

厚生労働科学研究委託費
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業
委託業務成果報告（業務項目）

（委託業務題目）

国内侵入・流行が危惧される昆虫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

担当責任者研究報告書

抗デングウイルス活性測定と化合物スクリーニングに関わる研究開発

担当責任者 日紫喜隆行（京都大学ウイルス研究所）
研究協力者 加藤文博（京都大学ウイルス研究所）

研究要旨：

デングウイルス治療薬開発の為に、効率的な抗ウイルス化合物の探索ツールが必要である。そこで本研究班では以前我々が開発した一過性発現型のレプリコンの系を改良し、分泌型ルシフェラーゼを有する恒常発現型のレプリコン細胞の樹立を試みた。まず薬剤耐性遺伝子とルシフェラーゼ遺伝子の発現方法を検討する為に、3種類のコンストラクトを構築した。続いて、それぞれ *in vitro* で合成した RNA を培養細胞に導入し、薬剤選抜を行ったが全ての細胞が死滅し、レプリコン細胞の樹立には至らなかった。今後は RNA の導入方法および外来遺伝子挿入位置の検討を行う予定である。

A. 研究目的

デングウイルスは熱帯・亜熱帯地域を中心に蔓延しており、公衆衛生上大きな問題となっているにもかかわらず、抗ウイルス薬やワクチンは未だ実用化されていない。その理由の一つに抗ウイルス薬開発や、ウイルス学的解析に用いるためのツールが不足していることが挙げられる。

我々は昨年、一過性発現型のレポーターサブゲノムレプリコンという新たなツールを構築した。この系は、ウイルス粒子形成に必要な構造遺伝子を欠失させていることからウイルス粒子が形成されず安全に扱う事が出来る。また、構造遺伝子の代わりに分泌型ルシフェラーゼ遺伝子が挿入してあるため、培養上清中のルシフェラーゼ活性

を測定することによってウイルスの複製率を簡便かつ迅速に解析することが可能である。しかしながらこの系は一過性発現系であるため、抗ウイルス薬耐性変異の解析など長期培養には不向きである。そこで本研究班ではこの系を改良し、細胞内で恒常的に発現するレポーターサブゲノムレプリコン細胞の樹立を試みる。

B. 研究方法

デングウイルス1型の分子クローン (02-20/pMW119) をもとに作製した一過性発現型のサブゲノムレプリコンを恒常発現型にするために、プロモーターの変更 (CMVからT3に)、および薬剤耐性遺伝子 (ネオマイシン耐性遺伝子) の挿入を行なった。また、ルシフェラーゼ遺伝子と薬剤耐性遺伝子の挿入位置を検討する為に、計3種類のプラスミドを構築した。これらのコンストラクト作製には、15 bpのオーバーラップ配列による相同組み換えを利用したIn-Fusionシステム (Clontech社) を用いた。続いて、*in vitro*合成したRNAを培養細胞 (ヒト肝癌由来細胞: Huh7細胞) にトランスフェクション法によって導入後、G418 (500 µg/ml) 入りの培地による薬剤選抜を行なった。3日毎に薬剤入りの新しい培地に交換し、その際に培養上清中のルシフェラーゼ活性を測定した。

C. 研究結果

ルシフェラーゼ遺伝子と薬剤耐性遺伝子の挿入位置が異なる計3種類のコンストラ

クトを作製した (図1)。それぞれを *in vitro* RNA 合成し培養細胞に導入後、培養上清中のルシフェラーゼ活性を測定したところ、導入3日後には20万以上の値を示していたが、経時的に値が低下し、導入12日後にはほぼ検出限界値になった (図2)。また、導入21日後には全ての細胞が死滅してしまい、生存細胞を選抜することは出来なかった。

D. 考察

In-Fusionシステムを用いる事によって余計な配列が付加されることなく、任意の場所に遺伝子配列を挿入する事が出来るため、ウイルスの遺伝子組換えには本手法が非常に有用である。

今回薬剤耐性細胞を選抜することができなかったのは、培養細胞に導入するRNA量が少な過ぎた為である可能性が考えられる。そこで今後は、トランスフェクション法を検討し、細胞に多量のRNAを導入することによってレプリコン細胞の樹立を試みる予定である。また、薬剤耐性遺伝子が発現 (または機能) していない可能性も考えられるため、薬剤耐性遺伝子を挿入する場所の検討を試みる。

E. 結論

レプリコン細胞樹立の為のコンストラクト構築は完了したものの、レプリコン細胞樹立する事は出来なかった。

本研究班で作製するレプリコン細胞は、抗ウイルス化合物探索などの多検体解析へ

の応用が期待される。また、当該細胞はデングウイルス複製機構の解析にも有用であり、そこから得られる成果は診断薬やワクチン開発に大きな波及効果をもたらすことが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kato F., Kobayashi T., Tajima S., Takasaki T., Miura T., Igarashi T., and Hishiki T. Development of a novel dengue-1 virus replicon system expressing secretory Gaussia luciferase for analysis of viral replication and discovery of antiviral drugs. *Jpn. J. Infect. Dis.* 67, 209-212, 2014.

2. Hishiki T., Han Q., Arimoto K., Shimotohno K., Igarashi T., Vasudevan S., Suzuki Y., and Yamamoto N. Interferon-mediated ISG15 conjugation restricts dengue virus 2 replication. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 448, 95-100, 2014.

