

流行地域の在留邦人や海外派遣企業の担当者を対象にした調査で、蚊の対策に関する知識が不足していることが明らかになった。このため、2013年度はデング熱の予防対策に関する動画（DVD）を作成した（図3）。この動画はデング熱の概要、蚊の吸血を防ぐ対策の重要性、昆虫忌避剤の使用法の3部から構成されており、インターネット上のホームページ「海外旅行と病気」などで一般の渡航者向けに公開している。

・デング熱予防マニュアルの作成

トラベルクリニックや海外派遣企業の医療関係者を対象に、デング熱の予防を指導するためのマニュアルを作成した。このマニュアルでは、デング熱の症状、診断と治療、予防方法（昆虫忌避剤の使用法など）を説明するとともに、重症デングの予防や発病時の対処方法についても記載した。トラベルクリニックや海外外派遣企業の健康管理室への配布を予定している。

・医療講演会の開催

2013年12月3日にマニラの日本人会で、現地在留邦人を対象に「医療講演会」を開催した。この講演会はマニラ日本人会と海外邦人医療基金が共催したもので、演者は濱田が担当し、デング熱などの感染症対策について約2時間の講義を行った。参加者数は20名と比較的少なかったが、その模様は現地の日本語新聞「マニラ新聞」でも紹介された（図4）。

D. 考察

今年度実施した「海外派遣企業の健康管理担当者」を対象にした調査では、大企業からの回答が数多く寄せられた。海外勤務者の健康問題の中でも感染症が大変重要と考える企業が多く、心配な感染症としてはウイルス肝

炎、狂犬病、デング熱などが上位に挙げられた。駐在員にワクチン接種を推奨している企業は9割近かったが、出張者に推奨している企業は半数にとどまった。また、帰国後に感染症を疑う患者の診療ができる医療機関を特定している企業も半数だった。自社の海外勤務者にデング熱罹患者がいると答えた企業は約30%と比較的多かった。こうした罹患者の再感染による重症化を予防する対策としては、「蚊の対策」や「再感染時の迅速な医療機関受診」をあげる企業が多かったが、「流行地域に滞在させない指導」を行っている企業も少数ながらみられた。

今年度の「デング熱の知識レベル」に関する調査は、「マニラ在留邦人」と「一般の海外渡航者」を対象に実施した。「マニラ在留邦人」については2011年度も調査を行っているが、今年度の正解率は前回と大きな差がなく、蚊の吸血する時間帯（昼間）を問う質問の正解率が前回同様に低かった。「一般の海外渡航者」については、「日本で流行しているか?」「ワクチンがあるか?」など基本的な質問の正解率が低く、一般向けの情報提供にあたってはこの点を考慮する必要がある。

マニラ在留邦人のデング熱罹患者は2012年、2013年ともに6月～8月の雨期に多発していた。患者の一部は入院を要したが、重症化する例はなく、全員軽快していた。患者の居住地域をみるとマニラ市内のR地区が多かった。このため2013年12月にR地区の環境調査を行ったところ、建設工事による水たまりが数多くみられ、媒介蚊が生息しうる環境になっていた。さらに同地区はスラム街が隣接しており、周囲にデング熱患者が多い環境にあった。こうした現地の環境を熟知したうえで、デング熱の予防対策を実施する必要が

ある。

以上の調査結果をもとに、2013年度は「デング熱予防対策の動画」と「デング熱予防マニュアル」を作成した。前者は一般の海外渡航者、後者はトラベルクリニックや海外派遣企業の医療関係者を対象にしたものである。また、2011年度より開設しているインターネット上のホームページ「海外旅行と病気」では、情報を毎月更新し、月に3000件前後のアクセスが得られた。

E. 結論

今年度は「海外派遣企業の健康管理担当者」を対象に、海外勤務者の感染症対策の状況に関する調査を行った。この集団ではデング熱などの感染症を重要な健康問題と認識しており、従業員にデング熱の罹患者がいる企業も少なくなかった。デング熱の予防については適切な対応がなされていたが、罹患経験のある従業員を流行地域に滞在させない指導をしている企業も少数あった。また「マニラ在留邦人」や「一般の海外渡航者」を対象に知識レベルの調査を行ったが、後者については基本的な知識が不足していることが明らかになった。さらに、マニラ在留邦人のデング熱罹患状況を解析したところ、ある地区の住民に患者発生が多くみられた。この地区の環境調査により蚊の発生や患者の存在など、デング熱感染がおりやすい環境が確認された。

以上の調査結果をもとに今年度はデング熱

予防のための動画や、医療従事者向けの予防対策マニュアルを作成した。こうした成果物により海外渡航者のデング熱罹患が減少していくことを期待している。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・濱田篤郎、山口佳子：デング熱の予防対策。バムサジャーナル 26：掲載予定，2014
- ・濱田篤郎：海外旅行時の感染症対策。Infection Control 22：105-108，2013
- ・濱田篤郎：海外渡航者への感染症予防対策。都薬雑誌 35：4-9，2013
- ・濱田篤郎：海外渡航中に注意する健康問題と予防法。国際人流 2013.12：4-8. 2013

