

STEP 3 68°C 30 sec

STEP 4 68°C 10 min

STEP2 - 3 を 45 サイクル実施した。

増幅産物の電気泳動には、3% Agarose21 (和光純薬) を用い、100 V, 30 min 泳動後臭化エチジウムで染色し、UV 照射下写真撮影を行った。

3) リアルタイム PCR 法

試薬キット FTD-19 (理研ジェネシス) を使用し、ABI7500 (ライフテクノロジーズジャパン) により検出を行った。

C. 研究結果

1) PCR 法のプロトコールの確認

感染研プロトコールに即し、検討を行った。

その結果、提供された陽性コントロールにおいて polA PCR 法では 377bp の期待されるバンドが確認でき、TpN47 PCR 法では 261bp の期待されるバンドが確認できた。

2) PCR 法の検出限界の検討

梅毒トレポネーマ標準品として Nicols 株の梅毒菌由来 DNA 溶液 (0.15ng/ μ l) を TE 緩衝液で段階希釈を行ったものを用い、検出限界の検討を行った結果、polA PCR 法、TpN47 PCR 法ともに検出限界は 0.1pg だった。

3) 陽性検体および陰性検体の PCR 法の検討

陽性・陰性の試験用検体 5 検体を 2 種の PCR 法で確認した。いずれの陽性検体も polA PCR 法では 377bp のバンドが確認でき、TpN47 PCR 法では 261bp のバンドが確認できた。陰性検体ではいずれも検出されなかった。(図 1 および図 2)

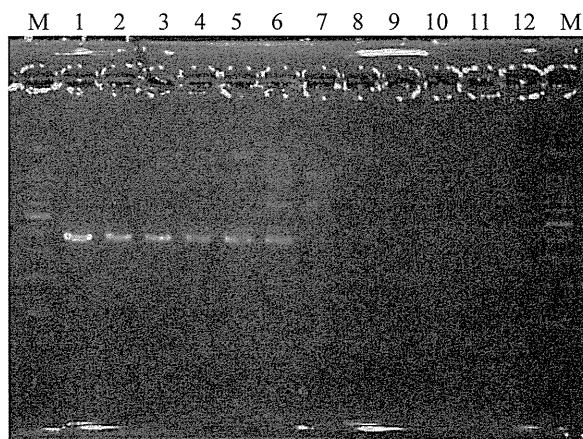


図 1: polA PCR 法による特異的バンドの検出

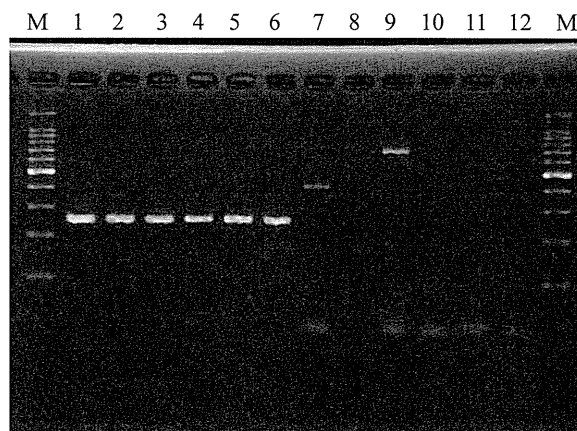


図 2: TpN47 PCR 法による特異的バンドの検出

M: 100bp サイズマーカー

レーン 1: 陽性コントロール

レーン 2-6: 陽性検体

レーン 7-11: 陰性検体

レーン 12: 陰性コントロール

4) 梅毒疑い被験者検体の PCR 法の検討

潰瘍病変部位の擦過物 1 検体を対象とした PCR 法の検討を行った。擦過物の TE 緩衝液懸濁液および SepaGene (エーディア) による DNA 抽出液を使用したところ、polA PCR 法、TpN47 PCR 法ともに特異的な増幅バンド (polA PCR 法: 377bp、TpN47 : 261bp) を認めた。

5) リアルタイム PCR 法の検討

陽性・陰性の試験用検体を使用してリアルタイム PCR 法を行った結果、陽性検体では特異的な増幅がみられ、陰性検体では増幅は見られなかった。また、潰瘍病変部位の擦過物を対象に SepaGene (エーディア) による RNA 抽出液を用いてリアルタイム PCR 法を行ったところ、特異的な増幅が認められた。擦過物の TE 緩衝液懸濁液を使用した場合も増幅は認められたが、RNA 抽出液よりも感度は低かった。

D. 考察

今回検討した PCR 法は簡便、迅速で特殊な手技を必要とせず、サーマルサイクラーと電気泳動装置があれば実施可能であるため、汎用性があると考えられる。検査材料として、潰瘍病変部位擦過物の TE 緩衝液懸濁液を用いても検出可能であったため、多数の検体の迅速処理も可能である。また、リアルタイム PCR 法は専用機器が必須である

ものの、PCR法よりもさらに所要時間が短く、かつ簡便であり、迅速診断に向いていると考えられる。

E. 結論

今回検討したPCR法およびリアルタイムPCR法は簡便、迅速であり、梅毒の確定検査に有用であると考えられる。

F. 健康危機情報

特に無し。

G. 研究発表

特に無し。

H. 知的財産の出願・登録状況

特に無し

梅毒の新たな検査手法の開発等に関する研究

核酸検査系に関わる技術開発と、発生動向に即した梅毒発病初期患者の効果的な把握の試み

担当責任者 川畑拓也 大阪府立公衆衛生研究所 主任研究員
研究協力者 小島洋子 大阪府立公衆衛生研究所 主任研究員
研究協力者 森 治代 大阪府立公衆衛生研究所 主任研究員
研究協力者 古林啓一 そねざき古林診療所 所長
研究協力者 要友紀子 SWASH (Sex Work And Sexual Health)

研究要旨

梅毒核酸増幅検査

梅毒トレポネーマ感染は初期に抗体上昇が見られず確定診断が遅れる可能性があるため、核酸増幅法を用いた病原体検出法を発病初期の診断に利用できるかどうかを検討した。その結果、感度的には十分利用可能である事が明らかとなった。

発生動向に即した梅毒発病初期患者の効果的な把握の試み

大阪府内の梅毒の流行状況を把握する為に梅毒発生届出を検討したところ、平成26年（2014年）後半には男性同性間の性的接触を感染経路とする発生届出件数が頭打ちとなり、異性間性的接触を感染経路とする届出件数が急増していることが明らかとなった。そこで、発病初期の患者を効率的に把握する目的で、性風俗産業従事者への予防啓発について検討した。

梅毒核酸増幅検査

A. 研究目的

梅毒の発生動向から、近年報告数の増加が指摘され、男性間性交渉者（MSM: Men who have sex with men）のコミュニティー内等での感染伝播増加が指摘されている。梅毒罹患はHIV感染を促進することが知られており、その対策は梅毒以外の疾患対策にも影響を及ぼす可能性がある。

梅毒トレポネーマは人工培養が出来ないため、染色法による検体内に存在するらせん菌の証明（パーカーインク法、暗視野顕微鏡法）が重要な検査法であったが、現在では臨床現場でこれらの方法が用いられることはほとんどない。そのため、血清診断によって診断がなされてきたが、発病初期の患者では抗体価の上昇が認められないため、確定診断が初診時に出来ず、また性感染症であるため、患者が再来院しないこともあり、治療効果が判定できない、あるいは治療が不十分であることも散見される。

これらの状況に鑑み、特定の集団間において、

感染源となる潰瘍性病変をより早期に捉え、病原体を同定し、正確な診断に結びつけることにより、梅毒の病態や疫学情報等の理解を深め、より有効な感染対策に結びつけることが求められる。

そのため、今回国立感染症研究所から提供された梅毒トレポネーマDNA等を用いて、核酸増幅検査の利用可能性を検討した。

B. 研究方法

梅毒トレポネーマDNA：国立感染症研究所から提供を受けた。陽性および陰性検体については国立感染症研究所から連結不可能匿名化されたものを提供され、使用した。

PCR法: polA 遺伝子検出は J. Clin. Microbiol. (2001) 39: 1941-1946 で報告された方法を参考に検討した。TpN47 遺伝子検出は J. Clin. Microbiol. (1996) 34: 4 で報告された方法を参考に検討した。