2. 学会発表

1. 日紫喜隆行、加藤文博、三浦智行、五十嵐樹彦：抗デングウイルス活性を有する生薬由来成分の探索と性状解析、第62回日本ウイルス学会学術集会（横浜）、2014年11

月

2. 加藤文博、石田裕樹、大石真也、藤井信孝、三浦智行、五十嵐樹彦、日紫喜隆行：bromocriptine による抗デングウイルス活性機構の解析、第62回日本ウイルス学会学術集会（横浜）、2014年11月

3. 加藤文博、三浦智行、五十嵐樹彦、日紫喜隆行：非ヒト霊長類 PBMC におけるデングウイルス増殖能の比較、第21回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会（横浜）、2014年11月

4. 加藤文博、日紫喜隆行、大石真也、藤井信孝、三浦智行、五十嵐樹彦：抗デングウイルス化合物のスクリーニングと作用機序の解析、第49回日本脳炎ウイルス生態学研究会（山口）、2014年5月

5. 日紫喜隆行、加藤文博、田島茂、高崎智彦、三浦智行、五十嵐樹彦：分泌型ルシフェラーゼを有するデングウイルス1型レプリコンの構築、第49回日本脳炎ウイルス生態学研究会（山口）、2014年5月

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

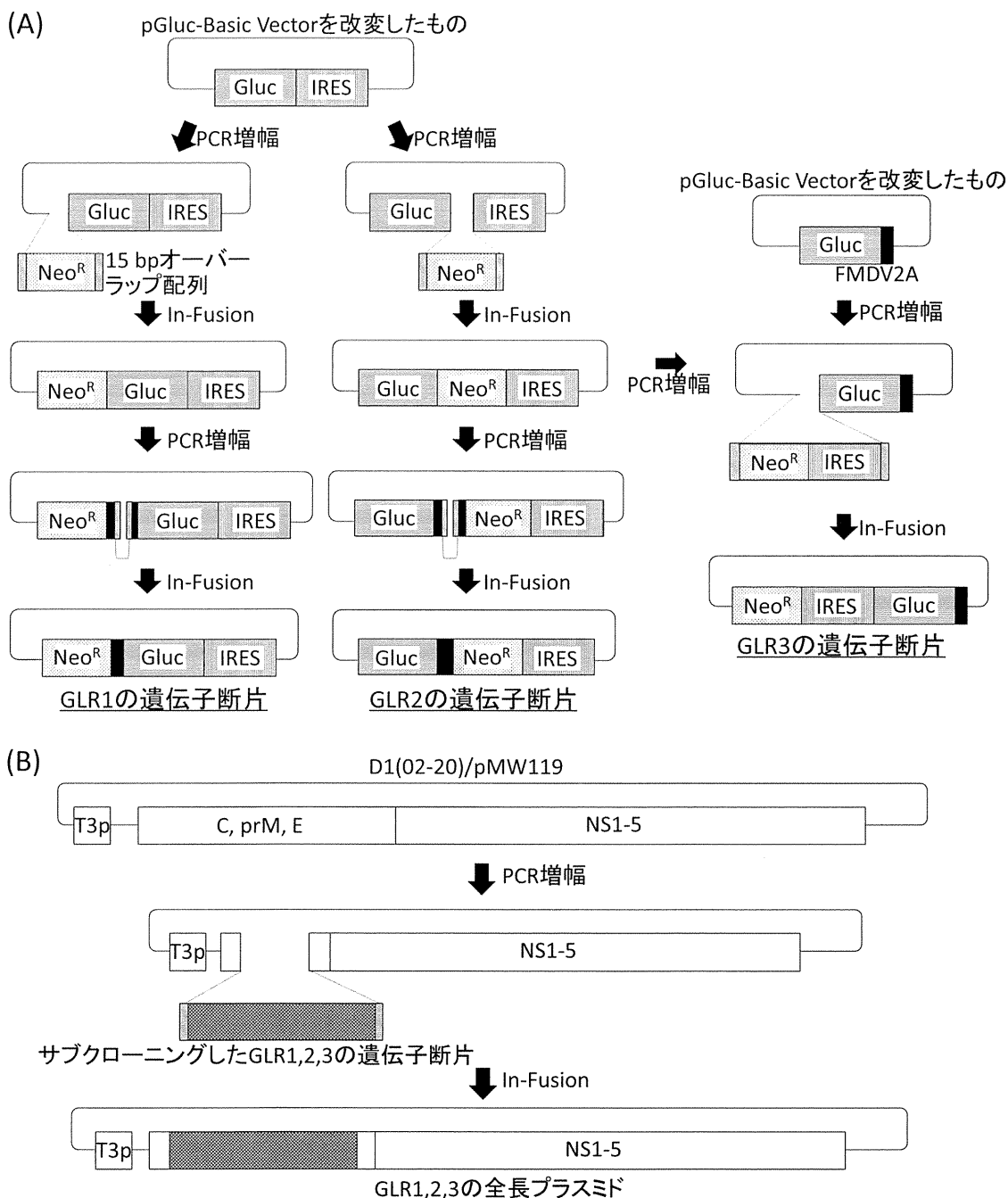


図1. レプリコン細胞作製用のコンストラクト

(A) ネオマイシン耐性遺伝子、ルシフェラーゼ遺伝子の発現法の検討のため、3種類の遺伝子断片を作製した。(B) 作製した遺伝子断片をそれぞれ分子クローンの構造遺伝子領域と置換した。Gluc: *Gussia lusiferase gene*, IRES: *Internal ribosome entry site derived from encephalomyocarditis virus*, Neo^R: *Neomycin resistance gene*, FMDV2A: *Foot-and-mouth-disease 2A cleavage sequence*, T3p: *T3 promoter*