2. 学会発表

- ・濱田篤郎：海外渡航者の感染症とワクチン 第54回日本臨床ウイルス学会 2013年6月9日 倉敷

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1. 海外の感染症情報の入手元*

(回答総数：68社、複数選択可)

情報源	回答数
外務省 HP	55
厚生労働省検疫所 HP	53
テレビ・新聞	30
海外機関（WHO など）HP	29
国内民間機関 HP	22

*海外派遣企業の健康管理担当者を対象に
海外の感染症情報の入手元を質問した

表2. デング熱に罹患した従業員の再感染による重症化予防策*

(回答総数：68社、複数選択可)

対策	回答数
蚊に刺されない対策の指導	34
再感染時の医療機関への受診指導	27
流行地域に滞在させない指導	4
とくに指導なし	8

*海外派遣企業の健康管理担当者を対象に質問した

表3. デング熱の知識レベルに関する質問の正解率

	質問 「はい」か「いいえ」	正解	マニラ在留邦人		一般の海外渡航者 (2011～2013年) 830名
			(2011年) 76名	(2013年) 17名	
原因	蚊に刺されて感染？	はい	96.1%	100%	91.1%*
	ウイルスが原因？	はい	70.8%	81.3%	84.0%
疫学	日本国内でも流行？	いいえ	90.1%	87.5%	79.3%
	都市部は安全？	いいえ	100%	100%	92.0%
症状	熱や発疹がでる？	はい	98.7%	100%	89.0%
	命にかかわる病気？	はい	90.1%	93.8%	92.4%
予防	ワクチンで予防？	いいえ	97.3%	87.5%	77.0%
	昼間、蚊に刺されない 対策が有効？	はい	54.1%	56.3%	86.7%
治療	市販の解熱薬を服用？	いいえ	90.7%	81.3%	91.3%
	特効薬はない？	はい	86.5%	100%	85.7%

*この対象者のみ質問を「患者に近よると感染する？」（正解：いいえ）にした。

表4. マニラ日本人会診療所で診断された在留邦人のデング熱患者数

	2012年	2013年
患者総数	55名	54名
重症度	入院数：16名（29.0%） 死亡数：0名	入院数：18名（33.0%） 死亡数0名
年齢	成人：41名（74.5%） 小児：14名	成人：45名（83.3%） 小児：9名
性別	男性：32名（58.2%） 女性：23名	男性：37名（68.5%） 女性：17名
滞在形態	駐在員：26名（47.3%） 帯同家族：29名 旅行者：0名	駐在員：32名（59.3%） 帯同家族：20名 旅行者：2名

図1：月別のデング熱患者数

(マニラ日本人会診療所で診断された在留邦人の患者)

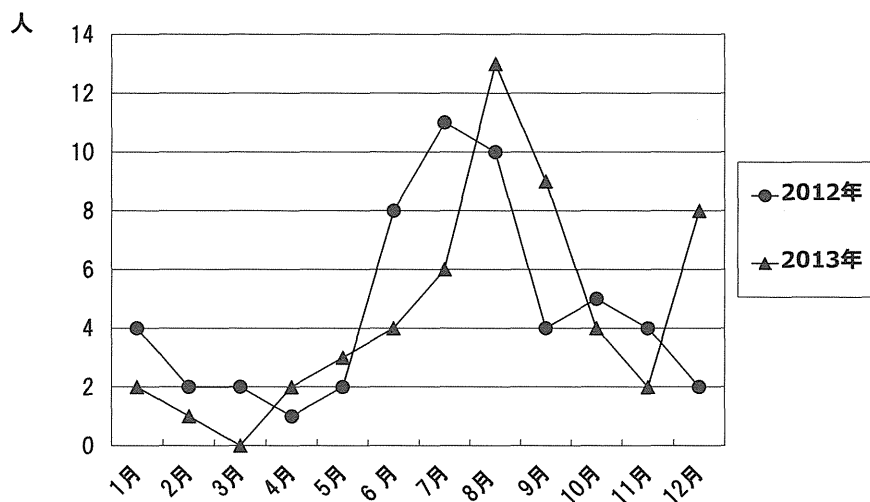
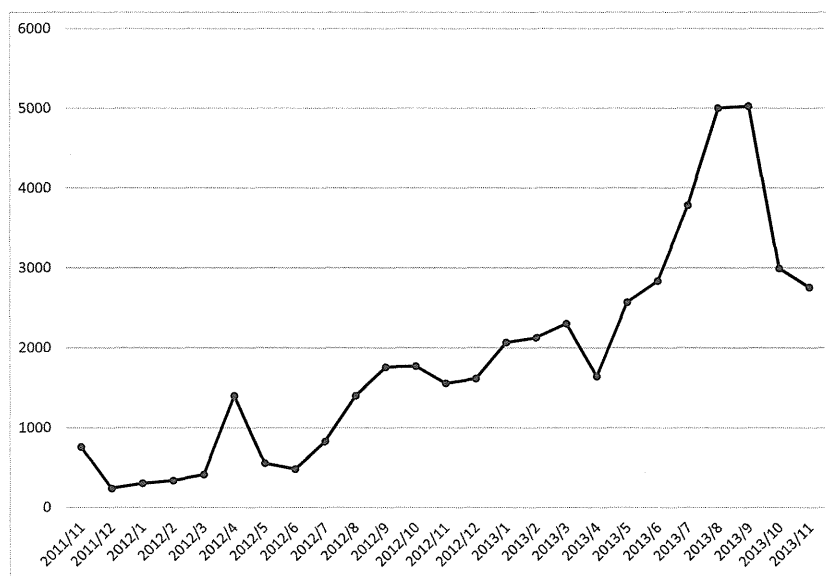