リアルタイムPCR法：市販の梅毒遺伝子検出用キット FTD Genital ulcer (FTD-19) (Fast-track

Diagnostics 社)を用いた検討を試みた。しかしながら、当キットが指定する梅毒遺伝子検出用のレーザー光の波長に、当所所有のリアルタイム PCR 装置 (ABI Step One Plus、ABI 7900 HT) が対応しておらず、検討を断念した。
協力診療所の設定：そねざき古林診療所

C. 研究結果

1) PCR 法のプロトコールの策定

国立感染症研究所から提供されたプロトコールを参考に、検討を行った。DNA の抽出には QIA amp DNA Mini Kit (QIAGEN) を、PCR 機器は TaKaRa PCR Thermal Cycler PERSONAL、PCR 酵素は Ex Taq (TaKaRa) を使用した。PCR 条件は以下に示す。

- STEP 1 94°C 2min
- STEP 2 94°C 30sec >> 60°C 30sec >>72°C 30sec (2 サイクル)
- STEP 3 94°C 30sec >> 57°C 30sec >>72°C 30sec (2 サイクル)
- STEP 4 94°C 30sec >> 54°C 30sec >>72°C 30sec (2 サイクル)
- STEP 5 94°C 30sec >> 51°C 30sec >>72°C 30sec (30 サイクル)
- STEP 6 72°C 7min >> 4°C

提供されたプロトコールから酵素を Ex Taq に変更し、PCR 条件も見直した。その結果、非特異的な増幅産物が減少した。DNA を抽出し、PCR 法で検出可能だった臨床検体(後述)の一部について、試料から直接 PCR 法を行う事ができるか否かの検討を行った結果、検出可能である事がわかった。今後はさらに検体数を増やして、解析する必要があると思われる。

2) PCR 法の検出限界の検討

po1A 遺伝子、TpN47 遺伝子に関して、上記プロトコールによる PCR 法における検出限界を検討した。国立感染症研究所から提供されたニコルズ株の既知濃度の DNA を希釈し、テンプレートとして用いた。po1A 遺伝子、TpN47 遺伝子ともに 50 コピー/mL 程度で増幅が見られた。既知濃度 DNA の段階希釈の精度にも左右されるので、正確な検出限界の検討には、日内変動や日間変動なども考慮しなければいけないと考えられた。また、作業

者、使用する試薬や機器も大きな影響があるので、他施設のデータを合わせて解析する必要がある。

3) 陽性検体および陰性検体の検討

国立感染症研究所から提供された陽性・陰性検体 5 検体を 2 種の PCR 法で確認した。po1A PCR 法、TpN47 PCR 法ともに、提供された陽性検体はすべて陽性、提供された陰性検体はすべて陰性であった。

4) 検体提供医療施設の設置

これまでも協力関係にあったそねざき古林診療所に検体の提供を依頼し、了解を得た。しかしながら、準備期間が短く、他の医療機関については協力関係の構築までには至らなかった。

(参考) 依頼検査の結果

医療機関からの依頼により、発病初期と思われる潰瘍性病変から採取された検体から、梅毒遺伝子の核酸増幅検査を実施した結果を参考資料として記載する (表 1)。

No.	採取日	年齢	性別	リスク	症状等	PCR 結果
1	14 年 4 月	35	男性		硬性下疳	陰性
2	14 年 6 月	20	男性		硬性下疳	陽性
3	14 年 6 月	45	男性		硬性下疳	陰性
4	14 年 7 月	25	男性		硬性下疳	陽性
5	14 年 8 月	36	男性		硬性下疳	陽性
6	14 年 9 月	54	男性		硬性下疳	陰性
7	14 年 10 月	42	男性		I 期梅毒	陰性
8	14 年 11 月	28	女性	SW	小陰唇潰瘍	陽性
9	14 年 12 月	24	女性	SW	扁平コンジローマ	陽性

(表 1) 依頼検査における PCR 法検出結果(参考)

D. 考察

今回検討したプロトコールは、実際の発病初期患者の潰瘍性病変から採取された臨床検体からも検出が可能であり、早期の診断に応用可能であると考えられる。しかしながら、臨床現場で PCR 法を行うことは、手技の煩雑さ、装置の大きさや価格等を考慮すると、まだまだ現実的でなく、梅毒核酸増幅検査の臨床応用には、より簡便な核酸増幅検査法の開発等が必要と思われた。

発生動向に即した梅毒発病初期患者の効果的な

把握の試み

A. 研究目的

梅毒の病原体検出方法を検討するには、地域における発病初期患者の検体を効率よく収集する事が肝要である。そこで、大阪地域における梅毒の発生病動向を解析し、発病初期の患者を流行状況に即して効果的に把握する方法を検討する。

B. 研究方法

大阪府、大阪市、堺市の感染症発生動向調査における梅毒発生届け（5類、全数把握疾患）について、2009年から2014年までのデータを解析した。流行状況に即し、適切だと考えられるNPO/CBOと協働し、発病初期の患者を効果的に把握するために、予防啓発の方法を検討した。

協力診療所の設定：そねざき古林診療所

C. 研究結果

1) 大阪府内の梅毒の流行状況

感染症発生動向調査の梅毒発生届出（5類、全数把握疾患）について、大阪府、大阪市、堺市の2009年から2014年のデータを性別で集計した（図2）。大阪府内では調査期間内では2010年に最低となった報告数が2011年には増加に転じ、2013年、2014年と年を追うごとに増加割合が上昇していた。男女別では男性でその傾向が顕著であったが、女性でも報告数は少ないが同様の傾向を示していた。

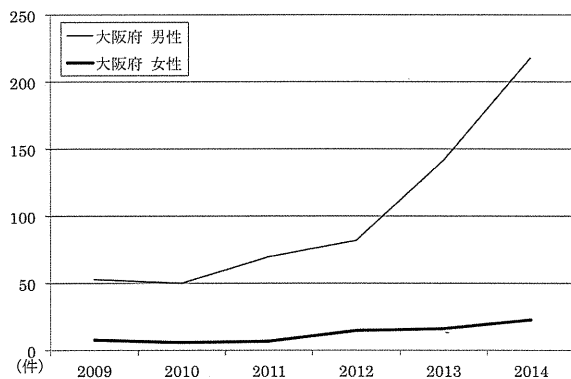


図2 大阪府内の梅毒届出件数の性別推移

次に流行状況について詳細な検討をするため、報告数が増加に転じた2011年から2014年までを、感染経路別に半年ごとに解析した（図3）。

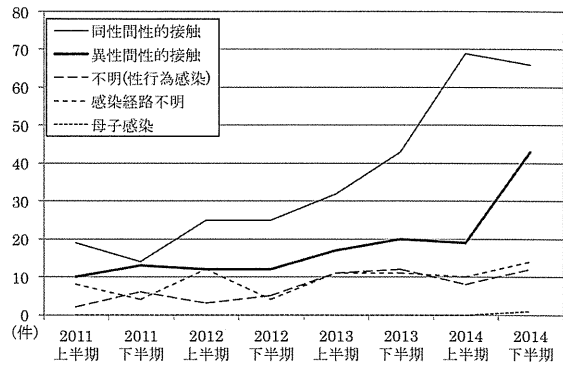


図3 感染経路別の届出件数の推移

その結果、男性同性間の性的接触を感染経路とする届出が2013年から急増していたが、2014年後半には頭打ちとなっていた。一方、女性の届出を含めた異性間の性的接触を感染経路とする届出が2014年後半から急増していた。内訳では、20歳代以下の女性の増加が顕著であり、2013年は2件(前半:0、後半:2)であったものが、2014年には11件(前半:4、後半:7)となっていた。また、近年では平成21年(2009年)に大阪府内で1例のみ報告のあった母子感染の届出が、2014年にも1例あることが明らかとなった。さらに、協力医療機関からの報告で、若年の性風俗産業従事者(以下セックスワーカー:SW)の症例が2014年末に複数みられたことも明らかとなった。