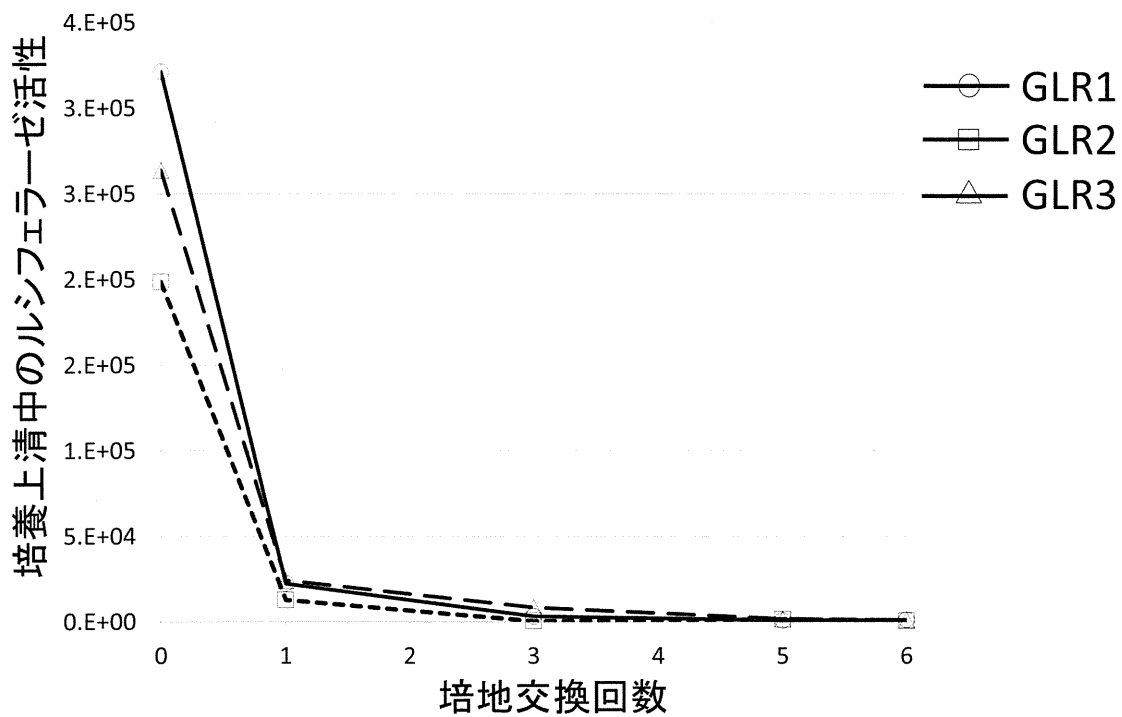


図2. RNA導入後の培養上清中のルシフェラーゼ活性
 作製した3種類それぞれのプラスミドから *in vitro*合成したウイルスRNAをHuh7細胞にトランスフェクションした。3日ごとにG418入りの新しい培地に交換し、培養上清中のルシフェラーゼ活性を測定した。

厚生労働科学研究委託費
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業
委託業務成果報告（業務項目）

（委託業務題目）
国内侵入・流行が危惧される昆虫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

担当責任者研究報告書

デングウイルスに対する抗ウイルス剤の開発

担当責任者 高橋 和郎
大阪府立公衆衛生研究所 副所長兼感染症部長

研究要旨

- (1)抗デングウイルス剤をスクリーニングする方法をフォーカス形成減少法により評価する方法を確立した。
- (2)上記方法を用いて市販の漢方薬 20 種類の抗デングウイルス活性を評価したが、有効な薬剤は認められなかった。

A. 研究目的

現在治療薬のないデングウイルス感染症に対する治療薬を開発することが目的であるが、目的が達成された場合には、重症デングウイルス感染症による死亡率、入院率、重症化率を低減させることが可能となり、その治療に貢献できる。そのために、初期目標としてウイルスの *in vitro* での増殖を阻害する物質、化合物を選定し、動物実験における効果を評価する。

B. 研究方法

1. ウイルス増殖阻害活性の評価

デングウイルス増殖の阻害活性はフォーカ

ス形成減少法を用いて評価した。8 穴の培養用スライドグラスに Vero9013 細胞を培養し、被検物質とデングウイルス(50FFU)を加え、3 日間培養する。細胞を固定後、デングウイルス特異的モノクローナル抗体を用いて感染細胞を染色しフォーカス (FFU)を算出して、フォーカス数を半減以下にする被検物質の濃度を 50%増殖阻害濃度とした。

2. 被検物質

市販の漢方薬 40 種類の阻害活性を検討した。漢方薬の原末を蒸留水に溶解し、高圧蒸気滅菌後牛胎児血清を 1%に添加し、検査に供した。

C. 研究結果

1. デングウイルスを感染させたスライドグラス上の1穴では約50個のフォーカスが染色され評価に足る個数であった。
2. 市販の漢方薬20種類の抗デングウイルス活性を評価したが、増殖を抑制する有効な薬剤は認められなかった。

D. 考察

本課題で行ったフォーカス形成減少法は薬剤候補物質の増殖阻害活性を評価する方法として可能であると考えられるが、手技が煩雑で時間を要するため、より簡便な評価方法を開発する必要があると考えられる。また、有効な抗デングウイルス剤を発見す

るためには、より多くの化合物をスクリーニングする必要がある。

E. 結論

市販の漢方薬20種類の抗デングウイルス活性を評価したが、増殖を抑制する有効な薬剤は認められなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究委託費
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業
委託業務成果報告（業務項目）

（委託業務題目）

国内侵入・流行が危惧される昆虫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

担当責任者研究報告書

媒介昆虫の垂直伝播に関する研究

担当責任者 澤邊京子（国立感染症研究所 昆虫医科学部）
研究協力者 佐々木年則，伊澤晴彦（国立感染症研究所 昆虫医科学部）
皆川こごみ，皆川昇（長崎大学熱帯医学研究所 病害動物部）
高崎智彦（国立感染症研究所 ウイルス第一部）

