにおける百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の流行状況を、台湾 CDC と共同調査した。百日咳様患者を対象に *B. holmesii* の遺伝子検査を実施した結果、日本における検査陽性者は 487 名中 0 名であったが、台湾では 1 名の *B. holmesii* 感染者を確認した。なお、百日咳菌の遺伝子検査陽性率は日本が 9.0%、台湾が約 10% とほぼ同様な成績を示した。(蒲池)
- (6) らい菌の薬剤耐性に関する研究で、検出された薬剤耐性変異の詳細な解析を中心に共同研究を行った。耐性変異解析のために 13 例の検

体から抽出した DNA を用い、9 例でらい菌由来 DNA を検出し、そのうち 2 例がダブソン耐性変異を示した。この検体は症例情報から耐性が疑われる難治例であることがわかった。(甲斐)

- (7) 日本・台湾のイヌにおける *B. canis* 感染状況調査として、同一の手技により、その抗体保有状況を検討、比較した。*B. canis* に対する抗体は、マイクロプレート凝集反応 (MAT) を用いて測定した。東京都、栃木県、東北 6 県より新たに検体を得た。これまでに検討していた結果と併せて、国内のイヌは、4.9% が抗体陽性、すなわち感染歴を持つことがわかった。また、500 検体前後調査した中では、神奈川県は 2.5% に比較して、栃木県は 6.5%、東京都は 7.9% と陽性率が高くなっていた。(今岡)
- (8) 台湾における 2010 年から 2012 年の Norovirus 感染患者便検体約 300 検体を解析した。2011 年までの事前調査では、両国の Norovirus 流行は GII.4 を主要流行株とする流行から GII.4 と GII.2, GII.3 が同レベルに混在する流行パターンを示していた。2012 年度は、日本だけでなくヨーロッパやアメリカでも新規 GII.4-2012 バリエントが大流行した。台湾では新規 GII.4-2012 バリエントが大流行の兆しを見せ始めた。(片山)

インド:

- (1) コレラ流行地における *Vibrio cholerae* の変遷について理解するため、multilocus variable number tandem repeat analysis による分子疫学解析を行った。インド国立コレラ及び腸管感染症研究所より提供された供試菌株は全て El Tor variant 型 *V. cholerae* であったが、MLVA によるクラスター解析では比較的高い遺伝的多様性を示した。しかしながら、他のアジア各国由来の菌株との比較ではインド由来株でクラスターを形成し、コレラ流行株に地域性があることが示唆された。(森田)
- (2) 汎赤痢菌群に効果があるワクチンの候補として、赤痢菌の病原性発現に関わる RNA 結合蛋白遺伝子 *hfq* の欠損変異株を用いて、モルモットの角結膜炎モデルで効果を判定した。過去に行われた角結膜炎モデルと同様に *hfq* 欠損株は免疫時の症状が軽く、血清型が異なる志賀菌 Sd1 に対してワクチン効果が再現された。(三戸部)
- (3) 原虫が哺乳動物に侵入し、組織傷害を起こす際に暴露される酸化ストレスに対して、原虫側がどのような代謝調節を行うかを検討した。酸化ストレスにより、エネルギーを消費するとともに、新規エネルギー合成を解糖経路で行わなくなることが示された。酸化ストレス

により、グリセロール 3 リン酸を介したグリセロールの合成、同時に ATP の合成が行われることが明らかとなった。(野崎)

- (4) CTL 逃避変異を反映する HLA 関連 HIV 変異の動向把握は、HIV 感染症のコントロールに重要である。インド国 HIV 感染者の HLA 遺伝子型同定法を確立し、解析した結果では、HLA-A、HLA-B および HLA-C 各々について、比較的頻度の高いアレルが見いだされた。今後、これらの HLA アレルに相関する HIV ゲノム変異同定に結びつくことが期待される。(俣野)

ベトナム NIHE チーム:

- (1) 2011 年の手足口病流行期における、北部ベトナムにおける手足口病患者由来検体から、エンテロウイルスの検出・同定を行った。エンテロウイルス陽性検体の半数弱からエンテロウイルス 71 が検出され、その他のエンテロウイルスの中ではコクサッキー A6 型およびクサッキー A16 型が比較的多く検出された。エンテロウイルス 71 分離株の遺伝子型 C4 が比較的多く検出されたが、遺伝子型 B5 と C5 も同時期に伝播していたことが明らかとなった。エンテロウイルス 71 遺伝子型の推移と重症例を含む手足口病流行との関連について、今後も注視が必要である。(清水)
- (2) NDM 型カルバペネマーゼ産生菌は、日本においてはこれまで 6 例報告があるのみだが、ベトナムにおいては医療機関で頻繁に分離されている。ベトナムで分離された NDM 遺伝子陽性 *Acinetobacter baumannii* 株 12 株の MLST 型を調べたところ、全てが、世界的に流行タイプとして知られている CC-92 とは異なるタイプだった。日本国内においては、途上国に旅行中に現地の医療機関に入院し、帰国して国内の医療機関に入院する患者について、特に NDM 型のような外国で蔓延している耐性菌について注意を払う必要があると考えられる。(柴山)
- (3) MLVA 等による解析から 2009 年初夏のコレラ流行が小さな第一波と大きな第二波からなることが示唆された。NIHE におけるラボの菌株解析能力の向上もさることながら、リアルタイムに患者の疫学情報と組み合わせて対策を講じていくことの重要性も示唆された。(泉谷)
- (4) ベトナムにおける麻疹、風疹の流行状況、検査技術等を確認し、日本で用いている高感度の麻疹ウイルス遺伝子検出系の技術移転を図った。また過去に採取された血清から検出された麻疹ウイルスの遺伝子解析の結果、近年の流行株は遺伝子型 H1 のウイルスであるが、2007 年を境に異なる系統のウイ

