

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（H25 年度）

日本および台湾におけるデング熱輸入症例からのデングウイルス遺伝子解析

分担研究者 高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部・室長）

協力研究者 小滝徹、モイ メンリン、中山絵里、田島茂

（国立感染症研究所ウイルス第一部）

倉根一郎

（国立感染症研究所・副所長）

舒佩芸、鄧華眞

（台湾行政院衛生署疾病管制局）

**研究要旨** デング熱の流行地域および流行は年々拡大増加する傾向にある。台湾では毎年、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 2013 年のデング熱輸入症例数は 249 であり、台湾では 260 例であった。台湾中南部では国内流行もあり、デング熱の届け出総数は 851 例であった。そこで、フィリピンおよびインドネシアからの輸入症例から、ウイルスを分離し、配列を決定したウイルス遺伝子情報を交換し解析した。2013 年の我が国へのフィリピンからの輸入症例は 20 例、インドネシア 40 例であった。そのうちウイルス遺伝子解析が出来たのは、フィリピンが 9 例、インドネシアが 10 例であった。その結果、フィリピンではデングウイルス 1 型が主流株であったが、4 型流行も発生していたことが明らかになった。これは 2013 年フィリピンのデング熱患者報告数が 166,107 例で死者数が 528 例（死亡率 0.32%）であったことと関係する可能性が示唆される。インドネシアからの 4 型感染輸入症例は日本、台湾ともになくインドネシアでは 4 型による流行は発生していなかったか、大きくなかったと考えられた。

#### A．研究目的

台湾と日本における主たる昆虫媒介性ウイルスは日本脳炎ウイルスとデングウイルスである。輸入症例を含めた患者報告数としては、デング熱が日本脳炎より多いためデング熱を対象とした。台湾ではデング熱が毎年流行しているが、日本では国内発生がない。そこで、デング熱輸入症例を対象を絞った。デング熱の輸入症例のなかでも、島国を対象にすることによって各島で異なるウ

イルスによる流行が存在する可能性が高いと考え、島国であるインドネシア、フィリピンからの輸入症例に関してウイルス遺伝子情報を交換した。

#### B．研究方法

フィリピン、インドネシアからの発熱患者をウイルス遺伝子検査、デングウイルス非構造抗原（NS1）検査およびデングウイルス IgM 抗体検査

(ELISA法)を実施し、デング熱であることが確認された症例に関して、急性期血清からウイルス分離を実施した。ウイルス遺伝子解析は、患者血清からのダイレクトシーケンスと分離ウイルスからのシーケンスを実施し、患者血清からのシーケンスが得られた場合はその配列を優先して採用した。遺伝子解析は、E領域をダイレクトシーケンスにより、ABI prism Avant 7100(ABI社)によりプロトコールに従い塩基配列を決定した。決定した塩基配列はそれぞれデングウイルス型別にソフトウェア(MEGA4)により系統樹解析を行った。

#### C. 研究結果

2013年に感染研に検査依頼があったフィリピン、インドネシアからの輸入症例は21症例、40症例であった。そのうちウイルス遺伝子情報が得られたものが、フィリピン9株(1型5株、2型1株、3型1株、4型2株)、インドネシア10株(1型7株、2型3株)であった。台湾からはインドネシアからは1型; 12株、フィリピンからは1型: 3株、2型はインドネシアから9株、フィリピン2株、3型はインドネシアから8株、フィリピンから1株、4型はフィリピンから7株であった。

フィリピンからの輸入症例のデングウイルス1型を台湾および日本のものを含めて系統樹解析したところ、フィリピンとインドネシアの1型ウイルスはいずれも相同性が高いが、それぞれ国別にグループ分けが可能であった(図1)。インドネシア由来の5株は相同性が97%以上と非常に近いウイルスであり、2型ウイルスの流行株も国別に分類可能であった(図2)。デングウイルス3型の流行はインドネシア、デングウイルス4型の流行はフィリピンで発生していることが明らかになった(図3、図4)

#### D. 考察

日本と台湾のデング熱輸入症例報告数は、例年台湾の方がやや多い。今年度の患者報告数は、ほぼ同じ報告数であった。

フィリピンの2013年のデング熱患者数は、166,107例で死亡数528例(致死率CFR=0.32%)であったことから、流行規模が大きく主流株は1型であったが、日本と台湾の輸入症例からも明らかのようにフィリピンでは4型が流行しており、4型による2度目の感染がCFRを高めている可能性がある。ただし、ウイルスが強毒化した可能性も考えられるので、日台双方の分離株に関して全ゲノム解析を実施し、比較解析する必要がある。