研究要旨

国内侵入・流行が危惧される昆虫媒介性ウイルス感染症に対する総合的対策の確立を目的として，蚊のデングウイルス垂直伝播について検討した．2014年夏から秋にかけて，東京都内の公園を中心に，国内に広く生息するヒトスジシマカによるデング熱患者の発生が続き大きな問題となった．殺虫剤の散布や季節的な蚊数の自然減少により，患者の発生は160名を超えたところで終息した．しかしながら，ヒトスジシマカは，卵のステージで越冬し，春に孵化幼虫が出現する．熱帯地方では，デングウイルスはネッタイシマカ，ヒトスジシマカのいずれにおいても垂直伝播することが報告されているが，越冬については確認されていない．国内でのデングウイルスの越冬の可能性を探る目的で，まず，長年研究実績のあり，大型なため蛋白質の解析に向いているオオクロヤブカを用いてデングウイルスの垂直伝播を検討した．その結果，デングウイルス 2 型はオオクロヤブカ体内で増殖することが明らかになった．さらに，第 2 世代 (F2) のオオクロヤブカは，雌雄ともにデングウイルスに感染していることが確認されたが，雄より雌に多くウイルスが検出された．

今後，さらにオオクロヤブカにおけるデングウイルス伝播機構について解析し，ヒトスジシマカにおけるデングウイルス垂直伝播機構についても検討する予定である．

A. 研究目的

デングウイルスは，フラビウイルス科に

属する RNA ウイルスである．世界中で年間数千万人から 1 億人がデング熱，数十万

人がデング出血熱を発症している。デング熱は、急性熱性疾患であるが、デング出血熱は発症すると全身血管からの血漿漏出、補体系の異常活性化、血小板減少に伴う出血傾向、粘膜からの出血、藩種性血管内凝固症候群などをきたし、重篤な致死的経過をとる。国内の輸入症例中、毎年2ないし3例はデング出血熱の報告がある。我が国におけるデング熱輸入症例は年々増加し、2010年には220症例を超え、2013年は合計で249例が記録された。感染症法施行後最高の症例数を年々更新している状況にある。地球温暖化と流行地の都市化現象が要因となり、世界中で流行域の拡大が最も危惧される感染症である。

2013年9月には、日本各地を旅行したドイツ人が成田空港からの直行便で帰国後にデング熱を発症した。当該患者は日本国内のブドウ畑で多数の蚊に刺されたことを記憶していたことから、国内感染が強く疑われた事例であった。デング熱はすでに日本国内に侵入している可能性が強く示唆された。2014年夏から秋にかけて国内のヒトスジシマカによる160名を超える患者症例が、約70年ぶりに認められた。そこで本研究では、国内に広く分布する蚊のデングウイルス垂直伝播について評価した。

B. 研究方法

オオクロヤブカ406系統は、戦後神奈川県相模原市で捕集された集団を実験室内で長年維持した系統である。

デングウイルス1型(DENV1)は、タイバンコク市からの帰国者の血清から分離された株(D1 11-120)、デングウイルス2型(DENV2)は、インドネシア・バリ島から

の帰国者血清から分離された株(D2 11-122/1)であり、いずれもウイルス1部から分与された分離株である。

ウイルス感染実験は、 10^8 コピー/mlのウイルス株を人工膜吸血法により経口的に蚊に摂取させ、その後、感染蚊を28°Cのインキュベーター内で飼育した。その後、産卵させ幼虫、蛹とし、羽化させて成虫(F1)を得ることが出来た。その後、人工膜吸血法によって吸血させ、産卵、羽化成虫(F2)を得ることが出来た。デングウイルスの定量は、プラークアッセイ法で行った。

C. 研究結果

オオクロヤブカにDENV1を経口感染させたところ、体内で増殖することが確認された(data not shown)。そこで、第1および第2世代の雌雄成虫からデングウイルスを検出し、ウイルス力価をプラークアッセイ法によって測定した(図1, 2)。

図1に示すように、デングウイルス感染後の第2世代(F2)の雄成虫5頭のうち2頭から3,000 PFU/mosquito以上のウイルス量が検出された。一方、図2に示すように、デングウイルス感染後の第2世代(F2)の5頭の雌成虫の全てから50,000 PFU/mosquito以上のウイルス量が検出された。

以上の結果から、オオクロヤブカはデングウイルス1型、2型のいずれもその体内で増殖させることが明らかになり、さらにデングウイルス感染後第2世代では、雌は雄よりも高いウイルス量を保持していることが示唆された。

D. 考察

オオクロヤブカ 406 系統は、長年、当研究部で系統維持され、大型であることから、蛋白解析に用いられたり、これまでに多くの生理生化学的な解析の蓄積がある。このような特徴から、本種はデングウイルスの垂直伝播を生理生化学的に解析する上で、非常に有用な材料であると考えられている。

本研究で、オオクロヤブカにおいて DENV が垂直伝播することが確認され、DENV の垂直伝播のメカニズムを解明する上で有用な昆虫モデルとなる可能性が示唆された。今後は、オオクロヤブカを用いた DENV の垂直伝播評価系の確立を目指すとともに、ヒトスジシマカにおける DENV の垂直伝播および越冬の可能性の追求に役立つことを期待している。

E. 結論

デング熱の国内感染が毎年発生することが予想される中、ウイルスの垂直伝播を明らかにすることでデング熱の毎年の発生リスクの評価が可能になり、将来的には流行予測に貢献することが期待できる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sasaki T, Higa Y, Bertuso AG, Isawa H, Takasaki T, Minakawa N, and Sawabe K. Susceptibility of indigenous and transplanted mosquito spp. in Japan to dengue virus. *Jpn. J. Infect. Dis. in press.*