図2. ホームページ「海外旅行と病気」のアクセス件数
(2011年11月～2013年11月)



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）

「我が国への侵入が危惧される蚊媒介性ウイルス感染症に対する

総合的対策の確立に関する研究」

（H23－新興－一般－010）

分担研究報告書

新規蚊媒介性ウイルス感染症の実験室診断と輸入症例の確認

研究分担者 高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部）

研究協力者 モイメンリン、小滝徹、中山絵里、田島茂

（国立感染症研究所ウイルス第一部）

朽谷健太郎（京都市立病院 感染症科）

忽那賢志（国立国際医療研究センター病院 国際感染症センター）

倉根一郎（国立感染症研究所）

研究要旨

蚊媒介性ウイルス感染症としては、デング熱とチクングニア熱である。しかし、最近ではデングウイルスと近縁の *Zika virus* による *Zika* 熱が太平洋島嶼国や東南アジアで流行し、チクングニアウイルスと近縁なロスリバーウイルスによるロスリバー熱が、オーストラリアで流行している。そこで、これら感染症の輸入症例対策としてロスリバーウイルス、*Zika* ウイルスの実験室診断法を立ち上げたところ、2013年にそれぞれ疑い例を認め、実験室診断の結果、初輸入症例を確定した。ロスリバー熱症例は、2013年1月13日よりオーストラリアのメルボルンにワーキングホリデーで滞在。滞在中の2月28日～3月6日までタスマニアに一時渡航。3月14日起床時に、左足首より遠位の腫脹と疼痛を自覚、翌日には歩行困難となったことから、現地の病院を受診した。5月中旬に帰国し、京都市内の病院を受診し、ロスリバーウイルス抗体検査を実施し、診断が確定した。

2013年12月にフランス領ポリネシア（タヒチ）のボラボラ島に渡航した日本人 *Zika* 熱輸入症例を *Zika* ウイルス遺伝子を検出することにより確定診断した。*Zika* 熱はデング熱様臨床症状を呈するためデングウイルス、チクングニアウイルスに関する検査も実施したが、どちらも陰性であった。

A. 研究目的

ロスリバー熱は、オーストラリア、パプアニューギニア、ソロモン諸島にみられる。疾患自体は1928年に報告されたが、ウイルスは1959年、ロスリバー（Ross River）河口のタウンズビルで捕獲されたハマベヤブカから初めて分離された。主な媒介蚊は、沿岸部では

Aedes camptorhynchus、*Aedes vigilax*（ハマベヤブカ）、内陸部では *Culex annulirostris* などである。オーストラリアでは毎年約4,800人の患者報告があり、ほとんどが南半球の夏～秋にあたる1～5月にかけて発生し、2～4月にピークとなる。2010～2011年の1年間にオーストラリアで報告された蚊

媒介性疾患患者 9,291 人のうち、ロスリバー熱は 5,653 人(人口 10 万対 25.0)と他の蚊媒介性疾患に比較し最も多かった。また患者数が最多だったのはクイーンズランド州(1,397 人)であるが、南オーストラリア州やビクトリア州で患者数が急増しており、南部への急速に流行地域が拡大している。

Zika fever は Zika virus(ZIKV)が蚊によって媒介され発症し、その病態はデング熱に類似している。Zika virus もフラビウイルス科フラビウイルス属のウイルスであり、デングウイルスと近縁である。 *Aedes africanus*、*Ae. apicoargenteus*、*Ae. luteocephalus*、*Ae. aegypti*、*Ae. vitattus*、*Ae. furcifer*、*Ae. hensilii* などから ZIKV が分離され、ヤブカ属の蚊が媒介蚊であると考えられている。アフリカ、アジア、西太平洋の特定の地域で ZIKV に感染するリスクがある。2007 年にはミクロネシアのヤップ島でのアウトブレイクが報告されている。最近では、タイからドイツへの輸出症例や米国 Centers for Disease Control and Prevention (CDC)により 2013 年 11 月 21 日にボラボラ島を含むフランス領ポリネシアにおいて Zika virus 感染症のアウトブレイクが報告されており、患者は数万人にも及ぶと推計されている。これらの、比較的新しい蚊媒介性ウイルス感染症も、流行拡大の可能性があり我が国でもウイルス侵入に備える必要がある。

B. 研究方法

1) ロスリバーウイルス遺伝子検出法

リアルタイム逆転写 PCR TaqMan 法を用いた。ロスリバーウイルス株 (T-48A 株、QML#1、QML#2、Couper) 4 株を用

いて感度を検討した。

2) ロスリバーウイルス特異的 IgM 捕捉 ELISA 法

ROSS RIVER VIRUS IgM ELISA (panbio 社、Cat No.:E-RRV01M) を既存の IgM 抗体検出系として用いた。本キットは血清中 IgG 抗体吸収法を用いた。

3) ロスリバーウイルス中和抗体測定

ロスリバーウイルス (T-48) を攻撃ウイルスとして用いたプラーク減少法によった。

4) Zika virus 遺伝子検出法

リアルタイム逆転写 PCR TaqMan 法を用いた (米国 CDC の方法によった:

Lanciotti RS, et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(8):1232-9.)