2) NPO/CBO と協働した効率的な予防啓発の検討

上述の大阪府内の流行状況に鑑み、「主にセックスワーカーとして働く人たちが安全・健康に働けることを目指して活動しているグループ」であるSWASH(Sex Work and Sexual Health、メンバーはSWとそのサポーター)と協働し、予防と検査に関する啓発資材を検討し、作成した(資料2)。この啓発資材を性風俗店へアウトリーチし、SWに配付する予定である。また、啓発資材のPDFをSWASHの公式Webサイトに掲示し、フェイスブックやツイッターを利用して広報する。さらにSWASHがSWの求人webサイト「風俗求人サイト・モモコちゃんねる(<http://momoco.ch/>)の協力を得て、梅毒啓発資材へリンクが張られたバナー広告(資料3)を掲示し、啓発を行う。

D. 考察

大阪府内の梅毒発生届出は、2013年2014年と

急増しているが、感染経路を半年ごとに詳細に解析すると、予想外にも男性同性間の性的接触による感染の届出が頭打ちしており、異性間の性的接触による感染の届出が2014年後半に急増していた。そこで今回はゲイ・バイセクシャル向けに予防啓発を行っている団体ではなくSWを対象に予防啓発を行っているSWASHと協働し、梅毒の予防啓発・受検促進方法について検討し、実施した。

今回は実施出来なかったが、準備期間が十分に取れば無料匿名検査の情報のみならず協力医療機関を増やし、その情報も啓発資材に掲載することで、発病初期患者の検体を採取できる十分な体制を構築できたであろうと思われる。それでも今回、少ないながらも協力医療機関についての情報がSWASHの公式Webサイトに掲載されているため、今回の啓発に暴露したSWが協力医療機関を受診する可能性は高いと考えられる。

E. 結論

梅毒核酸増幅検査について検討し、梅毒発病初期患者の臨床検体から梅毒遺伝子を検出可能な系を確立した。

梅毒発病初期患者から効率良く検体を採取するため、大阪府内の梅毒流行状況に即した予防啓発・受検促進を行った。

F. 健康危機情報

特に無し。

G. 研究発表

特に無し。

H. 知的財産の出願・登録状況

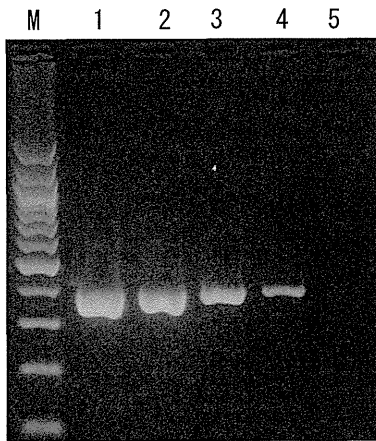
特に無し

資料1

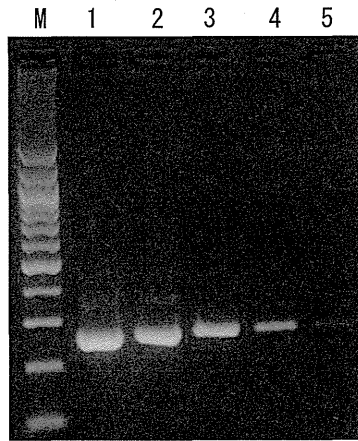
polA, TpN47の検出限界の検討

1) 500000copies/mL templateを10倍希釈して用いた。

- 1 5×10^5
- 2 5×10^4
- 3 5×10^3
- 4 5×10^2
- 5 5×10^1



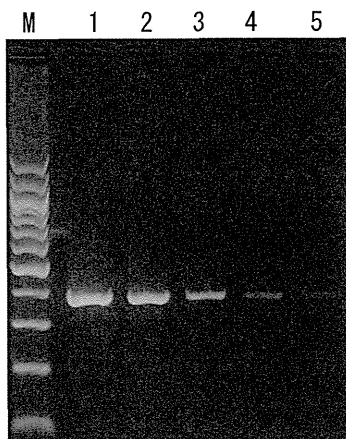
polA



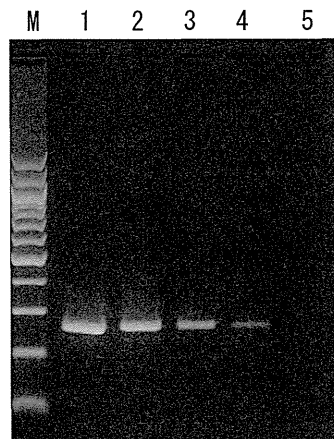
TpN47

2) 5000copies/mLのtemplateを5倍希釈して用いた。

- 1 5×10^3
- 2 1×10^3
- 3 2×10^2
- 4 4×10^1
- 5 8



polA



TpN47

資料2

みんな知ってる？ 梅毒の感染が急増中!

現在、全国的に梅毒の感染が急増しています。梅毒は、主に、セックスやアナルセックス、オーラルセックス（口と性器の接触）などを通じて感染します。口の中に梅毒の症状があるとキスでも感染します。皮膚や粘膜の傷口から病原菌が入り感染することもあります。

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
東京都	男女	197	172	248	297	417	502
	男性	168	154	221	263	365	416
大阪府	男女	29	18	27	34	52	86
	男性	61	56	77	97	158	241
全国	男女	53	50	70	82	142	218
	男性	8	6	7	15	16	23
全国	男女	691	621	827	875	1236	1661
	男性	523	497	650	692	999	1282
全国	男女	168	124	177	183	237	379
	男性						

2010年からの5年間で、4倍程度に報告数が増えている!

※2014データは2015.6集計のWSH公開データ

梅毒の症状と治療法

●どんな症状?
(第一期) 性器や股のつけね、肛門、口の中などに感染した場所に、直径1cm以内の硬いしこりができます。痛みはありません。感染していても症状がないこともあります。
(第二期) 2〜3か月後に、全身に赤い斑点状の発疹がで、髪が抜けたりしますが、しばらくすると、どの症状も自然に消え治癒をしないまま進行します。

クラミジアや淋病と同じく梅毒も、感染しても症状がないタイプが流行中。コンニチヤやフェラでもうつります。だから定期的な検査が大切です。

(梅毒の初期硬結) (梅毒の硬性下疳)

●検査期間は? 10日〜3か月(伏している)3週間ほど
●治療法は? 注射が数回で2〜3週間です。

(A4版・表)

◆◆◆◆ 検査に行こう! ◆◆◆◆

大阪府内で、梅毒・HIV検査を匿名・無料で受けられる検査会場(保健所・cheiCASTなんの)の一部の検査会場では「梅毒」・「クラミジア」のうち、いずれかの性感染症検査がHIV検査と同時に無料で受けられます。

検査会場	電話番号	検査会場	電話番号
●大田区	06-6313-9882	●東淀川区	072-661-0330
●東淀川区	06-6567-5882	●東淀川区	072-462-7103
●東淀川区	06-6308-9882	●東淀川区	06-6152-7316
●東淀川区	072-222-0033	●東淀川区	072-845-3151
●東淀川区	072-228-0123	●東淀川区	072-751-2500
●東淀川区	072-227-8120	●東淀川区	06-6339-2225
●東淀川区	072-221-2612	●東淀川区	072-624-8698
●東淀川区	072-293-1222	●東淀川区	072-820-7171
●東淀川区	072-224-6600	●東淀川区	06-6903-3338
●東淀川区	072-244-6484	●東淀川区	072-878-1031
●東淀川区	072-362-8681	●東淀川区	072-604-0651
●東淀川区	072-582-2603	●東淀川区	072-956-4181
●東淀川区	072-963-6411	●東淀川区	0721-23-2881
●東淀川区	06-6788-0066	●東淀川区	0725-41-1342
		●東淀川区	072-422-5681