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

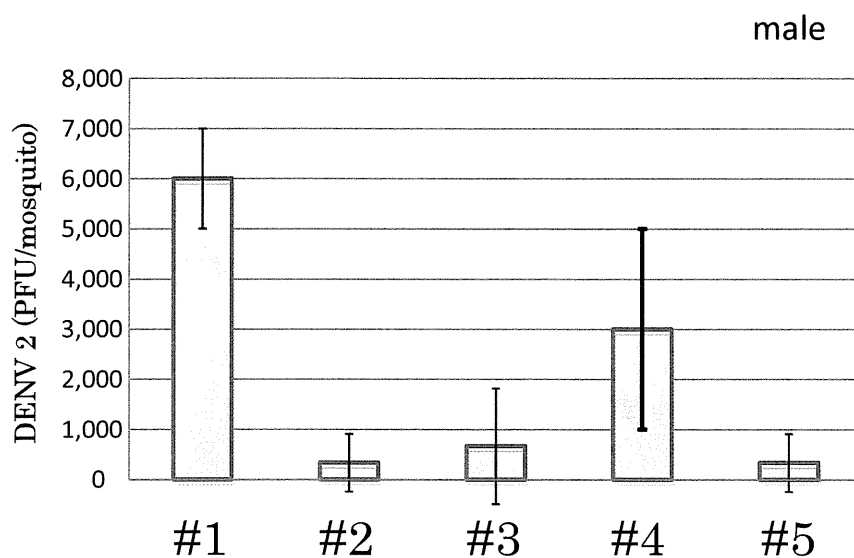


図 1. デングウイルス 2 型感染後第 2 世代オオクロヤブカ (F2) の雄成虫におけるデングウイルス 2 型の検出

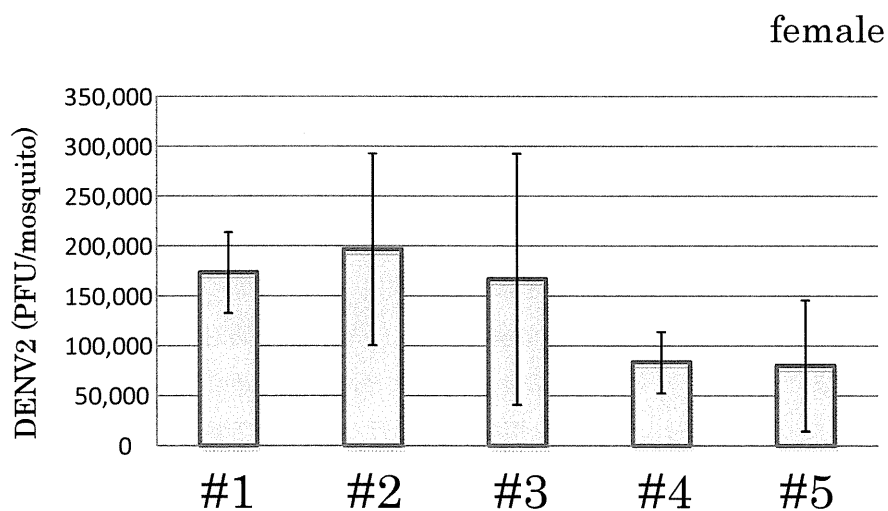


図 2. デングウイルス 2 型感染後第 2 世代オオクロヤブカ (F2) の雌成虫におけるデングウイルス 2 型の検出

厚生労働科学研究委託費
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業
委託業務成果報告（業務項目）

（委託業務題目）

国内侵入・流行が危惧される昆虫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

担当責任者研究報告書

昆虫媒介性ウイルス感染症の有効な情報提供法の開発に関する研究

担当責任者 濱田篤郎 東京医科大学病院 渡航者医療センター
研究協力者 福島慎二 東京医科大学病院 渡航者医療センター
多田有希 東京医科大学病院 渡航者医療センター
吉川みな子 京都大学 学際融合教育研究推進センター
村田英美 一般財団法人 海外邦人医療基金
菊池宏久 マニラ日本人会診療所
日暮浩実 シンガポール日本人会診療所

研究要旨

2014年度は「一般国民」と「シンガポール在留邦人」を対象に、デング熱の対策や知識についての調査を行った。いずれの集団でもデング熱への関心は高いものの、予防対策については知識が不十分な面もあった。また、ワクチンや国内での診療体制などに関して新たな情報も必要とされていた。今後はこうした点を考慮し、効果的な情報提供を行っていく必要がある。また、2014年度はマニラとシンガポールにおける日本人渡航者のデング熱罹患状況調査も実施した。それぞれの地域では定常的に日本人のデング熱患者が発生しており、地域特有の感染状況がみられた。こうした調査結果をもとに、2014年度は国内医療機関向けに「デング熱診療ガイドライン」を作成するとともに、ホームページ、講演会、小冊子などで国民への情報提供を行った。

A. 研究目的

海外渡航者にとって昆虫媒介性ウイルス感染症は重要な健康問題の一つである。とりわけデング熱は輸入症例が多く、2014年には輸入症例を起点とする国内感染例が多発した。さらに、日本脳炎、黄熱、チクングニア熱な

ども海外渡航者にリスクのある昆虫媒介性ウイルス感染症にあげられる。こうした感染症については国民に情報が広く浸透しておらず、海外渡航時に効果的な予防対策がとられていないのが現状である。また、2014年のデング熱の国内感染例発生時には、医療従事者も情

報不足のため診療に混乱をきたすことが多くみられた。そこで本研究では国民に必要なとされる昆虫媒介性ウイルス感染症の情報内容を調査し、その提供を効果的に行うことを目的とする。

B. 研究方法

1. デング熱予防に必要な情報内容の調査

「一般国民」と「流行地域の在留邦人」を対象にデング熱に関する対策と知識の状況を調査した。

「一般国民」の調査はインターネットネット調査会社のコンピュータ・プランニング・リサーチ社に委託し、同社のモニター1500人（デング熱を知っている者）を対象に行った。調査日は2014年12月中旬である。質問内容としては「デング熱の認識度」「デング熱の対策状況」「デング熱の知識レベル」などである。

「流行地域の在留邦人」の調査はシンガポールの在留邦人を対象に行った。シンガポール日本人会診療所で2014年12月中旬～2015年1月中旬に受診した日本人にアンケートの記載をお願いし、記載に同意した259人が解析対象となった。質問内容は「一般国民」の調査とほぼ同じ内容にした。また、シンガポールでは2015年1月19日に日本人会で感染症に関する講演会を開催したが、この講演会の参加者92人にデング熱予防に関するアンケート調査の協力をお願いし、90人から回答が得られた。この結果は現在解析中である。

