

201318053B

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 23-25 年度総合研究報告書

(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 26(2014)年 3月

# 目 次

## 1. 平成 23-25 年度 総括研究報告書

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 23-25 年度 総合分担研究報告書

### 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 ……15

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** ”

侵襲性肺炎球菌感染症由来肺炎球菌の疫学的解析および  
呼吸器感染症起因菌である *Legionella pneumophila* の遺伝子解析……………21

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……………26

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 ……39

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 .....44

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－中国

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

*V. cholerae* non-01/nonm-0139 及び *V. fluvialis* の血清型別に関する研究－中国

研究分担者	荒川 英二	国立感染症研究所
-------	-------	----------

.....57

**プロジェクト 2 : 台湾**

赤痢アメーバに関する研究 .....65

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 .....71

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	〃
--	------	---

	中山 絵里	〃
--	-------	---

	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) .....79

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	名古屋大学医学部

非結核性抗酸菌感染症の研究……………85

研究分担者	小林 和夫	国立感染症研究所
	阿戸 学	〃
研究協力者	松村 隆之	〃
	松本 壮吉	新潟大学大学院医歯学総合研究科
	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……………90

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……………97

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…………… 103

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	〃

齋藤 隆一	〃
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 徳麿	岐阜大学
慕 蓉蓉	台湾行政院衛生署

台湾および日本の蚊相の違いと蚊によって媒介される病原体の遺伝的關係  
蚊相ならびに採集蚊からの鳥マラリア原虫の検出結果…………… 115

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	鳥取大学農学部
	鄧 華眞	台湾 CDC
	陳 典煌	〃

アジアにおける百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の流行調査と病原性解析 …… 121

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
	吉野 修司	宮崎県衛生環境研究所
	河野喜美子	〃
	姚淑滿	台湾 CDC
	江春雪	〃
	渡邊峰雄	北里大学

プロジェクト3：インド

コレラ菌のゲノム進化と病原性…………… 125

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…………… 133

研究分担者 三戸部 治郎 国立感染症研究所  
研究協力者 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  
**Ritam Sinha** 〃

腸管系寄生虫症の解析…………… 141

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…………… 148

研究分担者 俣野 哲朗 国立感染症研究所  
研究協力者 石川 晃一 〃

プロジェクト4：ベトナム

腸内細菌の molecular typing に関する研究- ベトナム ..... 153

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 ..... 160

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  
..... 166

研究分担者 清水 博之 国立感染症研究所

研究協力者 片岡 周子 //

中島 一敏 //

**Dr. Nguyen Thi Hien Thanh**

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

ベトナム NIHE における麻疹、風疹ウイルス遺伝子診断技術の確立と  
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 ..... 171

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

研究協力者 森 嘉生 //

**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)  
 との狂犬病および炭疽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 ..... 181

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	〃
	濱本紀子	〃
	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)**

ヒストプラスマ症の基礎的、臨床的研究におけるアジアの感染症研究機関との  
 共同研究ネットワークの構築 ..... 188

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	〃

**Nanthawan Mekha, Natteewan Poonwan**

**(The National Institute of Health, Thailand)**

**Pojana Sriburee (Chiang Mai University, Thailand)**

**Thi Thu Ha Hoang, Pham Thanh Hai, Nguyen Thuy Tram**

**(National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam) ,**

**Nguyen Van Tien, Nguyen Quang Tuan**

**(Bach Mai Hospital, Vietnam) ,**

**Nguyen Thai Son (103 Hospital, Vietnam),**

**Nguyen Van Hung (National Lung Hospital, Vietnam)**



<i>Clostridium difficile</i> 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 <i>C. difficile</i> 感染実態調査	198
---	-----

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	〃
	福田 靖	〃
	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)**