◆◆◆◆ 性感染症予防・対策は? ◆◆◆◆

どうして Sex でうつるの?
1) 粘膜感染
粘膜が触れ合うことで病原体が相手から自分うつる
→例:梅毒、淋病、クラミジア、ヘルペスなど
2) 異口感染
アナルをなめることで便に含まれている病原体が口→消化器に入り込む
→例: A型肝炎、アメーバ赤痢など
3) 血液感染
相手の血液が自分の血管に入り込むことで、血液中の病原体がうつる
→例: HIV(エイズ)、B型肝炎、C型肝炎など

どうして Sex で血液感染するの?
→必ずしも合意なく感染の表面に突き入るだけで感染する場合があります。また、そこから伝染性の血液が出て相手の毛細血管に入り込むため。

結膜・体液接触を防ぐ
いろんなセーフティーサービスの仕方、イラスト付きで解説しているよ!
ぜひ携帯やスマホでみてみてね!

http://swashweb.sakura.ne.jp/node/96

◆◆◆◆ もし感染していたらどうしよう? ◆◆◆◆

一部の保健所では、HIV検査と同時に梅毒検査を受けることができます。HIV検査を受けて、もし結果が陽性反応でも、薬を飲み続けることで今までと変わらない生活を送ることができます。また、様々なサポート団体や相談窓口があります。

HIV陽性の人とパートナー・家族のための電話相談
HIVサポートライン開設
06-6358-0638
受付時間: 毎日19時〜24時、相談日: 12月10日〜15日(16時〜24時)
●匿名で相談できます。●相談がてきとる場合は匿名ではありません。
●4名以上の個人情報が特定できることはありません。

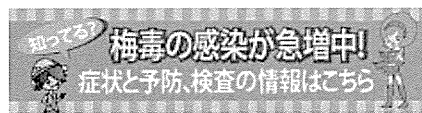
HIV陽性の方、検査の結果待ちの方、陽性の人のパートナー・家族・友人の方にご利用いただけます。あなたの疑問や心配ごとなどについて、一緒に考えます。どこに相談したらよいかわからない方も、一度お電話ください。

SWASH(Sex Work and Sexual Health)
セックスワーカーが安全・健康に働けることを目指して活動しているグループ。メンバーは、セックスワーカーとそのパートナーで構成されており、HIVなどの性感染症対策のほか、幅広く活動中。

携帯サイト→<http://swashweb.sakura.ne.jp/mobile/index.html>
facebook→<http://www.facebook.com/sexwork.swash>
メール→mail.swash@gmail.com
twitter→[@swash_jp](https://twitter.com/swash_jp) 電話→080-3439-1756
PC・スマホ→<http://swashweb.sakura.ne.jp/>

(A4版・裏)

資料3



(バナー広告)

リンク先・啓発webページ
「SWASH公式Webサイト」
<http://swashweb.sakura.ne.jp/node/138>

●バナー広告掲載webページ

「風俗求人サイト・モモコちゃんねる」

- ・ PC版コラム (右サイドバナー)
<http://momoco.ch/colum/>
- ・ PC版モモこみゆ (右サイドバナー)
<http://momoco.ch/mmcom/>
- ・ スマホ版コラム (中段テキストバナー)
<http://momoco.ch/sp/colum/>
- ・ スマホ版モモこみゆ (中段テキストバナー)
<http://momoco.ch/sp/mmcom>

●その他の広報・啓発

SWASHの各種公式

- ・ Webサイト
<http://swashweb.sakura.ne.jp/node/138>
- ・ フェイスブック
<https://www.facebook.com/sexwork.swash>
- ・ ツイッター
[@swash_jp](https://twitter.com/swash_jp)

梅毒の新たな検査手法の開発等に関する研究
梅毒感染症における早期診断のための検査診断法における核酸診断の有用性

担当責任者 尾上智彦 東京慈恵会医大 葛飾医療センター皮膚科 助教
協力 井戸田一郎 （しらかばクリニック）
協力 中山周一 （国立感染症研究所）
協力 大西 真 （国立感染症研究所）

研究要旨

梅毒トレポネーマの核酸検査法を評価した。PCR 法による核酸検査結果が付随している梅毒疑い症例データ (n=103) を国立感染症研究所から提供され、スワブ採取部位の写真、血清学的検査結果、PCR 法検査結果をもって検討した。その結果、核酸検査陽性／血清診断陰性症例 11 例の中に、臨床的には梅毒皮膚病変として矛盾のない症例が 9 例存在することが示された。一方、核酸検査陰性／血清診断陽性症例 15 例の中に、明らかに梅毒病変から採取されていることが確認される症例も約半数存在し、梅毒トレポネーマ PCR 結果にはなんらかの要因で偽陰性を示す場合があることが示された。

A. 研究目的

臨床診断と血清および核酸診断結果に関して総合的な検討を実施し、梅毒トレポネーマの核酸診断の利点および欠点を明らかにし、総合的な診断チャートのなかでの位置づけを検討することを目的とした。

B. 研究方法

PCR 法による核酸検査結果が付随している梅毒疑い症例データ (n=103) を国立感染症研究所から提供され、スワブ採取部位の写真、血清学的検査結果、PCR 法検査結果をもって検討した。本研究は、患者から同意書を得て行われている梅毒

トレポネーマ核酸検査に付随してえられたデータを用いて行われた。本研究で扱った情報には、個人を同定できる情報を収集していないため、倫理上の問題が発生する恐れはない。

C. 研究結果

総計 103 例の症例について検討を行った。43 例は梅毒トレポネーマ PCR 陰性例、60 例は梅毒トレポネーマ PCR 陽性例であった。

梅毒トレポネーマ PCR 陰性例のなかには、皮膚病変からは典型的な梅毒病変（初期硬結、硬性下疳）から検体が採取されたことが推測された 10 症例が含まれていた。うち 7 例は血清学的検査からも梅

毒診断に矛盾はなかった。

梅毒トレポネーマ PCR 陽性例の中には、典型的な梅毒抗体反応が認められない(抗カルジオリピン抗体陰性+抗梅毒特異的抗体陰性)症例は12例存在した。うち、1例は典型的な梅毒病変が認められ、抗梅毒特異的抗体陽性化が経過の中で認められている。梅毒トレポネーマ PCR 陽性結果と考え合わせると、極早期からの治療で抗カルジオリピン抗体価の上昇がみられなかったと解釈することが可能と考えられた。

残り11例のうち9例においても典型的な梅毒病変として矛盾しない所見が得られていた。また、2例は臨床症状からは必ずしも梅毒としては典型例ではなく、また血清診断でも初診時の一点のデータでは判断が難しい1例が存在した。

D. 考察

梅毒の核酸診断系の開発とその利用が諸外国で進められている。ひとつには確定診断が困難な神経梅毒、先天梅毒症例への診断利用価値が論じられてきた。加えて、早期梅毒診断の際の暗視野顕微鏡検査と同等の役割を果たすことが出来るとの考え方が熟成されつつある。梅毒の診断において臨床症状、問診、血清診断が主要な役割を果たすことにはかわりない。特有の梅毒病変からの梅毒スピロヘータの存在を示す、顕微鏡的観察が果たして重要性も変わらず存在する。しかしながら、このような顕微鏡を用いた検査が実務上困難になってきた現状では、それに変わる検査法の開発にも一定の価値は存在すると考える。

梅毒トレポネーマ PCR 法によって陰性が示された症例のなかにも臨床症状、血清学的検査により、梅毒と診断される症例が少なからず存在した。何らかの要因でPCR陰性となった可能性がある。要因としては、病変部に十分な菌体量が存在しなかったこと、十分な菌体量がスワブされなかったこと、検体中のPCR阻害物質が存在したこと、などが考えられる。より高感度、汎用性の高い手法の開発改善が望まれる。加えて簡便性をもった試験法でなければ実際上の利用は困難である。