2. 日本人渡航者のデング熱罹患状況の調査

マニラおよびシンガポールにおける日本人渡航者のデング熱罹患状況について調査を行った。マニラでは日本人会診療所を受診する日本人のデング熱罹患状況を調査した。年齢、性別、渡航目的など罹患者の特性とともに、季節性についての解析も実施した。シンガポ

ールでは同国保健省の協力を得て、2013年の日本人デング熱患者の情報を解析した。また、日系診療所（日本人会診療所、Gクリニック、Rクリニック、）を受診する日本人のデング熱罹患状況についても調査を行った。

3. デング熱診療ガイドラインの作成

国内の医療機関でデング熱を疑う患者の診療を行う際のガイドラインを作成した。このガイドラインの案文は2014年7月に本研究班内で作成したが、同年8月の国内感染例の発生に伴い、国立感染症研究所・感染症疫学センターと協力して専門家会議を開催し、最終版を作成した。

4. 国民へのデング熱に関する情報提供

以上の調査結果をもとにデング熱の予防に関する情報提供を行った。2014年度は、既に開設してあるインターネット上のホームページ「海外旅行と病気」(<http://www.tra-dis.org/>)で最新情報を提供するとともに、一般国民を対象にした小冊子「デング熱予防の手引き」を作成した。また、2015年1月19日にシンガポール日本人会で現地在留邦人を対象に「海外渡航者の健康管理～感染症対策を中心に」を開催し、デング熱対策などの情報提供を行った。

(倫理面への配慮)

原則的には、ヘルシンキ宣言における臨床研究の基準を遵守した。アンケート調査や問診用紙の調査においては匿名とし、番号のみで登録した。

C. 研究結果

1. デング熱予防に必要な情報内容の調査

・一般国民を対象とした調査

本調査はインターネットネット調査会社の

コンピュータ・プランニング・リサーチ社に委託し、2014年12月に同社のモニター1500人を対象に行った。

(調査対象の特性)

調査対象の半数は5年以内に海外渡航経験のある者（このうち東南アジア渡航経験ありを50%とした）で、残りの半数は海外渡航経験が無い者とした。なお、性別は男女同数で、年代は20歳代～60歳代まで均等に分布し、居住地も国内で均等に分布していた。

(感染症情報の入手)

「感染症関係の情報をどこから入手しているか？」の質問には「テレビ」(63.4%)が最も多く、「インターネットのニュースサイト」(41.4%)、「新聞」(36.4%)、「公的機関のHP」(16.9%)、「民間のHP」(6.8%)の順であった。「テレビ」「新聞」の回答は60歳代で多く、20歳代で少なかった。

(デング熱の認識度)

「デング熱を知っているか？」という質問には、対象者全員が「知っている」と回答し、このうち24.3%が「詳しく知っている」と回答した。「デング熱を心配しているか？」という質問には、44.1%が「心配している」と回答した(表1)。この割合は、東南アジアに渡航経験がある集団で有意に高かった。

(デング熱の対策状況)

「普段から蚊の対策をしているか？」という質問には、24.0%が「とくに対策をしていない」と回答した(表1)。この割合は20歳代が高く、60歳代で低かった。対策の種類としては「蚊取り線香や殺虫剤の使用」(50.5%)が最も多く、「窓に網戸を張る」(49.4%)、「昆虫忌避剤の使用」(42.8%)、「皮膚を露出しない」(30.5%)の順で、「蚊を増やさない対策」(24.7%)は少なかった。各対策の実施率は

東南アジアに渡航経験がある集団で有意に高かった。

「ワクチンが開発されたら受けるか？」の質問には、42.1%が受けたいと回答した(表1)。この割合も東南アジアに渡航経験がある集団で有意に高かった。受けないと回答した者の理由は「値段が高そう」が最も多くあげられた。

「デング熱を疑う症状でたら、どの医療機関を受診するか？」の質問には、「地域の基幹病院」(35.7%)、「かかりつけの診療所」(27.8%)、「感染症科のある病院」(20.7%)の順で回答が多かった。

(デング熱の知識レベル)

デング熱の知識に関する6つの質問をしたところ、「媒介する蚊は昼間に吸血する」(正解：はい)の正解率が48.1%と大変低かった(表2)。また、「致死率の高い病気である」(正解：いいえ)の正解率も67.9%とやや低い結果だった。

・シンガポール在留邦人を対象にした調査

本調査はシンガポール日本人会診療所を2014年12月中旬～2015年1月中旬に受診した日本人を対象に行い、259人が解析対象になった。

(調査対象の特性)

調査対象の年齢は10歳代～60歳代に分布し、40～50歳代が156人と最も多かった。シンガポール滞在期間は1年以上が81.8%で、ほとんどが長期滞在者だった。滞在目的は日本の民間企業からの派遣が69.1%を占めていた。

(感染症情報の入手)

「感染症関係の情報をどこから入手しているか？」の質問には「インターネットのニュ

ースサイト」(55.6%)が最も多く、「テレビ」(29.7%)、「日本人会情報」(27.0%)、「日本大使館情報」(23.2%)、「新聞」(20.5%)の順であった。

(デング熱の認識度)

「デング熱を心配しているか?」という質問には、78.0%が「心配している」と回答した(表1)。また、「周囲でデング熱にかかった人はいるか?」との質問には、28.2%が「いる」と回答した。「かかった人が誰か?」を質問したところ、「周囲の在留邦人」が最も多かった。

(デング熱の対策状況)

「デング熱の対策を行っているか?」との質問には、50.2%が「行っている」と回答した。「行っていない」(49.0%)と回答した者に、その理由を質問したところ、「予防方法がわからない」が半数近くを占めた。

