

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策政策研究事業）  
分担研究報告書

2. 本邦で初めて検出した *Treponema pallidum* subsp. *endemicum* (TEN) の探索

研究分担者	小島洋子	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所	主任研究員
研究分担者	森 治代	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所	総括研究員
研究分担者	駒野 淳	大阪薬科大学 感染制御学研究室	教授
研究分担者	本村和嗣	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所	ウイルス課 課長
研究協力者	古林敬一	そねざき古林診療所	所長
研究協力者	篠原 浩	京都大学大学院医学研究科 臨床病態検査学	
研究協力者	阪野文哉	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所	研究員
研究代表者	川畑拓也	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所	主幹研究員

研究要旨

我々は昨年度、検診機会に梅毒検査を実施する根拠として、国内で流行する梅毒が一部の性的リスクを抱える集団だけでなく広く一般住民に流行していることを証明するため、梅毒疑い患者から採取した検体から梅毒トレポネーマを検出し、梅毒トレポネーマの遺伝子型別を実施した。その結果、異性愛者の男女で流行する梅毒トレポネーマの型と同性愛男性の間で流行する型が異なることを日本で初めて報告し (J Clin Microbiol.2019 Vol.57(1),doi:10.1128/JCM.01148-18.) 一般住民に対する梅毒検査勧奨の必要性を明らかにした。その際、梅毒トレポネーマに紛れて、風土病梅毒 (ベジエル) の病原体である *Treponema pallidum* subsp. *endemicum* (TEN) を 2 検体、遺伝子型別により同定した。

そこで、今年度は梅毒疑い患者から同意を得て採取した皮膚潰瘍病変滲出液のスワブ検体あるいは尿検体の例数を増やし、TEN の探索を行った。方法としては、昨年同様検体より DNA を抽出し、*Treponema pallidum* で共通な遺伝子 (TpN47, *polA*) を増幅し、増幅のみられた 34 例の検体 DNA より、tp0548 遺伝子と tp0856 遺伝子を増幅、塩基配列を解読し、この 2 つの遺伝子を繋いだ遺伝子系統樹解析を行い新たに 5 例の TEN の同定を行った。

昨年度、国内で流行する梅毒トレポネーマの遺伝子タイピング研究を実施した際には、TpN47 領域と *polA* 領域の核酸増幅検査が陽性となった 36 例中 2 例が TEN であったため、これらを合計すると、これまで解析した梅毒症例から得た検体 70 例中 7 例 (10.0%) が梅毒トレポネーマ *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (TPA) ではなく TEN であることが明らかとなった。

TEN 感染患者はいずれも MSM であり、海外渡航歴のない者も含まれており、また海外渡航歴がある患者も渡航時期と病期が一致しないため、国内感染が強く示唆されたため、これらの TEN 感染患者 (ベジエル患者) を日本国内における TEN 感染初事例として、海外の専門誌に報告した (Emerg Infect Dis. 2019;25(8):1581-1583. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2508.181690>)。

A. 研究目的

当研究班の研究目的の一つとして、研究成果を自治体に還元し、感染症法に基づく「後天性免疫不全症候群に関する特定感染症予防指針」に定められる「職域検診 HIV・性感染症検査モデル事業」を普及させることがある。対象となる自治体 (いわゆるエイズ対策における重点都道府県、政令市等) の中には、ゲイ・バイセクシュアル男性に対する HIV 対策にこれまで

力を注いできた自治体が少なくない。そうした自治体の中には、健診の機会を利用して HIV 検査・梅毒検査を検診受診者全体に勧めることを、ゲイ・バイセクシュアル男性といった、いわゆる個別施策層を対象としたエイズ対策から、広く一般住民を対象とした施策への転換と捉える自治体が存在した。またそのような自治体の中には、一般住民が受診する健診における HIV・梅毒検査の受検勧奨を自治体が推進して

いくために、梅毒がゲイ・バイセクシュアル男性以外にも広く感染拡大していることを裏付けるエビデンスを要望する自治体も存在した。

そこで我々は、昨年度の本研究において、梅毒の流行状況を調査する目的で、我々が2013年9月より2017年8月まで採取した梅毒トレポネーマの遺伝子型別を行い、ゲイ・バイセクシュアル男性から検出した梅毒トレポネーマの遺伝子型と、異性愛者の男女から検出した梅毒トレポネーマの遺伝子型の傾向が異なることを明らかにし、同性間で感染が拡大した梅毒トレポネーマが異性愛者の男女へ感染が拡大した訳では無いことを示唆している結果を得て、国内で初めて報告した(J Clin Microbiol.2019 Vol.57(1),doi:10.1128/JCM.01148-18. )。

この調査研究の過程で、我々は梅毒トレポネーマ *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (TPA)とは異なる遺伝子型の *Treponema pallidum* を検出し、解析の結果、このうちの2件が風土病梅毒(ベジエル)の病原体である *Treponema pallidum* subsp. *endemicum* (TEN)であることを見いだした。今年度は、梅毒疑い患者から同意を得て採取した皮膚潰瘍病変滲出液のスワブ検体あるいは尿検体の例数を増やし、TENの探索を行った。