一方で、血清学的試験法の弱点である抗体価上昇前の梅毒を捉えることに関しては、梅毒トレポネーマ PCR 法に一定の効果があることも明らかにされた。

初診時抗カルジオリピン抗体陰性で、抗梅毒特異的抗体陽性の症例では、抗梅毒特異的抗体測定法の感度が良いことが関与している可能性がある。しかしながら、一般的には既往の感染(既往で上昇した抗梅毒特異的抗体は必ずしも治療完了後も陰性にはならない)の可能性を示唆する。本研究でも4例において、このような初診時抗カルジオリピン抗体陰性で、抗梅毒特異的抗体陽性の症例で、PCR陽性であった。非典型的な検査結果をもたらす症例においての、梅毒トレポネーマの核酸診断のもつ有用性を検討する価値が存在する。

梅毒による口腔病変は感染性が強く、オーラル・セックスによる感染拡大の可能性が示唆されている。口腔咽頭梅毒は初期硬結、硬性下疳、粘膜班、乳白斑といった梅毒特有の病変が多いとされるが

(余田敬子 皮膚科サブスペシャリティーシリーズ 文光堂 2009 33-36)、HIV陽性者の場合は必ずしも典型的な症状を呈するとは限らない (病原微生物検出情報 月報(IASR) 2015 36 23-25 井戸田一郎、畑 寿太郎、加藤康幸)。プライマリー・ケアの現場においては診断に難渋する場合も予想される。このような症例における、梅毒トレポネーマの核酸診断の意義を検討する必要がある。

E. 結論

現状において梅毒トレポネーマ核酸診断は補助的診断の一部と認識される。問診、視診、血清学的検査とその値の経時変化に基づいて総合的に判断することが重要である。そのなかで梅毒トレポネーマ核酸診断は、早期の梅毒を見いだすこと、非典型的な症例において補助的に利用することは可能であろう。

F. 健康危機情報

特に無し。

G. 研究発表

学会発表

尾上智彦：性感染症検査の標準化-梅毒の診断と検査法について 日本性感染症学会第27回学術大会 神戸 2014年12月

H. 知的財産の出願・登録状況

特に無し

平成 26 年度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)
「梅毒の新たな検査手法の開発等に関する研究」
(研究者代表者 大西真)
分担研究報告書

「国内における梅毒の発生状況と罹患リスクの検討」

研究分担者：山岸拓也 (国立感染症研究所 感染症疫学センター)
研究協力者：石金正裕 (同 実地疫学専門家養成コース)
金山敦宏 (同 実地疫学専門家養成コース)
加藤博史 (同 実地疫学専門家養成コース)
高橋琢理 (同 感染症疫学センター)
有馬雄三 (同 感染症疫学センター)
加納和彦 (同 感染症疫学センター)
砂川富正 (同 感染症疫学センター)

要旨

国内では梅毒が増加してきている。国の感染症発生動向調査では、梅毒は男性と性交する男性 (Men who have sex with men: MSM) で増加しており、追隨してヘテロセクシャルな男女で増加していた。同じく MSM が流行の中心である HIV 感染症は明らかな増加を認めておらず、MSM の中でも繰り返し梅毒に罹患するコアなグループの存在が疑われた。そこで、MSM での梅毒罹患のリスク因子を明らかにするための症例対照研究を計画し、まず MSM に対しパイロット研究を施行し質問紙を作成することにした。本パイロット研究では、MSM の中に少なからず女性経験を持つ人がいること、セックスを過去半年で行っていない人などがわかり、質問紙に反映させた。また、国内外での梅毒を取り巻く状況を理解するために、世界保健機関 (WHO) から 2014 年に発行された梅毒母子感染排除評価確認のための文章を翻訳した。WHO は母子感染排除には 10 万出生あたり 50 例以下とすることを impact target として定めているが、日本では毎年 0.1 例前後であり、基準を大きく下回っていた。しかし梅毒に関連した死産、早産、低出生体重児の把握が十分ではなく、それらを含む梅毒母子感染の実態の把握が課題であると考えられた。

A. 研究目的

近年、梅毒は多くの先進国同様に日本でも増加傾向である。この増加は男性と性交する男性 (Men who have sex with men: MSM) での増加が中心である。それら MSM における梅毒拡大を阻止することが、MSM を超えた梅毒の広がりをも止めるためにも重要であ

る。そこで、3 つの研究を行う事とした。

①国の感染症発生動向調査から梅毒患者の特徴を調べる。②MSM での梅毒罹患のリスク因子を明らかにする症例対照研究のために質問紙を開発する。③国内外での梅毒を取り巻く状況を理解するために、世界保健機関から 2014 年に発行された梅毒母子感

染排除評価確認のための文章を翻訳する。

以下は 3 つの研究の研究手法、結果、考察を別々に記載する

① 感染症発生動向調査から見た梅毒発生状況

①-B 研究方法

感染症発生動向調査事業により 2007 年から 2014 年に診断され報告された梅毒を対象とした（2012 年までのデータは感染症発生動向調査年報、2013 年のデータは 2014 年 1 月 10 日現在の暫定報）。感染経路に関しては、同性間性的接触と異性間性的接触のいずれもありとされたものは同性間性的接触とした。年齢群は 5 歳間隔とした。

本研究で用いた感染症発生動向調査のデータには個人情報が含まれるが、データ解析は国立感染症研究所内で行われ、また個人を特定できる情報を除外して利用しており、倫理上の問題が発生する恐れはない。

①-C 結果

梅毒総数は 2010 年まで減少傾向したのち増加に転じ、2013 年は 1228 例、2014 年は 1671 例であった（図 1）。男性が 1289 例（77%）と大半を占めていた。2014 年の人口 10 万当たり報告数は全体で 1.32、男性が 2.09、女性が 0.59 であった（図 2）。2014 年は男性での増加は昨年と同じペースだったが、女性での増加が顕著であった。

2014 年の病型別報告数は、早期顕症Ⅰ期 352 例（21%）、早期顕症Ⅱ期 598 例（36%）、晩期顕症 80 例（5%）、無症候 631 例（38%）であり、先天梅毒が 10 例と 8 年ぶりに 2 ケタとなった（図 1）。男女別にみると、男性

では同じ順に 303 例（24%）、471 例（37%）、69 例（5%）、440 例（34%）であり、女性では 49 例（13%）、127 例（33%）、11 例（3%）、191 例（50%）であった（図 3）。

年齢は男性では 10 代後半以降のあらゆる年齢層で増加を認めており、女性では 10 代後半から 30 代までの若年層で増加を認めていた（図 4）。

感染経路別に関しては、男性では、同性間性的接触は 2008 年から一貫した増加傾向を示し、それに追従する形で 2011 年以降異性間性的接触の報告数が増加に転じていた（図 5）。女性では特に 2014 年に異性間性的接触による感染が著しく増加した。

都道府県別に報告数の変化をみると、多くの都道府県で増加を認めているが、熊本県のように減少している県まで様々な状況であった（表 1）。2013 年に急増していた宮城県は、2014 年は報告数が減少していた。

①-D 考察

近年の梅毒増加は男性と性交する男性（Men who have sex with men: MSM）での増加から始まり、現在も流行の中心である。しかし、MSM を超えたヘテロセクシャルなコミュニティにも感染が拡大してきていることが懸念される。特に、女性での広がりには日本における梅毒流行に特徴的であり、今後の先天梅毒増加が懸念される。

サーベイランス上の課題として、過小評価といわれている梅毒の感染症発生動向調査の捕捉率の把握、梅毒による早産・死産・低出生体重等の典型的な先天梅毒以外の症例の把握が挙げられる。

②症例対照研究質問紙の妥当性評価

②-B 研究方法

2015年1月7日にしらかば診療所を受診したMSMで研究内容を説明し同意を得た患者に質問紙を記入してもらいその場で回収した。しらかば診療所はMSM等の性的少数者が多く通院している都内の診療所である。質問紙の内容は、基本属性、性生活、健康状態、知識と予防から成り、分かりにくい点なども記載してもらった。

本研究は、患者から同意書を得て行われた。質問紙は国立感染症研究所感染症疫学センターで厳重に管理されている。本研究で扱う情報には、個人を同定できる情報を収集していないため、倫理上の問題が発生する恐れはない。