### 3. 平成 23-25 年度 業績

研究成果の刊行に関する一覧表（業績）	203
--------------------	-----

学会発表一覧表（業績）	235
-------------	-----

## 平成 23-25 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：グローバル化が進むにつれ、アジア等で発生した多くの感染症が、ヒトや物の流通を通して我が国に入り込んでくる機会が増加してきている。それらの侵入をできるだけ食い止める、あるいは入り込んだ場合にもその拡散を最小限にするための方策が必要になる。その一つは、アジア等の感染症の情報やそこで発生している病原体の特徴を普段から知り、危機発生の時に迅速にそれら情報を利用できるようにしておくことである。その目的のため H23-25 年間に、アジアの感染症専門の国立研究機関との間で、共同研究契約を締結し、その地域で発生している感染症の疫学情報や病原体の遺伝学的特徴の解析を行う基盤の確立を行った。対象機関としては、中国 CDC、台湾 CDC、ベトナム NIHE(National Institute of Health and Epidemiology)、インド NICED(National Institute of Cholera and Enteric Diseases)とし、対象疾病としては、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、とした。各研究機関の機関長同士の打ち合わせ後、共同研究契約書を締結したことにより、共同研究ばかりでなく人的交流も促進され、危機対応時に機関同士および個人レベルにおける情報交流ができる体制が出来上がってきたといえる。特に、中国で 2009 年に SFTS が発生後、わが国でも発生しているのではとの危惧で、中国 CDC から論文発表前のデータとウイルス情報の提供を感染研が受けた。感染研として検出系の確立を行い、2013 年の我が国における最初の SFTS 患者発生への迅速対応に結びつけることができたのは、当該交流の一つのよい事例であったといえる。今後いかなる新興および再興感染症がアジア等で発生するかもしれない。その場合に、各国を代表する国の感染症に携わる研究機関同士の連携が、感染症対策の迅速なる貢献に大きな役割を果たすものと思われる。

中国 CDC: Center for Disease Control と の共同研究	倉 文明	細菌第一部	
	中山 周一	細菌第一部	
清水 博之	ウイルス第二部	駒瀬 勝啓	ウイルス第三部
森川 茂	ウイルス第一部	泉谷 秀昌	細菌第一部
松山 州徳	ウイルス第三部	2) 台湾 CDC との共同研究	

津久井久美子	寄生動物部
津田 良夫	昆虫医科学部
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) 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。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

## B. 研究方法

対象国；中国 CDC, 台湾 CDC, インド NICED, ベトナム NIHE

全体計画：腸管感染症、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)、そのデータベースを、国立感染症研究所を中心に集積することを原則とする。

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：

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

ーシ化、

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:

1. 全体としての活動: 研究代表者、研究協力者(倉根、渡邊 宮川)

2011年に各研究機関との連携の締結を結び、毎年(2011-2013),相互の国において研究発表会を行い、研究の進捗状況の把握、研究の方向性の相談、確認を行った。相互の

機関長の出席のもとに行われ、機関と機関の間での共同研究を進めるという方針で遂行した。これにより、感染症危機管理の面からも相互の連携が強化されることとなった。

#### 1) 中国 CDC との連携:

① 中国では、2008年5月から手足口病が全国サーベイランスによる届出対象疾患となった。2008~2012年にかけて、約720万人の手足口病症例、2000名強の死亡例が報告された。手足口病症例報告体制とともに、中国国内エンテロウイルス実験室ネットワークによる実験室診断体制が整備され、手足口病症例の約3.7%について実験室診断が行われた。中国全土のEV71分離株の分子疫学的解析を行い、1996~2012年にかけて中国で検出されたEV71分離株のほとんどが遺伝子型C4に属し、遺伝子型C4は、C4aとC4bに細分類されることが明らかとなった。WHO西太平洋地域事務局、感染研、CCDCを含む専門家の協力の下、WHO手足口病ガイドライン”A Guide to Clinical Management and Public Health Response for Hand Foot Mouth Disease (HFMD)”を作成・公開した。(清水)