5) Zika ウイルス中和抗体測定

50%プラーク減少法により、血清を段階希釈して抗体価を測定した。

C. 研究結果

1) ロスリバーウイルス初輸入症例

2013 年 1 月からワーキングホリデーを利用して、オーストラリアに渡航していた。2 月末から 1 週間タスマニアに旅行している以外はメルボルンに滞在していた。3 月 14 日起床時に左足背の疼痛と腫脹、右膝の疼痛を自覚し、歩行困難であった。翌日には関節可動域制限も出現し、現地で家庭医 (general practitioner) を受診した。原因ははっきりせず消炎鎮痛薬処方となった。その後、疼痛は悪化こそないものの、改善も徐々にしかない状態であった。3 月末に

は左手母指の起始部にも疼痛が出現し、4月上旬に発症時のような腫脹はみられなかったが疼痛が再び悪化し、発症時と同程度の疼痛となった。5月初旬から疼痛は徐々に改善し、歩けるようになってきた。またこの頃、ロスリバーウイルスの検査が陽性であったと医師より告げられた。5月7日頃から両手指に痛みがあり動かさにくかった。症状が続くため5月中旬に帰国、国内医療機関を受診し、国立感染症研究所にて確認検査を実施した結果、表2に示す如くロスリバーウイルス IgG 抗体、IgM 抗体ともに陽性であった。

2) Zika 熱輸入感染症の2症例

(症例1) 27歳の日本人男性が2013年12月2日から12月7日まで観光のためにフランス領ポリネシアのボラボラ島に滞在した。12月9日より頭痛が出現し、数時間後から38°C台の発熱が出現した。12月10日より関節痛、12日に咽頭痛と皮疹がそれぞれ出現した。12月13日に国立国際医療研究センターを受診した。その際は体温37.2°Cで、顔面、体幹、四肢に掻痒感を伴わない紅斑を認めた。血液検査では白血球3310/ μ L、血小板14.9万/ μ Lと減少を認めた。デング熱の迅速検査ではNS-1抗原、IgMおよびIgG抗体いずれも陰性であった。国立感染症研究所にて血清(12月13日)中にrealtime-逆転写PCR(TaqMan法)検査でZika virus RNAを検出した。受診翌日に解熱し、紅斑は徐々に消退した。

(症例2) 33歳の日本人女性が2013年12月14日から12月23日までフランス領ポリネシアのボラボラ島に滞在した。12月23日頃より37°C台後半の発熱が出現し、

12月29日から頭痛、後眼窩痛が出現した。12月31日から顔面、体幹、四肢に皮疹が出現した。1月2日発熱、頭痛は消失したが、皮疹の掻痒感が増強したため1月3日に国立国際医療研究センターを受診した。体温36.9°Cで、身体所見上、眼球結膜充血、両顎下・鼠径リンパ節腫脹および顔面、体幹、四肢に紅斑を認めた。血液検査では白血球3470/ μ L、血小板14.7万/ μ Lと減少を認めた。デング熱の迅速検査ではNS-1抗原、IgMおよびIgG抗体いずれも陰性であった。国立感染症研究所で1月3日の血清と尿を検査し、realtime-逆転写PCR(TaqMan法)検査で尿中からZika virus RNAを同定し、同ウイルスによる感染症と診断した。検出したRNAを遺伝子解析した結果、GenBankに登録したアクセッション番号はAB908162である。配列に基づいて作製した遺伝子系統樹をFig.1に示す。血清中の中和抗体価は、20倍から1280倍に上昇した。

D. 考 察

日本人のオーストラリア入国者数は、年間約36万人で、3月・8月のピーク時には4万人以上に上る。ロスリバー熱はチクングニア熱と比べると世界的な流行拡大傾向はないが、我が国でも輸入症例に対する実験室診断を確立する必要がある。また、輸入症例が確認されたことから、日本国内に生息する蚊のロスリバーウイルス媒介能も検討する必要がある。今回の症例では熱発がなく、最初感染症を疑われなかった点に留意すべきで、日本国内で患者発生する事態になれば、原因不明の関節炎の集団発生という事態を招く場合も想定する必要がある。

Zika 熱は、その臨床像がデング熱と類似であるため、デング熱の流行地では Zika 熱流行が見逃されている可能性があり、時にミクロネシア、ポリネシアなどで流行が発生する。2013 年 11 月にボラボラ島を含むフランス領ポリネシアにおいて Zika virus 感染症のアウトブレイクが報告され、今回の輸入 2 症例が確認されたものである。Zika 熱はデング出血熱のような重症化リスクは低いようであるが、デングウイルス感染との血清学的鑑別診断の評価、日本国内に生息する蚊の Zika ウイルス媒介能も検討する必要がある。デングウイルスでも見られる現象であるが、Zika virus 遺伝子が患者の尿中から検出可能であることが明らかになったことは、病原体診断上非常に有用である。

E. 結 論

ロスリバー熱、Zika 熱の実験室診断法を確立し、ロスリバー熱と Zika 熱輸入症例を我が国で初めて確認した。

F. 健康危険情報

2013 年 11 月より、フランス領ポリネシアで Zika 熱が流行している。

G. 研究発表(本報告タイトル関連に限定)

1. 論文発表

S Kutsuna, Y Kato, T Takasaki, M L Moi, A Kotaki, H Uemura, T Matono, Y Fujiya, M Mawatari, N Takeshita, K Hayakawa, S Kanagawa, N Ohmagari. Two cases of Zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014. *Eurosurveillance*, Volume 19(4)8-11.(30 January) 2014.