②-C 結果

6名に質問紙を配布し6名から回収、記入漏れはなかった。6名の基本属性は年齢の中央値は37.5歳(範囲27-48歳)、男性と初めて性交渉を行った年齢の中央値は15.5歳(範囲15-20歳)であった。2名が過去に女性と性交渉歴をもっていた、1名が梅毒既感染、4名がHIV感染者(HIV-RNAはいずれも検出感度未満、CD4の中央値は416(284-1018)/ μ l)であった。全例梅毒の検査施行歴はあった。セックスの相手はインターネット、スマートフォンアプリ、銭湯、野外で見つけていた。直近6か月にセックスを行ったのは、特定のパートナーのみが1名、その場限りの相手のみが2名で、人数の中央値は4(1-8)名であった。1名がセックスの頻度を月に数回と回答した。その他の性感染症(HIV、梅毒以外)の既往は、3名が尖圭コンジローマと回答した。2名が性感染症に関する情報を医療機関や検

査場にあるポスターや冊子で得ていた。

②-D 考察

今回のリスク因子解析の研究では除外する予定である「直近6か月のセックスなし」と回答したのは3/6名であった。次に予定している症例対照研究では、症例35対照70の対象者数を予定しているので実際に質問紙を配布する対照の対象者数は最低140とすることにした。質問紙を修正次のように修正した。1)各頻度の回答に「月に数回」を追加、2)パートナーを見つける場所として、ハッテン場、野外、ヤリ部屋を分かりやすく分類、3)「銭湯」を追加、4)直近6か月間のセックスの相手を、「なし→E、特定のパートナーのみ、特定のパートナーおよびその場限りの相手、その場限りの相手のみ→D」に変更、5)性感染症の既往に「尖圭コンジローマ」を追加、6)性感染症の情報を得た場所に「ポスター(医療機関・検査場)」を追加、7)質問項目において「検査」と「診断」の区別を分かりやすくした。最終的な質問紙を添付する(別添1)。今後、本質問紙を用いて、MSMにおける梅毒罹患リスクを明らかにする症例対照研究を行う予定である。

③海外梅毒関連資料の翻訳

WHOが2014年に公開したHIV感染症と梅毒の母子感染排除の評価確認「GLOBAL GUIDANCE ON CRITERIA AND PROCESSES FOR VALIDATION :Elimination of Mother-to-Child Transmission of HIV and Syphilis」をWHOの許可のもと翻訳した(別添2)。日本では10万出生あたり0.1前後であり、impact targetである50を大きく

下回っていたが、梅毒に関係した死産、早産、低出生体重児の把握が十分ではなく、過小評価であると考えられた。

E. 健康危機情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

高橋琢理、山岸拓也、有馬雄三、他. 感染症発生動向調査による梅毒症例の届出における問題点. 第26回日本性感染症学会. 2014年12月. 神戸

G. 知的所有権の所得状況

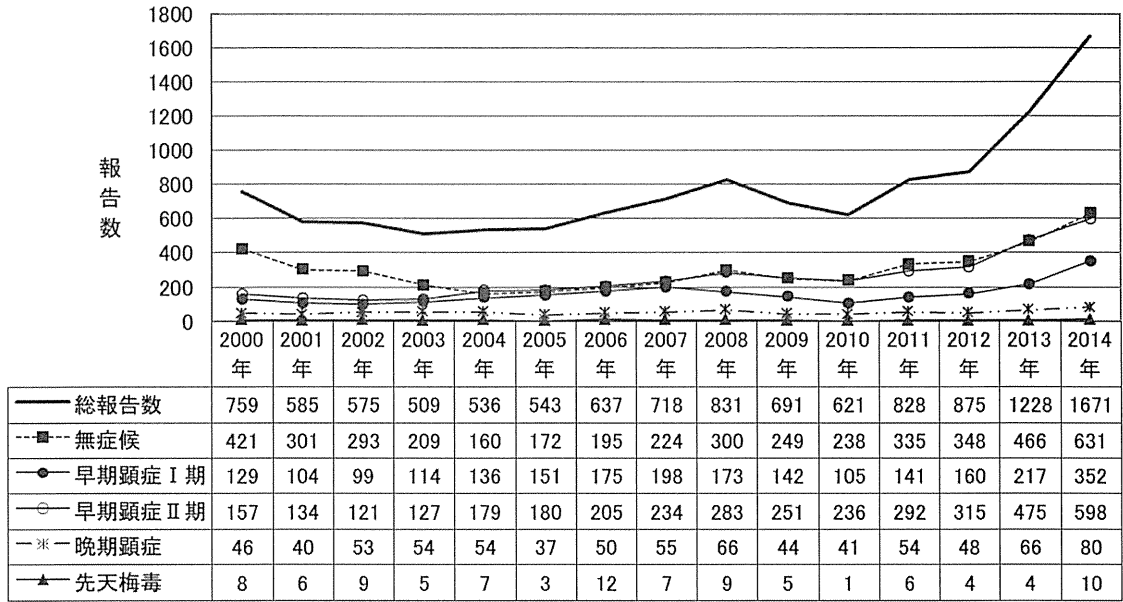
1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