② 中国CDCのYuelong Shu博士と情報を共有し、インフルエンザ以外のARIウイルスについて、原因不明病原体の解析、ウイルス分離技術の向上を試みた。まず、ARIの検査に利用するための、ウイルス高感受性細胞の作成を試みた。肺に特異的に発現している膜貫通型セリンプロテアーゼTMPRSS2を利用して細胞に感染することが報告されており、

TMPRSS2 の発現した細胞を作成し、既存のヒトコロナウイルス (229E、NL63、SARS) と新型コロナウイルス (MERS-HCoV) に対する感受性を比較した。TCID50、ウイルス増殖、感染細胞の免疫染色を行ったが、いずれのウイルスでも TMPRSS2 発現細胞の方が非発現細胞よりも感受性が高かった。特に新型コロナウイルスでは 100 倍もの高い感受性が見られた。TMPRSS2 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)

- 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 2011 年に中国 CDC によって報告された。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ことから、中国 CDC から情報を入手して、組換えウイルス蛋白による血清診断系の開発、組換えウイルス蛋白に対する抗体作成、患者診断用の RT-PCR 等を準備した。2013 年 1 月には本ウイルスに感染した国内初の SFTS 患者が報告された。患者の実験室診断には、1) 患者診断用 RT-PCR が有効であった、2) ウイルス分離同定や、免疫組織学的染色に、組換えウイルス蛋白に対する抗体が極めて有用であった。2012 年 11 月に中国 CDC の Prof. Mifang Liang, Prof. Li Dexin に分与された SFTS ウイルス HB29 株を用いて作製した抗体検出法は感度が高く、そ

の後の動物の血清疫学調査等に活用された。マダニからのウイルス遺伝子検出は、MGB プローブによるリアルタイム RT-PCR 法を確立し、反応が陽性対照コンタミによるのか否かを同時に確認できる系へと改良された (森川)

- ④ わが国をはじめアジア各国で発生する種々の細菌感染症に対応するため、主として食水系由来腸管感染症を対象に遺伝子解析をベースとした疫学指標、診断法の開発、ならびにそれらの有用性についての検討を行った。また、*V. cholerae* non-01/nonm-0139 及び *V. fluvialis* お対象に 0 血清型別ならびに病原因子の探索を行い、その発生と流行の傾向についての調査を行った。共同研究にあたり中国 CDC (CCDC) の細菌部門とコンタクトを持ち、赤痢菌の分子タイピング、*V. cholerae* non-01/nonm-0139 及び *V. fluvialis* の血清型別に関する共同作業を行った (泉谷 荒川)。
- ⑤ 中国における *L. pneumophila* 血清群 1 の環境分離株 164 株 (冷却塔水由来 96 株、温泉由来 42 株、水道水由来 26 株) の遺伝子型別の結果も、ST1 が 49.4% を占め、次いで ST154 が中国 (6%) でも日本 (3%) でも多く、中国と日本で同様の傾向があることがわかった。温泉分離株の遺伝子型が多様であることも同様の結果だったが、冷却塔水分離株の多くが共通、あるいは似た遺伝子型であったのに対し、浴槽水・温泉分離株で共通の遺伝子型は、見られなかった。日本と中国で共通の遺伝子型に

についても、それぞれ独自の遺伝子型についても、臨床からも分離される遺伝子型が多くあり、それらの菌が生息する環境水が感染源となりうる危険性が示唆された。(倉)

- ⑥ 日本国内の IPD 由来肺炎球菌の MLST 解析を行った結果、アジアを含む世界各国で多く分離されている多剤薬剤耐性 ST320 型 19A 肺炎球菌は日本の特定な地域に分離された。欧米では、ST320 型 19A 肺炎球菌は PCV7 が導入された後、多剤耐性 ST320 型 19F 肺炎球菌の capsular switching によって変換されたタイプで、ワクチンによるセレクションされたと報告されている。しかし、中国では、日本と同様に、PCV7 が導入される前から ST320 型 19A 肺炎球菌の分離がみられた。(常)