中谷逸作、黒田友顕、田淵幸一郎、三島伸介、孫 瑛洙、高崎智彦、尾崎吉郎、野村昌作、西山利正. 遷延する関節痛でリウマチ・膠原病科を受診したチクングニア熱の輸入症例. *日本渡航医学会雑誌* 6(1);45-47. 2012

2. 学会発表

枋谷健太郎、清水恒弘、篠原 浩、土戸康弘、高崎智彦、モイ メンリン. オーストラリア渡航中に発症した本邦初のロスリバーウイルス感染症の1例. 第 56 回日本感染症学会中日本地方会学術集会. 2013 年 11 月 6-8 日 (大阪)

Table 1 real time RT-PCR for Ross River Virus (TaqMan)

Primers and probe	sequence (5' to 3')	region	
RRV/NSP3/F	5'-CCGTGGCGGGTATTATCAAT-3'	NSP3	
Probe	5'-FAM-ATTAAGAGTGTAGCCATCC-MGB-3'		
RRV/NSP3/R	5'-AACACTCCCGTCGACAACAGA-3'		

Ref; Reed S. Shabman *et al.* J. Virology 82:12374-12382. 2008

Table 2 Ross River virus serology test

	day of first visit	2 weeks after
IgG absorbed IgM ELISA (panbio)	index=2.84 positive	Index=2.82 positive
IgM capture ELISA (in house)	P/N ratio=2.8 endpoint titer: 1600x positive	P/N ratio=2.4 Endpoint titer: 400x positive
中和抗体価	2560x	320x

Table 3. real time RT-PCR for Zika virus (TaqMan)

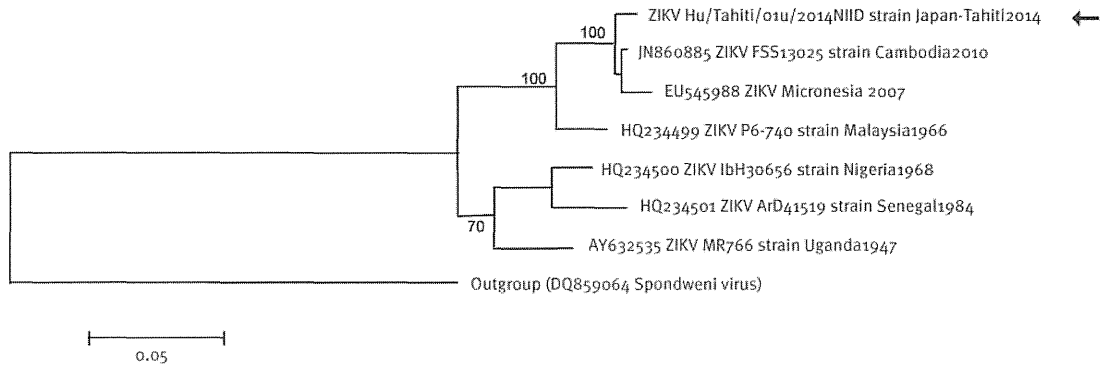
	sequence (5' to 3')	genome position
ZIKV 835F	TTGGTCATGATACTGCTGATTGC	835-857
ZIKV 860-FAM	FAM-CGGCATAACAGCATCAGGTGCATAGGAG-TAMRA	860-886
ZIKV 911c	CCTCCACAAAGTCCCTATTGC	911-890
ZIKV 1086	CCGCTGCCCAACACAAG	1086-1102
ZIKV 1107-FAM	AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACACTCAA	1107-1137
ZIKV 1162c	CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT	1162-1139

† Based on ZIKV MR 766 GenBank accession no. AY632535.

Fig. 1 Zika 熱症例 2 の尿中から検出したウイルス遺伝子配列に基づく遺伝子系統樹

FIGURE 3

Phylogenetic analysis of a Zika virus sequence derived from a case of imported Zika virus infection from French Polynesia, Japan, January 2014



The phylogenetic tree was based on partial E-protein nucleotide sequences and compiled using the neighbour joining method (Genetyx, Japan). The sequence of the Spondweni virus (GenBank accession number DQ859064) was used as an outgroup. Bootstrap percentages based on 1,000 replicates are shown on the tree nodes. The sequence of the case of imported Zika virus infection from French Polynesia to Japan in January 2014 is indicated with an arrow. Scale bar (0.05) indicates nucleotide substitutions per site.