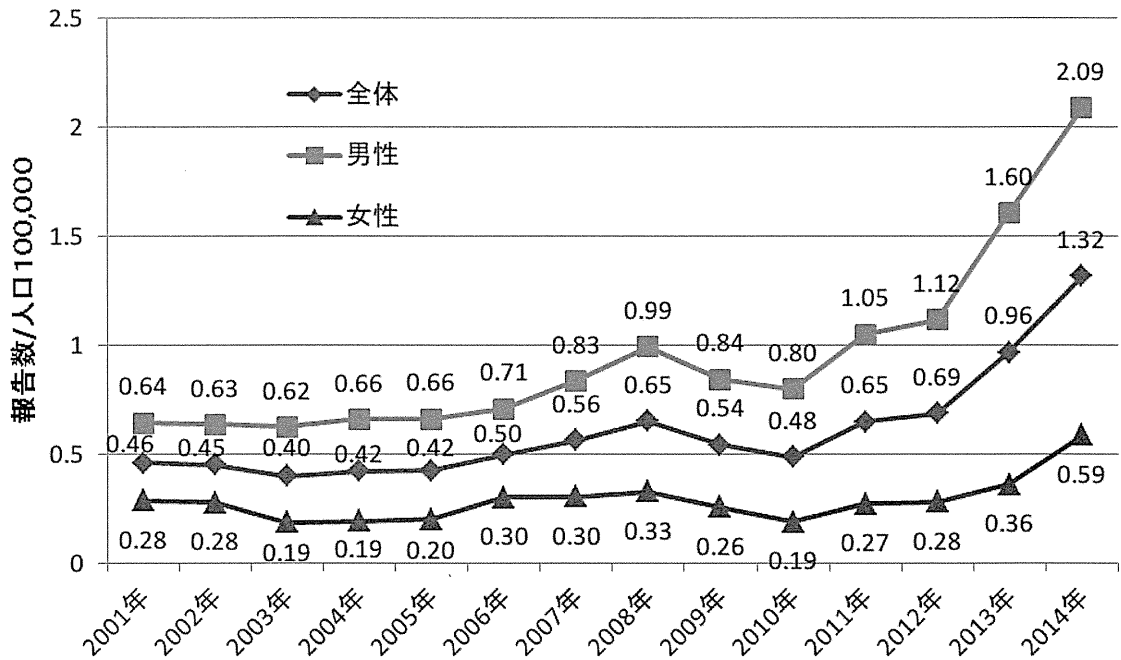
なし

図1. 梅毒 報告数の推移、2000～2014年



2015年1月15日現在

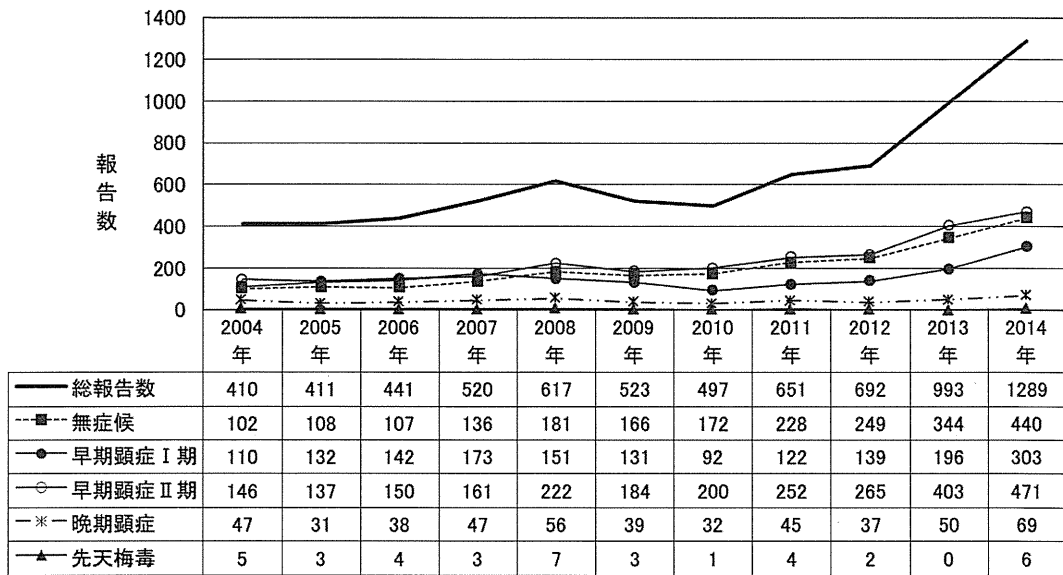
図2 人口10万当たり報告数の推移、2001～2014年



2015年1月15日現在の感染症発生動向調査と人口動態統計（毎年10月1日基準）を使用

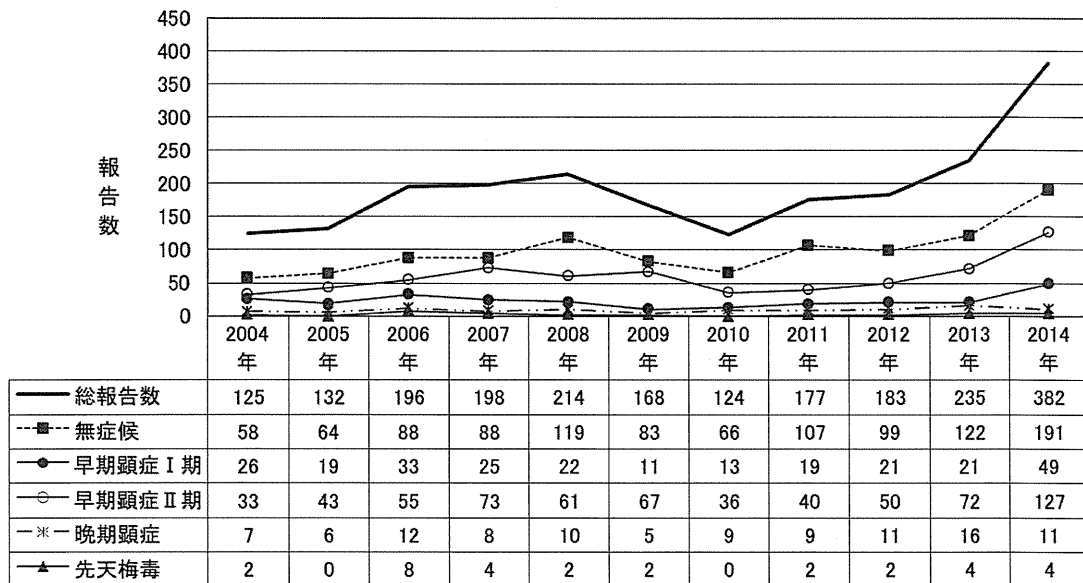
図3 梅毒 男女別報告数の推移、2004～2014年

男性



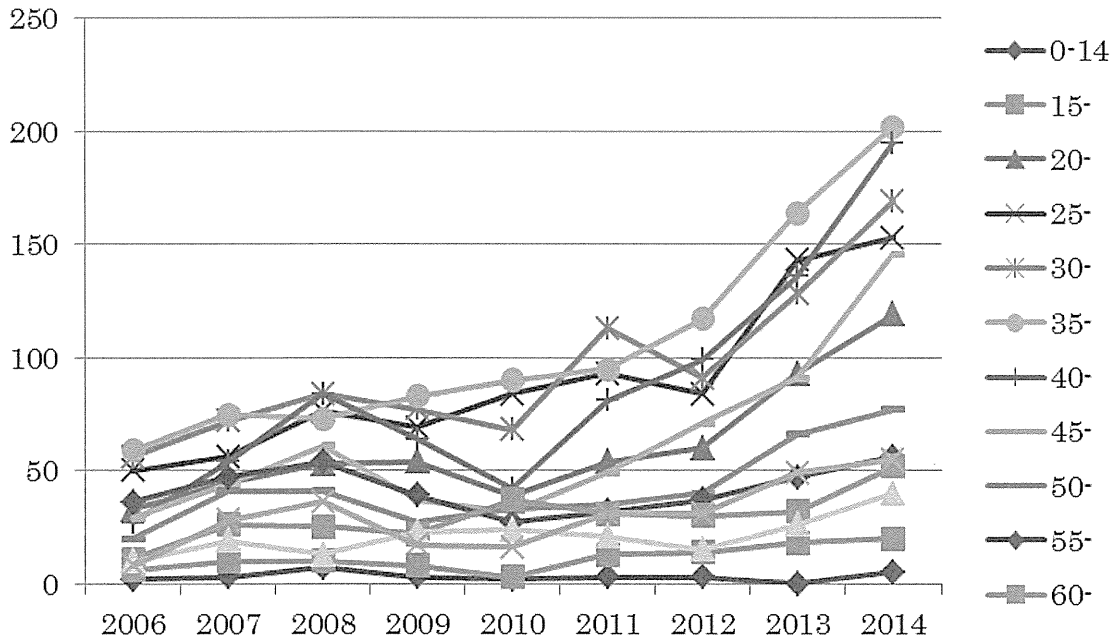
2015年1月15日現在

女性

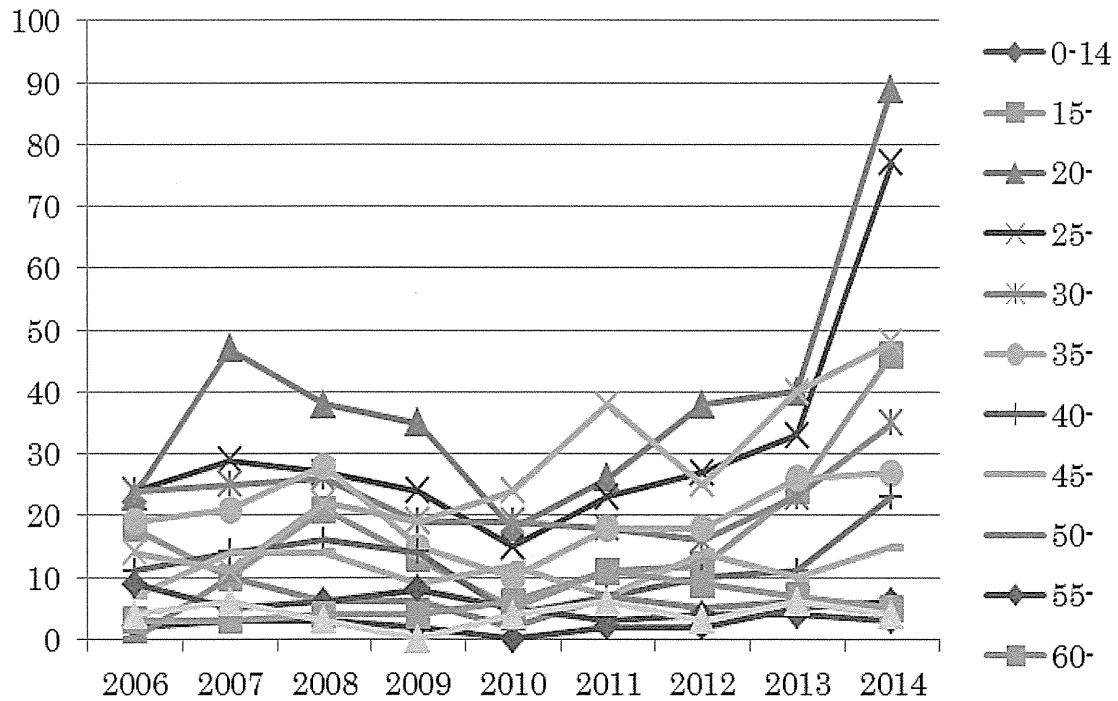


2015年1月15日現在

図4. 梅毒の年齢群別報告数の推移、2006～2014年
男性



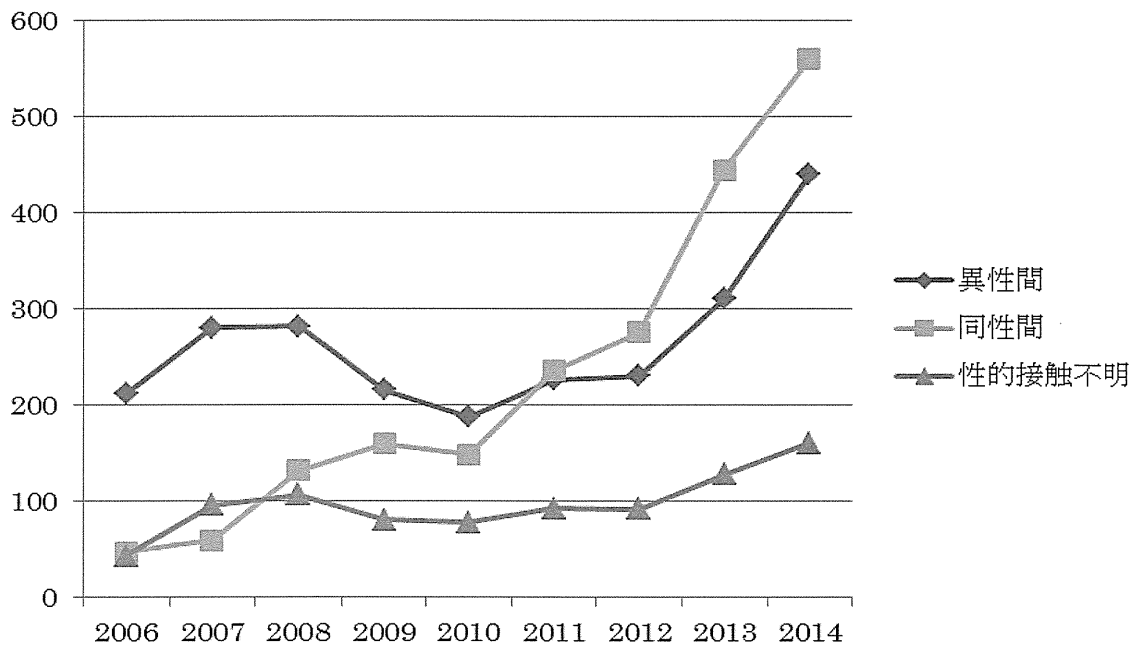
女性



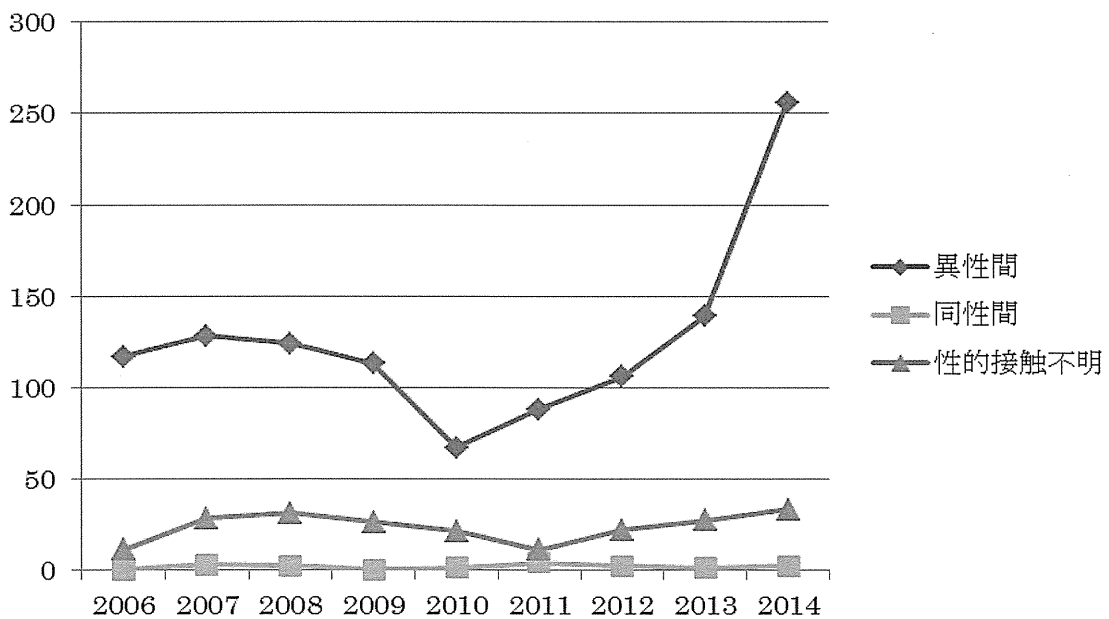
2015年1月15日現在

図5. 梅毒の感染経路別報告数の推移、2006～2014年

男性



女性



2015年1月15日現在

表1. 梅毒の都道府県別・年別報告数、2010～2014年 (n= 5223)

都道府県名	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
北海道	13	14	7	21	25	22	57
青森県	2	0	0	6	8	4	4
岩手県	3	1	0	0	3	2	2
宮城県	8	13	16	16	21	43	23
秋田県	4	4	5	5	6	2	2
山形県	6	3	0	2	2	4	8
福島県	4	6	6	4	2	12	7
茨城県	10	12	19	25	23	24	24