#### ① 台湾 CDC との連携

- ① 日本では、現在、家畜における家畜ブルセラ菌感染は清浄化しており、同菌に感染する患者も輸入患者に限られている。台湾においても感染家畜の報告はなく、また、患者も過去 33 年間報告されていなかったが、2011 年初めに輸入患者 2 例が報告された。そこで、2011 年度は、日台における共同研究の端緒として、台湾 CDC におけるブルセラ症検査体制構築のために、抗体検出法として日本で標準的に用いられている試験管内凝集反応 (TAT) と我々の作成したマイクロプレート凝集反応 (MAT) を、遺伝子検出法として同じく我々の作成した Combinatorial PCR 法を移転し、

診断技術の共有を行った。2012 年度からは、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し、比較を行った。*B. canis* に対する抗体は、国内のイヌでは、2,318 頭中 115 頭 (5.0%) が抗体陽性、すなわち感染歴を持つことがわかった。台湾については、63 検体調査して抗体陽性 1 頭、陽性率 1.6% と、日本よりも低くなっていた。(今岡)

- ② 今回台湾より供与された非病原性赤痢アメーバ株はハムスターに対して ALA 形成能を有していた。これはヒトへの病原性とハムスターへの病原性が異なる、または腸管と肝臓への病原性が異なるという二つの可能性があると考えている。今後腸管への病原性の評価方法を確立する必要がある。台湾で無症候性患者からの赤痢アメーバ株が確立できるようになったことは大きな進歩であった。今後ヒトに症状を示さない赤痢アメーバ株の解析を、特に AIG1-17 に注目しながら展開していきたいと考えている。(津久井)
- ③ 百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* に特異的な LAMP 検出系を開発し、台湾 CDC と共同でアジアにおける *B. holmesii* の流行状況を調査した。百日咳疑い患者 (日本 920 名、台湾 495 名) を対象に遺伝子検査を実施した結果、*B. holmesii* の陽性者は日本が 0 名、台湾が 1 名 (0.3%) であった。百日咳菌の陽性者は日本が 93 名 (10.1%)、台湾が 90 名 (18.2%) であり、日本の検査陽性率は台湾より低い値を示した。

日本では調査を実施した 2012-13 年は百日咳の非流行期にあったことから、*B. holmesii* は百日咳菌と同様に周期的に流行する可能性が示唆された（蒲池）

- 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・性能評価に関し、台湾行政院衛生署疾病管制局 周如文 博士、国立台湾大学病院医学院附設医院内科部・主治医師 王振源 博士と日台共同研究を推進した。本キットの異なる地域や民族における有用性に関する国際評価は未了である。共同研究の成果として、1）台湾の MAC 感染症患者血清を収集、2）MAC 抗体価を測定し、感度：61%、特異度：91%であった。本血清診断は非侵襲性、簡便、迅速であり、人種や地域を超越し、有用であることが示された。（阿戸）
- ⑤ 台湾 CDC との共同研究として、ハンセン病の血清診断及びハンセン病の起因菌であるらい菌の薬剤耐性に関する研究を実施した。台湾のハンセン病患者血清を用い、らい菌由来抗原 MMP-I 及び MMP-II の血清診断を行った結果、従来法で用いている PGL-I 抗原での結果よりもいい成績を得た。らい菌の薬剤耐性に関する研究では 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。（甲斐）
- ⑥ 蚊媒介性病原体の自然の侵入経路のひとつとして、渡り鳥による持ち込み（侵入）・定着に関する検討を行った。台