「普段から蚊の対策をとっているか?」という質問には、13.1%が「とくに対策をとっていない」と回答した(表1)。対策の種類としては「昆虫忌避剤の使用」(56.0%)が最も多く、これに「蚊を増やさない対策」(48.6%)が続いた。「蚊取り線香や殺虫剤の使用」(23.6%)、「皮膚を露出しない」(14.7%)、「窓に網戸を張る」(4.6%)は少なかった。

「ワクチンが開発されたら受けるか?」の質問には、67.6%が受けたいと回答した(表1)。受けないと回答した者の理由は「副作用が心配」が多くあげられた。

(デング熱の知識レベル)

デング熱の知識に関する6つの質問をしたところ、「媒介する蚊は昼間に吸血する」(正解:はい)の正解率が38.6%と大変低かった(表2)。また、「致死率の高い病気である」(正解:いいえ)の正解率も61.4%とやや低

い結果だった。

2. 日本人渡航者のデング熱罹患状況の調査

・マニラでの調査

2012年からフィリピンのマニラ日本人会診療所を受診する在留邦人のデング熱罹患状況について調査を行っている。デング熱の診断は抗原検出キット(NS1抗原)か抗体検出キット(IgM抗体、IgA抗体)で陽性になった者とした。その結果、2014年は年間患者数が31人で、2012年(55人)、2013年(54人)に比べて大幅に減少した。(表3)。このうち約30%の患者が入院しているが、全例が重症化することなく回復していた。患者の発生は例年、雨期となる6月～8月に多くみられていたが、2014年は9月～11月に多い傾向だった(図1)。

・シンガポールでの調査

シンガポール保健省の協力を得て、同国での日本人デング熱患者の報告状況を解析した。2013年は9人、2014年は14人で計23人の日本人患者が報告された。性別は男性15人、女性8人で、年齢は30歳代(8人)、10歳未満(5人)が多かった。旅行者は4人で、大多数が居住者だった。

シンガポールでは日系診療所を受診する日本人のデング熱罹患状況についても調査を行った。デング熱の診断は抗原検出キット(NS1抗原)か抗体検出キット(IgM抗体)で陽性になった者とした。Gクリニックでは、2014年に年間で33人の日本人デング熱患者が受診しており、2月と9月に患者数が多くみられた。このうち16人はシンガポール以外の国での感染を疑うケースだった。ほとんどの患者は軽症で外来診療のみで軽快した。日本人会診療所では2013年のデング熱患者数が14人、Rクリニックでは年間10～20人だった。

3. デング熱診療ガイドラインの作成

国内の医療機関でデング熱を疑う患者の診療を行う際のガイドラインを作成し、2014年9月に発表した。このガイドラインにはデング熱の症状、診断方法、治療方法などが記載されている。なお、一般の医療機関で疑わしいケースがあった場合は、必要に応じて専門の医療機関に紹介して診断治療を受けることを原則とした。ガイドラインは厚生労働省の下記HPに掲載されている。

<http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10906000-Kenkoukyoku-Kekkakukansenshouka/0000057969.pdf>

4. 国民へのデング熱に関する情報提供

本研究班で既に作成してあるホームページ「海外旅行と病気」<http://www.tra-dis.org>を用いて、最新のデング熱情報を国民に広く提供した。本ホームページへのアクセス件数は2014年8月以降急増し、9月は4万件、10月と11月も1万件以上になった。

2015年1月19日にシンガポールで開催した講演会には92人の在留邦人が参加した。参加者の内訳は、日本企業からの駐在員が74人で帯同家族が21人だった。濱田が「グローバル感染症の脅威」、吉川（京都大学）が「シンガポール政府の感染症対策」の講演を行った。参加者からは昆虫忌避剤の効果、フォギングの弊害、デング出血熱のメカニズムなどの質問があった。

なお、今回の調査結果をもとに、一般国民を対象とした小冊子「デング熱予防の手引き」を作成した。

D. 考察

1. デング熱予防に必要な情報内容の調査

「一般国民」を対象にした調査によれば、対象者全員がデング熱について知っていると回答した。これは、2014年の国内感染例発生により、マスコミなどでデング熱の話題が数多く取り上げられた影響によるものと考えられる。また、デング熱を心配している者も半数近くにのぼり、関心の高さがうかがえた。

デング熱対策としては、蚊の対策を実践している者が多かった。しかし、「蚊取り線香や殺虫剤の使用」、「窓に網戸を張る」など夜間の蚊対策が多く、デング熱予防に必要な「昆虫忌避剤の使用」や「皮膚を露出しない」は比較的少なかった。また、根本的な対策である「蚊を増やさない対策」を実践している者も少なかった。今後は、こうした効果的な蚊対策を啓発する必要があると考える。デング熱ワクチンへの期待は高く、半数近くの者が、ワクチンが開発されたら接種したいと回答した。海外ではワクチンが近日中に承認される動きがあり、今後はこの点に関する情報提供も必要になってくるだろう。発病時の対応については、「地域の基幹病院」や「かかりつけの診療所」を受診すると回答した者が多く、こうした医療機関でデング熱診療が行える体制を構築する必要がある。

デング熱の知識レベルについては、媒介蚊が昼間吸血することを知らない者が多かった。この点については、東南アジアの在留邦人を対象とした過去の調査でも指摘されている。

なお、今回の「一般国民」を対象とした調査では、「東南アジアに渡航経験がある集団」を別個に集計したが、「渡航経験がない集団」に比べて、デング熱への関心が高く、蚊の対策についても「昆虫忌避剤の使用」や「蚊を増やさない対策」が比較的高率に実践されていた。こうした集団の協力を得ることで、国

民への情報提供を効果的に行っていくことも検討したい。

「シンガポール在留邦人」の調査では、デング熱を心配する者が 8 割近くにのぼり、関心の高さがうかがえた。しかしながら、デング熱対策を行っている者は半数に留まり、対策を行っていない者の理由としては、「予防方法がわからない」が最も多かった。蚊の対策については、多くの者が適切に実践しており、「昆虫忌避剤の使用」や「蚊を増やさない対策」も高率に行われていた。その一方で、知識レベルの調査では、「一般国民の調査」と同様に、媒介蚊が昼間吸血することを知らない者が大変に多かった。この点を在留邦人に周知させる必要があると考える。