栃木県	7	7	7	11	14	13	35
群馬県	11	9	6	3	10	15	8
埼玉県	32	18	17	19	31	39	52
千葉県	25	24	39	25	30	57	79
東京都	203	197	172	249	297	417	506
神奈川県	30	34	33	42	50	79	106
新潟県	3	3	2	8	8	2	16
富山県	12	2	5	6	8	6	10
石川県	3	3	4	5	4	6	9
福井県	11	4	1	4	2	2	3
山梨県	0	1	1	1	2	4	3
長野県	7	4	6	7	9	10	4
岐阜県	15	10	7	14	3	7	11
静岡県	34	24	22	18	22	20	31
愛知県	70	46	53	44	39	54	112
三重県	10	20	3	6	3	14	17
滋賀県	5	3	9	6	1	3	7
京都府	5	5	8	11	12	11	13
大阪府	82	61	56	77	97	157	242
兵庫県	14	14	10	35	18	36	41
奈良県	1	2	3	6	6	6	15
和歌山県	5	3	4	3	6	8	10
鳥取県	0	4	0	4	3	0	2
島根県	2	1	1	1	2	2	4
岡山県	7	5	9	9	7	8	20
広島県	12	6	10	7	9	12	9
山口県	6	5	2	0	5	7	6
徳島県	1	2	3	1	1	2	3
香川県	9	3	8	2	4	18	12
愛媛県	8	4	2	0	3	1	8
高知県	4	5	3	3	10	8	4
福岡県	72	53	28	49	28	45	54
佐賀県	5	3	0	0	4	1	5
長崎県	5	4	2	7	2	3	18
熊本県	38	21	12	12	13	7	9
大分県	8	6	6	9	1	3	5
宮崎県	8	11	5	8	4	9	12
鹿児島県	6	5	7	25	6	7	7
沖縄県	5	6	2	12	11	16	36
総計	831	691	621	828	875	1228	1671

2015年1月15日現在