

海外研究機関研究員の研修に関する研究

担当責任者 大石和徳（国立感染症研究所感染症疫学センター長）

研究協力者 木村博一（国立感染症研究所感染症疫学センター・室長）

研究要旨: 国立感染症研究所において、急性胃腸炎患者の起因ウイルス検査診断および食品中に含まれるウイルスの検出に関する国際研修プログラムの構築ならびに研修を実施するための先進的な病原体検出系の構築を行った。その結果、水系感染を引き起こす主要ウイルスの国際研修プログラムが完成した。また、次世代シーケンサー(NGS)を導入し、経口感染症の原因となる病原体の網羅解析に関する検出系の一部構築を行った。また、NGS を用いた英語による研修プログラムの作成・構築も一部完成した。

A．研究目的

国立感染症研究所においては、病原体検査診断に関する国際研修および国内研修を行っている。特に、国際研修においては、WHO 西太平洋事務局地域の病原体検査診断に従事する専門官の人材育成を重要視し、公衆衛生学上、対策が必要な疾患に関する病原体検査診断研修を行っている。このなかで、東南アジア地域各国、例えば、インドネシア、タイ、フィリピンおよびベトナムにおいては、水系感染を引き起こすウイルスによる国内で発生した急性胃腸炎患者の検査診断ならびに生鮮食品（魚介類）や乳肉製品の輸出食料品の微生物学的安全確保のための研修のニーズが高い。そこで、本研究においては、急性胃腸炎患者の起因ウイルス検査診断および食品中に含まれるウイルスの検出に関する国際研修プログラムの構築ならびに研修を実施するための先進的な病原体検出系の構築を行った。また、これらの研修を行うため次世代シーケンサーなどの先駆的な病原体遺伝子解析機器も導入した。

B．研究方法

国際研修プログラムの構築

水系感染を引き起こす主要ウイルスを A 型肝炎ウイルス、E 型肝炎ウイルス、ノロウイルスおよびロタウイルスとした。研修プログラムの座学による研修は、当該ウイルスのウイルス学、疫学および各検査診断法を主体とした。また、実験室内研修は、当該ウイルスの検出法として、コンベンショナル (RT-)PCR 法、リアルタイム RT-PCR 法、シーケンス解析法および分子系統樹解析 (近隣結合法) を主体とした英語によるプログラムを作成した。

先進的病原体検出系の構築と次世代シーケンサーを用いた病原体網羅解析研修プログラムの構築

上記ウイルス以外にも経口感染症を引き起こす病原体は多種類存在することは言う

までもない。そこで、次世代シーケンサー (NGS) を導入し、経口感染症の原因となる病原体の網羅解析に関する検出系の構築を行った。また、NGS を用いた英語による研修プログラムの作成・構築も行った。

(倫理面への配慮)

特に該当事項は無い

C．研究結果

国際研修プログラムの構築

研修プログラム期間は、派遣元の諸事情を考慮し、1 週間 (実質 5 日間) の英語による研修プログラムを構築した。具体的には、第 1 日目に、研修内容のオリエンテーションと下痢症ウイルス総論、第 2 日目は、各種ウイルスのウイルス学・疫学検査診断法の概要に関する座学、第 3 日目から 5 日目までは、当該ウイルスの遺伝子検出、病原体遺伝子定量、シーケンス・系統樹解析を実験室内診断研修とした。

先進的病原体検出系の構築と次世代シーケンサーを用いた病原体網羅解析研修プログラムの構築

NGS は、ウイルス細菌を含む病原体のフルゲノムおよびディープシーケンシングを遂行することが可能な機種 (Illumina MiseqII) を導入した。また、NGS を用いた病原体網羅解析の英語によるマニュアルも一部完成した。

D．考察

今回、本研究において、水系感染を引き起こすウイルスによる国内で発生した急性胃腸炎患者の検査診断ならびに生鮮食品 (魚介類) や乳肉製品の輸出食料品の微生物学的安全確保のため、病原体検査診断に従事する国外の専門官のための研修プログラムの構築およびプログラムを遂行するための機器整備を行った。本プログラムにより、WPRO 西太平洋地域に属する国の専門官であれば、

約1週間のプログラムで、水系ウイルスの主な原因であるA型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、ノロウイルスおよびロタウイルスの疫学やウイルス学のみならず、これらの病原体の検査診断法が習得可能になると思われる。

国内外において、食品が原因と思われる食中毒の一定数は、起因病原体が原因不明になっている。その一方で、NGSによる原因究明が進み、クドアなどの新規病原体も同定されるようになってきている。したがって、今後、NGSを応用した水系感染あるいは食品に由来する感染症の病原体検索が進むと思われる。来年度以降、研修プログラムのさらなる充実と導入したNGSやリアルタイムPCRを応用し、国内外の研修充実化を図りたい。

E. 結論

急性胃腸炎患者の起因ウイルス検査診断および食品中に含まれるウイルスの検出に関する国際研修プログラムの構築ならびに研修を実施するための先進的な病原体検出系の構築を行った。その結果、水系感染を引き起こす主要ウイルスの国際研修プログラムが完成した。また、次世代シーケンサー(NGS)を導入し、経口感染症の原因となる病原体の網羅解析に関する検出系の一部構築を行った。また、NGSを用いた英語による研修プログラムの作成・構築も一部完成した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Mizukoshi F, Kuroda M, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Funatogawa K, Morita Y, Noda

M, Katayama K, Kimura H. A food-borne outbreak of gastroenteritis due to genotype G1P[8] rotavirus among adolescents in Japan. *Microbiol Immunol.* 58(9):536-539, 2014.

2. Kuroda M, Niwa S, Sekizuka T, Tsukagoshi H, Yokoyama M, Ryo A, Sato H, Kiyota N, Noda M, Kozawa K, Shirabe K, Kusaka T, Shimojo N, Hasegawa S, Sugai K, Obuchi M, Tashiro M, Qishi K, Ishii H, Kimura H. Molecular evolution of the VP1, VP2, and VP3 genes in human rhinovirus species C. *Sci Rep* 2015 Feb 2;5:8185. doi: 10.1038/srep08185.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
特記事項なし
2. 実用新案登録
特記事項なし
3. その他
特記事項なし