湾の調査地では 2011 年～2013 年に、20 種類 13,373 個体、石垣島では 24 種類 7,499 個体の蚊成虫を採集し、鳥マラリア原虫の検出を行った。その結果、台湾で採集された 20 種の蚊のうち、9 種類の蚊から鳥マラリア原虫が検出された。3 つの系統は 3 年連続して原虫が検出されており、調査地に生息するクシヒゲカ的一种と *Cx. murrelli* などの蚊によって感染サイクルが維持されていると推測された。これに対して、これら 3 系統以外の系統は、いずれも 3 年間の調査で 1 回しか検出されておらず、感染した渡り鳥によって偶然に持ち込まれ、飛来時期に生息していた蚊の吸血を通じて一時的に取り込まれた系統であると推測された。本研究の調査結果は、渡り鳥による病原体の持ち込みが実際に行われていることを示唆している（津田）

- ⑦ 台湾で分離された INH 耐性結核菌で、*katG* 遺伝子の変異で、かつ耐性との関連が明らかにされていない 235 番目の GA の挿入、C1436A、C317T、G332A の変異、*ahpC* の C-10T、*ndh* の T203C の変異を見出した。今後これらの変異蛋白の機能を解析し、実際に耐性に関与しているかどうかを解析する。そして INH 耐性結核菌を検出する検査法の改良を目指す。台湾を始めアジア各国で結核罹患率の高い国で薬剤耐性結核の迅速診断に役立つことが期待される。（柴山）

### 3) ベトナム NIHE との連携

- ① 日本、台湾、フィリピンおよびベトナム



ムで分離された *Leptospira interrogans* および各血清型基準株の分子タイピングを MLVA により行った。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、動物種特異的な血清群の存在が明らかになった。ベトナム国立衛生疫学研究所 (NIHE) とともに、タインホア地域の熱源が不明の発熱患者および一般健常人の血清疫学、ネズミ、ブタおよび土壌からのレプトスピラ検出を行った。熱源不明の発熱患者の 20% からレプトスピラ特異的 IgM が検出され、9% の患者血液からレプトスピラ DNA が検出された。また同地域の健常人の 49% からレプトスピラ特異的 IgG が検出され、農業従事者におけるレプトスピラ感染の蔓延が明らかとなった。(小泉)

- ② ベトナム NIHE がハノイ市内の 4 医療機関と *Clostridium difficile* 感染症 (CDI) の研究をするためにネットワーク構築を行い、NIHE において *C. difficile* の分離培養が開始された。ハノイの医療機関は、抗菌薬適正使用が行われていない、病棟で複数患者が 1 ベッドを共有するなど過密な状況で感染管理が難しい等により、*C. difficile* 高病原性株の発生源・温床となりやすいと考えられた。ベトナムにおける CDI の感染実態調査および疫学調査は急務であると考えられた。新しい細菌学的検査法として、RT-PCR 法を用いた *C. difficile* 毒素遺伝子検出法の開発・評価を行った。検討検体数を増やす必要があるが、本法は、臨床検査として使用でき、さらに *C. difficile* による感染と無症候キャリアを区別できうる画期的検査法と考えられた。(加藤)
- ③ ベトナムに生息する翼手目 (コウモリ) が RV を含むリッサウイルス属の自然宿主あるかを調べるために NIID で保有している 5 株 (RV、EBLV-1、Duvenhage virus、Mokola virus、Lagos bat virus) を利用した簡易中和抗体検出系を確立した。平成 24 年度は、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、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と臨床・検査・疫学等を網羅したモデル研修を北部の流行地域で試みた。平成 25 年度は、より安全かつ簡便に中和抗体を測定できるように分泌型アルカリフォスファターゼ (SEAP) 発現シュードタイプを利用した中和試験法の開発を試みて従来法 (RFFIT 法) 等同様の成績で感度・特異性の高いことが示された。
- ④ ベトナムの北部山岳地帯で発生した皮膚炭疽の集団発生事例の炭疽菌 DNA を抽出して MLVA と SNP による系統解析を行い分離株が西ヨーロッパや北アメリカの菌株と同じ遺伝学的クラスター (A1 クラスター) に分類されることを明らかにした。皮膚炭疽から分離した菌株を 80-SNP で系統解析してベトナム株がアジア分離株の多数含まれる A3 クラスターに所属するが日本株 (A3a クラスター) やモンゴル株 (A3b クラスター) と異なるクラスターを韓国分離株と形成することを明らかにした。市販食肉分離株について解析を行