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）

「我が国への侵入が危惧される蚊媒介性ウイルス感染症に対する

総合的対策の確立に関する研究」

（H23－新興－一般－010）

分担研究報告書

夏期の日本旅行後デング熱を発症したドイツ人デング熱患者症例と

実験室確認診断

研究分担者 倉根一郎（国立感染症研究所ウイルス第一部）

研究協力者 高崎智彦、モイメンリン、田島茂

（国立感染症研究所ウイルス第一部）

研究要旨

日本（本州）旅行から帰国した生来健康な女性（51歳）が、2013年9月9日にドイツ（ベルリン）の病院を受診。9月3日より、40度の熱、嘔気、続いて、斑状丘疹状皮疹が出現。入院9日前に、2週間の日本旅行（8月19～31日）から直行便にて帰国した。旅程は以下のとおり。8/19-21 長野県、8/21-24 山梨県（蚊に刺される）、8/24-25 広島県、8/25-28 京都府、8/28-31 東京都。患者は2009年にケニアを訪れる際、黄熱ワクチンを接種している。また、2012年初めにシンガポールを旅行している。鑑別診断の結果、臨床像よりデング熱を疑った。発症後7日目に採取された、第1回目の血清サンプルにおいて、デングウイルスIgM及びIgG抗体価試験（間接蛍光抗体法）、デングウイルスNS1抗原（ELISA法）及び迅速試験で全て陽性であったことから、患者はデングウイルス急性感染であることが示された。デングウイルスRNA（リアルタイムRT-PCR法）及びフラビウイルス共通遺伝子（RT-PCR法）は陰性であった。入院1週間後、血小板減少症状は合併症を引き起こすことなく消失し、患者は回復して退院した。日本からのデング熱の輸入症例は極めて珍しいことから、2013年12月（発症後110日目）に第2回目の血清サンプルを採取して検査した。検体をドイツから国立感染症研究所に送付していただき、確認検査を実施した。その結果、デングウイルス非構造蛋白抗原陽性、抗デングウイルスIgM抗体陽性、IgG抗体陽性であった。また、中和抗体を測定した結果、デングウイルス2型に対して1、3、4型および日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価より有意に高く、デングウイルス2型感染であったと診断された。

A. 研究目的

日本からのデング熱輸出が疑われたドイツ人デング熱症例の血清検体をドイツから輸入し、フラビウイルスに関する抗原検出、抗体検査により確認試験を実施し、ドイツ

（Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine）の検査結果と比較検討した。

B. 研究方法

（症例）日本（本州）旅行から帰国した生来健康な女性（51歳）が、2013年9月9日にドイツ（ベルリン）の病院を受診。9月3日より、40度の熱、嘔気、続いて、斑状丘疹状皮疹が出現。入院9日前に、2週間の日本を旅行（8月19～31日）し成田空港からフランクフルト空港への直行便で帰国した。8/19-21：

長野県、8/21-24：山梨県、8/24-25：広島県、8/25-28：京都府、8/28-31：東京都の旅程であった。患者は、笛吹市においてブドウ狩りをした際、複数個所、蚊に刺されたと申告している。鑑別診断の結果、臨床像より、デング熱が強く疑われた。発症後 7 日目に採取された、第 1 回目の血清サンプルにおいて、デングウイルス IgM 及び IgG 抗体（間接蛍光抗体法、迅速試験）及びデングウイルス NS1 抗原（ELISA 法、迅速試験）ともに陽性であったことから、患者はデングウイルス急性感染であることが示された。デングウイルス RNA（リアルタイム RT-PCR 法）及びフラビウイルス共通遺伝子（RT-PCR 法）は陰性であった。入院 1 週間後、患者は回復して退院した。

（検査方法）

1) デングウイルス NS1 抗原検出

Platelia Dengue NS1 Ag ELISA キット (BioRad 社) を用いて、キットのプロトコールに準じて実施した。

2) 抗デングウイルス IgM 抗体

抗デングウイルス IgM 抗体捕捉 ELISA 法、Dengue Virus IgM Capture DxSelect™ (Focus Diagnostics 社) を用いた。検査方法は、キットのプロトコールに準じて実施した。判定はキットに添付の Calibrator 血清の OD との比較で判定する Index 法によった。日本脳炎抗原と比較するため、 $P/N \text{ 比} = (\text{検体の OD 値}) / (\text{陰性コントロールの OD 値})$ を算出し比較した。

3) 抗日本脳炎 IgM 抗体

抗日本脳炎ウイルス IgM 抗体捕捉 ELISA 法 (in house) により、 $P/N \text{ 比} = (\text{検体の OD 値}) / (\text{陰性コントロールの OD 値})$ を算出し、 $P/N \text{ 比} 2.0$ 以上を陽性と判定した。

4) 抗デングウイルス、日本脳炎ウイルス中和抗体測定

BHK 細胞、Fc γ R 発現 BHK 細胞、Vero 細胞を用いた 50%プラーク減少法により測定し、10 倍希釈よりの 2 倍階段希釈法により Endpoint を決定し抗体価を決定した。