一方、日本人のインドネシアへの観光は、バリ島が多く、ジャカルタなど比較的渡航先が限定されているため、インドネシア全国の傾向を必ずしも捉えているとは限らないが、2013年は少なくとも4型ウイルスによる流行は発生していないか、大きくはないと考えられる。

#### D. 結論

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のほとんどは、近似なウイルスであったフィリピンでは1型ウイルスによるデング熱流行に加え、4型ウイルス流行が発生している。インドネシアでは1型、2型、3型による流行が生じているが、4型による流行は発生していないか、大きくなかったと考えられた。

#### E. 健康危機情報

なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 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.
2. Moi ML, Takasaki T, Kurane I. Efficacy of tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren. *Lancet*, 381,9872,1094, 2013.
3. 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.
4. Moi ML, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. Infection-enhancement activity in dengue patients using undiluted serum samples. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 107,51-58,2013.
5. Ujiie M, Moi ML, Kato Y, Takasaki T. Diagnosis of viral haemorrhagic fevers in travelers returning from West Africa. *Journal of Travel Medicine*, 20(1), 63-64, 2013.
6. Tochtani K, Shimizu T, Shinohara K, Tsuchido Y, Moi ML, Takasaki T. Ross River virus - Japan ex Australia: (VI). *ProMed*, *promed archive no.*

20130616.1776324, 2013.

## 2 . 学会発表

### 1 ) 国際学会

1. Moi ML, Omatsu T, Tajima S, Lim CK, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Application of the dengue non-structural protein 1 (NS1) ELISA for the detection of dengue virus infection in travelers. Fifth Informal Japanese Encephalitis Laboratory Meeting. (Tokyo) November, 2013.
2. Moi ML, Kurane I, Takasaki T. Development of tools for advancing dengue pathogenesis and vaccine research. Malaysia-Japan Academic Scholar Conference. (Tokyo) November, 2013
3. Moi ML, Lim CK, Nakayama E, Tajima S, Kotaki A, Ikeda M, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Imported cases of chikungunya and Ross River fever in Japan. *Chikungunya*, 2013. (Langkawi, Malaysia) October, 2013
4. Lim CK, Takasaki T, Moi ML, Nakayama E, Kotaki A, Chua KB, Saijo M, Kurane I. Molecular analysis of Chikungunya virus in Malaysia. *Chikungunya*, 2013. (Langkawi, Malaysia) October, 2013.

### 2 ) 国内学会

1. 高崎智彦、モイメンリン、網康至、須崎百合子、大松勉、平山隆則、田島茂、林昌宏、中村紳一郎、片貝裕子、吉田友教、明り宏文、白井顕治、北浦一孝、藤井克樹、鈴木隆二、西條政幸、倉根一郎 . 第3回マーモセットを用いたデングウイルス感染病態解析 (九州) 2013年12月

2. Moi ML, Omatsu T, Nakamura S, Ami Y, Katakai Y, Suzaki Y, Saijo M, Akari H, Kurane I, Takasaki T. Development of a novel non-human primate model for secondary dengue virus infection using marmosets (*Callithrix jacchus*). 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 (神戸) 2013 年 11 月
3. 齋藤悠香、モイメンリン、林昌宏、司馬肇、細野邦昭、西條政幸、倉根一郎、高崎智彦. 日本脳炎ワクチン接種により誘導された抗体のデングウイルスに対する免疫反応の検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 (神戸) 2013 年 11 月
4. 齋藤悠香、モイメンリン、林昌宏、司馬肇、細野邦昭、西條政幸、倉根一郎、高崎智彦. 日本脳炎ワクチン接種により誘導された抗体のデングウイルスに対する中和活性および感染増強活性の検討. 第 20 回トガ・ペスチ・フラビウイルス研究会 (神戸) 2013 年 11 月
5. 栃谷健太郎、清水恒広、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 1 例. 第 56 回日本感染症学会西日本地方学会学術集会 (大阪) 2013 年 11 月
6. Moi ML, Lim CK, Kurane I, Saijo M, Takasaki T. Towards a safe and effective dengue vaccine: assessment of dengue neutralizing antibody and viremia titers using a novel assay by FcγR-expressing cells. 54th Annual Meeting for the Japanese Society of Tropical Medicine. (Nagasaki) October, 2013.
7. Takasaki T, Ikeda M, Yagasaki K, Moi ML, Nakayama E, Kotaki A, Saito Y, Tajima S, Kurane I, Jee Y. JE as a vaccine preventable disease: laboratory network organized by WHO. 第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 (熱海, 静岡) May, 2013.

G. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

図 1 デングウイルス 1 型の遺伝子系統樹

図 2 デングウイルス 2 型の遺伝子系統樹

図 3 デングウイルス 3 型の遺伝子系統樹

図 4 デングウイルス 4 型の遺伝子系統樹