ルスが流行した可能性が考えられた。(駒瀬)

- (5) ベトナムで分離された *Leptospira interrogans* の分子タイピングを、multiple locus variable-number tandem repeats analysis (MLVA) により行った。MLVA は、これまでの分子タイピング法で同じタイプと分類された異なる血清群分離株を識別できることが明らかとなった。またこれらの国に分布する *L. interrogans* と保有動物の多様性および普遍性が明らかとなった。(小泉)
- (6) ベトナムで、*C. difficile* 分離培養を開始した。研究室で、病原体の解析を行うこと、新しい技術を導入していくことが重要であることはもちろんであるが、臨床現場の実態の把握も、必須であると考えられた。今回開発した新規細菌学的検査法は栄養型 *C. difficile* を特異的に検出することが可能であることが明らかになった。(加藤)
- (7) 狂犬病：(1) ベトナムで流行しているウイルス株を簡易かつ迅速に検出できる LAMP 法の確立、(2) 診断ラボのネットワーク強化に必要となる検査系の検証法を検討、(3) NIHE と地域ラボとのネットワーク強化を目的に、北部の流行地域で狂犬病の臨床・検査・疫学等を網羅したモデル研修を試みた。

炭疽：(1) 2011年6月にベトナムの北部山岳地帯で発生した皮膚炭疽から分離した菌株について NIID で構築した 80-SNP (Single Nucleotide Polymorphism) を利用して系統解析を行い、ベトナム株はアジア分離株の多数含まれる A3 クラスタに所属するが日本株 (A3a クラスタ) やモンゴル株 (A3b クラスタ) と異なるクラスタを形成することを明らかにした。(井上)

- (8) ハノイ市における医療機関で呼吸器感染症が疑われた症例を対象にしたヒストプラズマ症の疫学調査では、ヒストプラズマ症の確定診断が得られた症例は現時点まで確認できなかったが、抗ヒストプラズマ抗体の陽性率は約 28%であった。(大野)

Pulse-Net:

アジア太平洋地域における細菌性下痢症起因菌のサーベイランスとして PulseNet Asia Pacific (PNAP) が稼働している。PNAP における正確なデータ収集を確保するためには解析方法の標準化とともに、標準化方法を使用した解析技術の精度管理を徹底することが重要である。PNAP では、Pulse-field Gel Electrophoresis (PFGE) 及び解析アプリケーションである BioNumerics を使用してデータの収集と解析が行われている。本ネットワーク機能を強化するための活動として、当該地域の PNAP 構成国あるい

は参加を希望する国・地域を対象とした Pulse-field Gel Electrophoresis (PFGE) 及び解析に使用するアプリケーションである BioNumerics のワークショップを計画・実行した。(寺嶋)

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。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）の解析結果の情報の収集を図る基盤的研究成果は、アジア地域における新規病原体の発生の迅速検知、その制御に向けたアジア地域での協力体制の確保を図ることに多大なる貢献をすることが期待できる。

2年目の成果及び今後の連携の促進に向けて、各国（中国 CDC、ベトナム NIHE、台湾 CDC と行った。インド Niced とは日程の調整がうまくいかず来年度に行うことにした）との共同研究報告会を開催した。その結果、以下の様な効果が現れた。1) 事前に各研究者同士の打ち合わせが行われると同時に、来日時、および訪問時に face

to face の討論が可能となった。それによりお互い何も求めているのか等の、お互いの意思の疏通が非常にスムーズに行くようになったことは大きな成果であった。2) 各国で問題となっている感染症の現状をお互いに理解することができ、問題となっている病原体の詳細なる解析を共通の解析技術をもって行えた。

当共同研究を通していくつかのアジアで共通に問題となっている課題が浮かび上がってきた。1) EV71 による髄膜炎を含む重症事例が、中国、ベトナム等で発生しており、その genotype は C4 である。わが国では HFMD が主で CV16, CV6 によるものである。EV71 も見られるが、重症例の頻度はわずかである。その临床上およびウイルス流行の違いが何に起因しているかの原因の究明はお互いの国にとって興味あるところである。2) カルバペネム等の临床上重要な抗菌薬に耐性を示す NDM-1 遺伝子をもつ菌の分離率がベトナム等で上昇している。その頻度は 2012 年度には 10%以上にもなっているという。わが国での分離率が 1%にも満たないことと比べると、非常に高率である。アジアでは環境中からも NDM-1 遺伝子が分離されている。アジアでは医師の処方箋なしでも市中で抗菌薬が容易く購入し、服用できるという状況が背景にあると考えられる。わが国へも旅行者等を介して持ち込まれる可能性も高いことから、注意が必要である。3) ベトナム、中国では狂犬病が大きな問題となってい