

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）

分担研究総合報告書（H23-25 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。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。その結果、日本と台湾からの輸入症例からの分離ウイルスは渡航先により同様の傾向を示し、インドネシア由来株とフィリピン由来株をグループ分けすることが可能であった。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 2012 年、2013 年フィリピンのデング熱の致死率は 0.5%、0.32%と高かったことと関係する可能性が示唆された。インドネシアでも 4 型による流行は発生しているようであるが、2013 年は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。デング熱輸入症例から、分離されるウイルス情報は、有用な情報をもたらすことが確認された。

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

2011年から2013年にフィリピン、インドネシアからの輸入症例から分離されたウイルスは1型が最も多く、インドネシア由来株とフィリピン由来株をグループ分け出来た(図1)。2型ウイルスはフィリピンからは10株と少なく、インドネシアは33株であった。2型もグループ分け出来た(図2)。3型ウイルスもインドネシア由来株とフィリピン由来株をグループ分け出来た(図3)。4型ウイルスは、フィリピン由来が2グループ、インドネシア由来1グループに分かれた。また、2013年はインドネシアからの4型ウイルスはなく、4型ウイルスによる流行はフィリピンで拡大していると推測された(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。台湾CDCは我が国と異なり検疫所と一体化しており、入国後の患者追跡も厳しいことがその要因であり、日本のデング熱輸入症例は実際には台湾以上の可能性が高い。

この3年間フィリピン、インドネシアとも1型~4型までのウイルスを検出した。ただし、1型

ウイルスの検出数が多く、両国ともデングウイルス1型が主たる流行株と考えられる。

フィリピンの2013年、2013年のデング熱患者数は、それぞれ178,644例、166,107例で致死率が0.5%、0.32%と高かったことから、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。

デング熱輸入症例から、分離されるウイルス情報は、日本と台湾で同様の傾向をしめし、輸出流行地に関して非常に有用な情報をもたらすことが確認された。

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。フィリピンもインドネシアも主たる流行株は1型ウイルスであるが、4型ウイルスの流行が拡大している可能性があり、その傾向はフィリピンに強いと考えられる。デング熱輸入症例から、分離されるウイルス情報は、有用な情報をもたらすことが確認された。

E. 健康危機情報

なし。

F . 研究発表

1 . 論文発表

1. Moi ML, Omatsu T, 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. 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.
3. Tochitani 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.
4. Hirayama T, Mizuno Y, Takeshita N, Kotaki A, Tajima S, Omatsu T, Sano K, Kurane I, Takasaki T. Detection of dengue virus genome in urine by real-time reverse transcriptase PCR: a laboratory diagnostic method useful after disappearance of the genome in serum. *J Clin Microbiol*. 2012 Jun;50(6):2047-2052
- 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.
5. Tomohiko Takasaki. Dengue vaccine development in the world: overview and status update. Scientific Meeting on Infectious Diseases, Advance Update on Pathogenesis of Viral Infection: Hepatitis, Dengue, Coxsackie, Epstein Barr, and HIV. 2012/Oct/24th. FMUI (Jakarta, Indonesia)

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

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回マーマセツ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. 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
 5. 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.
 6. 高崎智彦．デング熱、チクングニア熱など昆虫媒介性ウイルス感染症の現状と今後．平成24年度新興再興感染症講演会．2012年10月16日（名古屋市）
 7. 高崎智彦．デング熱など昆虫媒介ウイルス感染症．第111回日本皮膚科学会総会．2012年6月1-3日（京都市）
- 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（2011 - 2013年）

図2 デングウイルス2型の遺伝子系統樹（2011 - 2013年）

図3 デングウイルス3型の遺伝子系統樹（2011 - 2013年）

図4 デングウイルス4型の遺伝子系統樹（2011 - 2013年）