い西ヨーロッパや北アメリカで分離される菌株と同じ遺伝学的クラスター (A1 クラスター) に分類されることを明らかにした。(井上)

- ⑤ ベトナムでは、近年、死亡例・重症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。2011-2012 年には、ベトナム全土で、死亡例を含む多くの重症例を伴う大規模な手足口病流行が発生し、公衆衛生上の大きな問題となっている。主として 2011-2012 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・同定を行い以下の結果を得た。ベトナムでは、2011 年から手足口病が全国サーベイランスによる届出対象疾患となった。2011～2012 年にかけて、約 28 万人の手足口病症例および 223 名の死亡例が報告された。2011～2012 年の手足口病検体から EV71 (C4 が主) に次いで高頻度にコクサッキー A6 型 (CVA6) が検出された。日本やアジア諸国同様、ベトナムでも、CVA6 による手足口病症例の増加傾向が認められた。(清水)
- ⑥ NIHE に麻疹遺伝子解析技術の移転をはかり、2006 年～2012 年までに流行したウイルスの遺伝子解析し、遺伝子型 H1 株が流行している事、また、その流行株は同じ遺伝子型 H1 でありながら、流行年ごとに少しずつ異なる事、2013 年春からベトナム北部山岳地域で流行し始めたウイルスは隣国、ラオスで流行した株を起源とする可能性が高い事、を示した。(駒瀬)

⑦ 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輸入事例を中心に 10 例ほど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 型遺伝子陽性 *Acinetobacter baumannii* 12 株について、Multilocus sequence typing 法により遺伝子型を調べたところ、うち 11 株は非流行タイプだった。ベトナムでは院内感染に関する対策が十分でないことが背景として考えられる。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。(柴山)

⑧ 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。

コレラの流行に対応するために環境中の *V. cholerae* の動向を調査することは重要である。定量性を加味するために MPN-PCR 法の導入を行った。2013 年 3-8 月の間に、約 100 検体を試験し、20 検体が陽性であった。5-7 月にかけては菌数が低く、3、4 月および 8 月には菌数が高かったことから、*V. cholerae* 分布に関する季節変動の可能性が示唆された。本結果については、ポイントの整理などを行い、また継続して調査を行うことで *V. cholerae* の消長が定期的に発生するかどうかを見ていく必要がある。(泉谷)

⑨ ベトナム・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、提出された 258 検体中 9 検体がヒストプラズマ属特異的 PCR 法で陽性を示した。また、血清中の抗ヒストプラズマ抗体の保有状況の検討では、144 検体中 26 検体で抗体陽性と判定された。我々の検討から、ベトナムは他の東南アジア地域と同様にヒストプラズマ症の流行地域であり、決して稀な真菌症ではないことが伺われた。(大野)

#### 4) インド NICED との連携

- ① ジアルジア症に関する重要な知見は約 10% の人の下痢症例からジアルジアが発見され、下痢の主要な原因病原体であった。人の感染は主に 15 才以下の小児に検出され、小児の栄養不良・身体と知育の成長阻害の要因となる可能性が確認された。酪農場のウシ並びに労働者から高い感染が確認され、コルカタ周辺地域でも動物由来感染症としての像が確認された。赤痢アメーバはインドにおける臨床株の遺伝的多様性が初めて明らかにされた。インドにおける赤痢アメーバの遺伝的多様性は野崎らが日本の MSM(男性同性愛者)で示した赤痢アメーバ株において示したと同様に、極めて高い遺伝的多様性を示していた。更に、これまで未同定の多くの遺伝子型が発見された。このことは南アジアにおいて特殊な種内分化・多様化が起こった可能性を示していた。(野崎)
- ② 赤痢菌群に共通する病原蛋白の発現が増加する一方、ストレス応答の低下により病原性が低下する変異体を分離し