なお、「在留邦人」の調査では感染症情報の入手方法についても聴取したが、日本人会や日本大使館などを介して情報を入手する者が多く、今後の在留邦人への情報提供にあたっては考慮すべき点である。

2. 日本人渡航者のデング熱罹患状況の調査

2014 年度はマニラとシンガポールで調査を行った。マニラについては 3 年目の調査になるが、2014 年度は過去の 2 年に比べて日本人の患者数が大幅に減少した。これは、この年にフィリピン国内でデング熱の流行が鎮静化していたためと考える。ただし、マニラでは 2011 年と 2013 年に在留邦人を対象としたデング熱予防のための講演会を開催しており、その影響も考えられる。来年度以降も経過観察を続けていく必要がある。

今年度はシンガポールでの罹患状況についても調査を行った。マニラに比べて日本人の患者数は少ないが、近隣国滞在中に罹患する事例が多い模様である。また、近年、シンガポールでは建設工事現場付近での集団発生が

報告されており、日本人患者の感染場所についても詳しい調査を進めていきたい。

3. デング熱診療ガイドラインの作成

今回のガイドラインは 2014 年 9 月時点の社会状況を基に作成されているが、その後の変化に応じて修正加筆する必要がある。たとえば、検査方法については抗原検査キットが近日中に国内承認される可能性がある。また、診療体制については、専門医療機関に紹介する方式を提示しているが、学会などの協力を得て、専門医療機関リストを作成することも検討する。さらに、国や自治体の対策ガイドラインが作成されており、こうしたガイドラインとの整合性も検討しなければならない。

4. 国民へのデング熱に関する情報提供

以上の調査結果をもとに、2014 年度は「ホームページ」、「講演会」、「冊子」により国民への情報提供を行った。

E. 結論

2014 年度は「一般国民」と「シンガポール在留邦人」を対象に、デング熱の対策や知識についての調査を行った。いずれの集団でもデング熱への関心は高いものの、予防対策については知識が不十分な面もあった。また、ワクチンや国内での診療体制など新たな情報も必要とされていた。今後はこうした点を考慮し、効果的な情報提供を行っていく必要がある。

また、今年度はマニラに加えてシンガポールにおける日本人渡航者のデング熱罹患状況調査も実施した。それぞれの地域には特有の感染状況があり、さらに詳細な調査を行うことで、各地域の状況に応じた予防対策を提示して行く予定である。

こうした調査結果をもとに、海外渡航者に

デング熱の予防についての適切な情報提供を行うことで、国内へのデング熱侵入を防ぐことができるものとする。さらに、国民や国内の医療関係者に向けて、蚊の対策や診療体制などの情報を提供することが、国内でのデング熱の蔓延を阻止するために必要なことと考える。

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 26：26-30, 2014

・濱田篤郎：渡航医学（トラベルメディスン）

の概要. 診断と治療 102：486-489. 2014

2. 学会発表

・濱田篤郎：「旅人と感染症の三千年史～旅人が運ぶ感染症への対策」 第18回日本渡航医学会学術集会 2014年7月20日 名古屋

・濱田篤郎：「海外遠征時にみられる感染症とその対策」 第25回日本臨床スポーツ医学会学術集会 2014年11月9日 東京

・濱田篤郎：「海外勤務者の感染症対策」 第62回日本職業・災害医学会学術大会 2014年11月16日 神戸

・濱田篤郎：「アジアから学ぶ～デング熱の国内感染症例の発生を受けて」 平成26年度アジア感染症対策プロジェクト共同調査研究会 2014年11月19日 東京

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. デング熱の対策状況の調査

	一般国民の調査		シンガポール在留邦人の調査 (259人)
	全体 (1500人)	東南アジア渡航経験あり (350人)	
心配している病気である	44.1%	54.3%*	78.0%
ワクチン接種を希望する	42.1%	56.6%*	67.6%
蚊の対策			
昆虫忌避剤の使用	42.8%	60.3%*	56.0%
蚊取り線香、殺虫剤の使用	50.5%	57.7%*	23.9%
皮膚を露出しない	30.5%	40.6%*	14.7%
窓に網戸を張る	49.4%	52.3%	4.6%
蚊を増やさない対策	24.7%	31.1%*	48.6%
とくに対策をしていない	24.0%	14.9%	13.1%

・一般国民の調査：国内の住民を対象にしたインターネットによる調査

・シンガポール在留邦人の調査：日本人会診療所を受診した日本人を対象にした調査

*「東南アジア渡航経験あり」の集団が 「東南アジア渡航経験なし」の集団に比べて有意に高

い数值 (p<0.05)

表 2. 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	一般国民の調査	シンガポール 在留邦人の調査
原因	患者との接触で感染する？	いいえ	82.3%	92.3%
疫学	東南アジアで流行している？	はい	78.2%	95.8%
症状	致死率の高い病気である？	いいえ	67.9%	61.4%
予防	媒介する蚊は昼間吸血する？	はい	<u>48.1%</u>	<u>38.6%</u>
治療	特効薬はない？	はい	70.3%	81.5%
	どの解熱薬を服用してもよい？	いいえ	86.3%	76.8%

表 3. 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	2014年
患者総数	55名	54名	31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	入院数：9名 (29.0%) 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	成人：26名 (83.9%) 小児：5名
性別	男性：32名 (58.2%) 女性：23名	男性：37名 (68.5%) 女性：17名	男性：21名 (67.7%) 女性：10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	駐在員：17名 (54.8%) 帯同家族：13名 旅行者：1名 (留学)

図1. フィリピン・マニラ日本人会診療所で
診断された日本人のデング熱患者数