C. 研究結果

日本からのデング熱の輸入症例は極めて珍しいことから、ドイツ Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine では、2013 年 12 月（発症後 110 日目）に第 2 回目の血清サンプルを採取し、デングウイルス IgM 及び IgG 抗体（間接蛍光抗体法）が有意に減少、デングウイルス NS1 抗原（ELISA 法、迅速試験）が陰性との結果が得られたことから、患者は最近デングウイルスに感染したと判断された。IgG 抗体が、表 1 に示す如く 20480 倍から 640 倍に有意に低下したという点が、通常デング熱感染では起こらない現象であるため、ワクチン接種歴を確認したところこの患者は 2009 年に、ケニアに旅行する際に黄熱ワクチンを接種していたことが判明した。

デングウイルスおよび日本脳炎ウイルス IgM 捕捉 ELISA 法によりそれぞれの IgM 抗体を測定したところ、デングウイルスに対しても日本脳炎ウイルスに対しても陽性であったが、それぞれの P/N 比は 8.85、6.75 とデングウイルスに対して高かった。

また中和抗体価の測定結果では、表 2 に示す如くデングウイルス 2 型に対して 640 倍、1 型および 3 型に対して 10 倍、4 型に対して 10 倍以下、日本脳炎ウイルスに対して 40 倍であった。また、Fc γ R 発現 BHK 細胞を用いた場

合でもデングウイルス 2 型に対して有意な低下を認めず 320 倍であった。

D. 考 察

ドイツ Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine では、抗体測定に蛍光抗体法 (IF) を用いている。この方法で IgG 抗体を測定すると感度が良いためかなりの交差反応を拾うことになる。急性期血清中の IgG 抗体価が 20,480 と非常に高値であったのは、2009 年に接種した黄熱ワクチンによる IgG 抗体が交差反応し抗体価を押し上げたものと考えられる。2013 年は FIFA ワールドカップがデング熱および黄熱の流行地であるブラジルで開催されることから黄熱ワクチン接種後のブラジルからのデング熱輸入症例の発生が危惧されているところである。血清診断において本症例と同様の現象がみられる可能性が高く十分な注意が必要である。

IgM 抗体検査では、IgG 吸収法による IF を用いている。我々の IgM 抗体捕捉 ELISA 法は IgG 吸収法による IF よりも感度が高いとされている。したがって日本脳炎 IgM 抗体も陽性であったが、P/N 比を比較したところデングウイルス IgM 抗体の方が高かったことから、デングウイルス感染と考えて問題ない。

フラビウイルス血清診断のゴールドスタンダードである中和抗体検査の結果、日本脳炎やデングウイルス 1 型、3 型、4 型に比較してデングウイルス 2 型に対して有意に高く、デングウイルス 2 型感染であると確定した。

以上のように血清診断は、フラビウイルス属間のウイルスでは、交差反応があり確定診断に慎重を要する場合がある。一方、デングウイルス NS1 抗原検出 ELISA あるいはイムノクロマト検査は、日本脳炎、黄熱共に交差反

応を示さず (モイ メンリンらの報告書参照)、特異性が高い。このことから今後医療機関レベルでの Point of Care Testing としてデングウイルス NS1 抗原検出イムノクロマト検査が使用できると考えられる。

いずれにしろ、本ドイツ人デング熱症例は、いずれにしろ、夏期に日本国内で「突然の高熱、関節痛、筋肉痛+血小板減少、白血球減少」の患者を診察し、ウイルス感染症が疑われた場合、海外渡航歴がなくてもデング熱の検査が必須である時代が来たということを示唆する重要な症例であると考えられる。

E. 結 論

2013 年 8 月に日本を旅行後、成田空港からフランクフルト空港に直行便で帰国したドイツ人女性が、帰国後 3 日目にデング熱を発病した。本患者の急性期、回復期血清を Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine から入手し検査した結果、デングウイルス 2 型に感染したデング熱であることが確認された。

F. 健康危険情報

本デング熱症例は、その旅行日程とデング熱の潜伏期間から、日本国内で感染した可能性は否定しがたい。

G. 研究発表 (本症例に関連するものに限定する)

1. 論文発表

1. Moi ML, Omatsu T, Tajima S, Lim CK, Kotaki A, Ikeda M, Harada F, Ito M, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Detection of dengue virus non-structural protein 1 (NS1) by using ELISA as a useful laboratory diagnostic method for dengue

virus infection of international travellers.
Journal of Travel Medicine,
20,3,185-193,2013.

2. 学会発表

1. 高崎智彦. シンポジウム－海外渡航者の感染症と検査－蚊媒介性ウイルス感染症. 第25日本臨床微生物学会総会. 2014年2月1－2日（名古屋）

2. 高崎智彦. 危機感染症に対する沖縄の行動計画－Up date on dengue fever in Japan－Autochthonous dengue virus infection can be occurred in Japan?－. 日経アジア感染症会議. 2014年2月14－15日（沖縄県名護市）

表1 デングウイルス検査結果（ドイツ； ）

✓ 7 dao:
<ul style="list-style-type: none"> ・ IgG (IFA/rapid test): 1:20,480 / positive (The patient has a vaccination history of YF vaccine in 2009.) ・ IgM (IFA/rapid test): 1:320 / positive ・ NS1 (ELISA/rapid test): OD was "over" = positive/positive ・ RT-PCR: negative
✓ 110 dao:
<ul style="list-style-type: none"> ・ IgG (IFA/rapid test): 1:640 / weak positive ・ IgM (IFA/rapid test): <1:20 /negative (IgM seroreconversion) ・ NS1 (ELISA/rapid test): negative / negative ・ diagnosis: past DENV infection