た。これが血清型を超えた防御効果を示すユニバーサル・ワクチンとして利用できないか調べるため、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を活用し、モルモットの腸管感染モデルを初めて開発したインド国立コレラ・腸管感染症研究所との共同研究を行った。*S. flexneri* で作製したワクチン候補株は、病原性が高度に減少する一方、血清型が異なる強毒株である志賀菌(*S. dysenteriae* type 1) 並びに現在の流行株である *S. sonnei* に対し明確な防御効果が認められた(三戸部)。

- ③ *V. cholerae* 01 の流行株変遷について基盤情報を得るため、El Tor variant 型 *V. cholerae* 01 に着目し、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ゲノム DNA を用いて、ゲノム上に溶原化している CTX フェージの遺伝子配列の比較解析及び MLVA による分子疫学解析を行った。さらには El Tor variant 型 *Vibrio cholerae* 01 で見出された 15 ヶ所の一塩基多型の流行株疫学マーカーとしての妥当性を検証した。(森田)
- ④ アジアの HIV 感染流行地域の一つとして重要なインド国の国立コレラ腸管感染症研究所(NICED)との共同研究で、HLA 関連 HIV 変異同定に向け、インド国 HIV 感染者の HLA 遺伝子型同定法を確立し、解析を開始した。解析結果では、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出された。このうち、ベトナムでも頻

度の高い HLA-A\*11:01 に注目し、この HLA の関連変異候補を HIV gag MA 遺伝子領域に見出した。(俣野)

#### 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。

1990 年代後半以降、東アジア地域で、小児急性死症例を含む重症 EV71 エンテロウイルス感染症の大規模な流行が多発し大きな社会問題となっているが、中国本土では、2008 年以来、多数の死亡例を含む手足口病流行が報告されている。中国で近年伝播している EV71 分離株の分子疫学的解析を行ったところ、すべての EV71 株が、中国本土固有の遺伝子型 C4 に属することが明らかとなった。中国で分離された遺伝子型 C4 の EV71 株と分子系統学的に近縁な EV71 分離株は、中国本土以外の、台湾、日本、ベトナム等でも近年報告されている。他の地域では、異なる遺伝子型の流行・伝播が頻繁

に認められるのに対し、中国本土で検出される EV71 株は、ほとんどすべて遺伝子型 C4 しか検出できない点は、中国で伝播している EV71 の分子疫学的特徴と考えられる。アジア地域では EV71 による髄膜炎等の重症事例や死者が可なり発生している。そのため、中国、台湾、ベトナム等においては、自前でワクチン開発を行ってきている。中国においては臨床試験も終え実用化を目指しており、その対策が進行している。我が国においては、EV71 の事例はあるが、社会問題化するほどの死亡事例数までには至っていない。同じ遺伝型の株が流行しているが、病態に大きな違いが見られる。その理由がどこにあるのかは判明していない。環境の問題なのか、ヒトの遺伝的要因に起因するのか、今後の課題である。

2009 年ごろに中国でマダニ媒介性疾患として SFTS が見いだされた。2013 年には我が国においても、また韓国においても見いだされてきており、少なくとも東アジア一帯に存在する可能性があることが判明した。SFTSV のゲノム解析の結果からは、かなり以前からそれらの地域に定着して、独自の進化をしてきていることが判明した。それらを解析できるきっかけも中国 CDC との共同研究契約の締結と実際の共同研究の開始による連携の強化が図られてきた結果であった。お互いの研究所の正式のパイプができてきた成果は大きなものがある。それは H7N9 インフルエンザ発生時においても、情報の交換がスムーズにいき、また H7N9 インフルエンザの解析成果を中国 CDC が世界に向けて発表する会合時にも、感染研に最敬礼の招聘が行われたことから明らかである。政治的な問題とはかけ離れて、科