表2 抗デングウイルス、日本脳炎中和抗体検査結果（日本：国立感染症研究所）

細胞／ウイルス	D1	D2	D3	D4	JE*
BHK 細胞	10	<u>640</u>	10	<10	40x
FcgR-BHK 細胞	10	<u>320</u>	20	<10	

D1:dengue virus type 1, D2:dengue virus type 2, D3:dengue virus type 3, dengue virus type 4, JE: Japanese encephalitis virus

- 1) 中和抗体価はデングウイルス 2 型に対して最も高い抗体価を示した。
 - 2) FcgR 発現 BHK 細胞を用いた場合でも、有意な中和抗体価の低下を認めなかったことから、本症例はデングウイルス初感染例であると考えられた。
- * 抗日本脳炎中和抗体は、Vero 細胞を用いて測定した。

表3 抗デングウイルス、抗日脳 IgM 抗体

検体の種類	抗デングウイルス IgM 抗体		抗日脳 IgM 抗体
	Index	P/N 比	P/N 比
急性期血清（7dao）	3.38	8.85	6.75
回復期血清（110dao）	0.65	NA	NA

- Index は 1.1 以上を陽性、P/N 比は 2 以上を陽性と判定する。
- P/N 比を比較すると、デングウイルスの方が日本脳炎より高く、デングウイルス感染が示唆される。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
S Kutsuna, Y Kato, T Takasaki, M L Moi, A Kotaki, H Uemura, T Matono, Y Fujiya, M Mawatari, N Takeshita, K Hayakawa, S Kanagawa, N	Two cases of Zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014.	Eurosurveillance	19(4)	8-11	2014
Lucky Ronald Runtuwene, Eiji Konishi, Atsushi Yamanaka, Yoshihiro Makino, Yutaka Suzuki, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Takashi Kobayashi and Yuki Eshita	Novel method for mass-infecting Aedes aegypti with dengue virus type 2	Parasites & Vectors	in press		2014
Moi ML, Takasaki T, Saijo M, Kurane I.	Determination of antibody concentration as the main parameter in a dengue virus antibody-dependent enhancement assay using FcγR-expressing BHK cells.	Arch Virol.	159(1)	103-116	2014
Moi ML, Takasaki T, Omatsu T, Nakamura S, Katakai Y, Ami Y, Suzuki Y, Saijo M, Akari H, Kurane I.	Demonstration of marmosets (Callithrix jacchus) as a non-human primate model for secondary dengue virus infection: high levels of viremia and serotype cross-reactive antibody responses consistent with secondary infection of humans.	J Gen Virol.	95	591-600	2014
Suzuki R, Ishikawa T, Konishi E, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Takasaki T, Wakita T	Production of single-round infectious chimeric flaviviruses with DNA-based Japanese encephalitis virus replicon.	J Gen Virol.	95	60-65	2014
Moi ML, Takasaki T, Saijo M, Kurane I.	Determination of antibody concentration as the main parameter in a dengue virus antibody-dependent enhancement assay using FcγR-expressing BHK cells.	Arch Virol.	159(1)	103-115	2014
Moi ML, Omatsu T, Hirayama T, Takasaki T, Nakamura S, Tajima S, Ito M, Yoshida T, Saito A, Katakai Y, Akari H, Kurane I.	Presence of viral genome in urine and development of hematuria in common marmosets (Callithrix jacchus) after inoculation with dengue virus.	Pathogens	2	357-363	2013
Meng Ling Moi, Tsutomu Omatsu, Shigeru Tajima, Chang-Kweng Lim, Akira Kotaki, Makiko Ikeda, Fumiue Harada, Mikako Ito, Masayuki Saijo, Ichiro Kurane, Tomohiko Takasaki.	Detection of Dengue Virus Nonstructural Protein 1 (NS1) by Using ELISA as a Useful Laboratory Diagnostic Method for Dengue Virus Infection of International Travelers	J Travel Med.	20(3)	185-193	2013
Tomoyuki Yoshida, Tsutomu Omatsu, Akatsuki Saito, Yuko Katakai, Yuki Iwasaki, Terue Kurosawa, Masataka Hamano, Atsunori Higashino, Shinichiro Nakamura, Tomohiko Takasaki, Yasuhiro Yasutomi, Ichiro Kurane, Hirofumi Akari	Dynamics of cellular immune responses in the acute phase of dengue virus infection	Arch Virol.	158(6)	1209-1220	2013
Moi ML, Takasaki T, Saijo M, Kurane I.	Dengue virus infection-enhancing activity of undiluted sera obtained from patients with secondary dengue virus infection.	Trans R Soc Trop Med Hyg.	107(1)	51-58	2013
Yamaguchi Y, Nukui Y, Kotaki A, Sawabe K, Saijo M, Watanabe H, Kurane I, Takasaki T, Tajima S.	Characterization of a serine-to-asparagine substitution at position 123 in the Japanese encephalitis virus E protein.	J Gen Virol	94(1)	90-96	2013

デング熱の予防対策
-蚊に刺されないための編-

imatio