## B.研究方法

梅毒疑い患者から同意を得て採取した皮膚潰瘍病変滲出液のスワブ検体あるいは尿検体よりDNAを抽出し、*Treponema pallidum*で共通な遺伝子(TpN47, *polA*)を増幅し、増幅のみられた検体DNAより、tp0548遺伝子とtp0856遺伝子を増幅、塩基配列を解読し、この2つの遺伝子を繋いだ遺伝子系統樹解析を行うことでTENの同定を行った。

(倫理面の配慮)

本研究は地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所倫理審査委員会の承認を得て実施した。(申請番号:0810-05-4、1802-077)

## C.研究結果

昨年同様スワブ検体あるいは尿検体よりDNAを抽出し、*Treponema pallidum*で共通な遺伝子(TpN47, *polA*)を増幅し、増幅のみられた34例の検体DNAより、tp0548遺伝子とtp0856遺伝子を増幅、塩基配列を解読し、この2つの遺伝子を繋いだ遺伝子系統樹解析を行い、新たに5例のTENの同定を行った。

昨年度、国内で流行する梅毒トレポネーマの遺伝子タイピング研究を実施した際には、TpN47領域と*polA*領域の核酸増幅検査が陽性となった36例中2例がTENであったため、

これらを合計すると、これまで解析した梅毒症例から得た検体70例中7例(10.0%)がTPAの感染事例ではなくTENの感染事例であることが明らかとなった。このうち一部を日本国内におけるTEN感染の初事例として、海外の専門誌に報告した(Emerg Infect Dis. 2019;25(8):1581-1583.<https://dx.doi.org/10.3201/eid2508.181690>)。

TEN感染患者はいずれもMSMであり、海外渡航歴のない者も含まれており、また海外渡航歴がある患者も渡航時期と病期が一致しないため、国内においてTENに感染した可能性が強く示唆された。

## D.考察

国内で流行する梅毒トレポネーマの遺伝子タイピングを行う過程で風土病性トレポネーマ症であるベジエルの病原体 *Treponema pallidum* subsp. *endemicum* (TEN)を国内で初めて発見した。TENは、形態学的・血清学的にTPA、TPE、*T. carateum*と区別できず、また感染初期の臨床症状が梅毒と似ていると報告されている。つまり、通常の抗体検査では梅毒とベジエルの鑑別はできず、国内で流行している梅毒感染に紛れて、TENが感染拡大している可能性がある。さらに、これらの病原体は少なくとも99%のゲノムDNA配列の相同性を有しており、TpN47領域、*polA*領域は、TPAと他の風土病性トレポネーマ症の病原体の遺伝子と遺伝学的に差が小さいため、風土病性トレポネーマ症を鑑別するには、TPAの遺伝子と相同性の低い領域を標的とした核酸検査が必要である。また、現状ではこのような核酸検査は保健診療外である。治療に関しては幸いなことに、ベジエルは梅毒と同じ抗菌薬治療が奏功する。海外ではペニシリンまたはアジスロマイシンの単回投与が推奨されている。日本ではペニシリンの単回注射製剤が未承認のため使用できないので、梅毒の治療法と同じペニシリン製剤の経口投与が適応される。また今回、23S rRNA遺伝子領域の解析が不可能であった1事例を除くすべてのTEN株にマクロライド系抗菌薬の耐性変異と考えられている23S rRNA遺伝子のA2058G変異が検出されたため、ペニシリンに対するアレルギーを持つ梅毒患者への第二選択薬とされるアジスロマイシンは推奨できない。

## E.結論

日本国内で初めてベジエルの病原体であるTENの感染事例が梅毒症例に紛れて存在することを発見し報告した。このことは学術的・国

際的に大きな成果といえる。今回我々がTENを初めて発見できたのは、梅毒トレポネーマの分子疫学研究を精力的に実施した成果と考える。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 川畑拓也、阪野文哉、小島洋子、森 治代、本村和嗣、駒野 淳、篠原 浩、古林敬一、臨床的に梅毒と診断した日本人患者から分子疫学解析によって本邦で初めて検出された bejel の病原体 *Treponema pallidum* ssp. *Endemicum*. 病原微生物検出情報(IASR)、41(1)、4-5、2020.1.28
2. Satoshi Hiroi, Takuya Kawahata, Keiichi Furubayashi. First isolation of human adenovirus type 85 by molecular analysis of adenoviruses in cases of urethritis. J Med Microbiol. 2020 Jan 23. doi: 10.1099/jmm.0.001149. [Epub ahead of print]
3. 貞升健志、長島真美、吉村和久、川畑拓也、佐野貴子、近藤真規子、松岡佐織、草川 茂、立川 愛、病原体検出マニュアル「後天性免疫不全症候群」改訂の経緯、病原微生物検出情報(IASR)、40(10)、166-167、2019
4. Saori Matsuoka, Kazuhiko Kano, Mami Nagashima, Kenji Sadamasu, Haruyo Mori, Takuya Kawahata, Shuichi Zaitu, Asako Nakamura, Mark S. de Souza and Tetsuro Matano. Estimating HIV-1 incidence in Japan from the proportion of recent infections. Preventive Medicine Reports. 2019 Oct 21;16:100994. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pmedr.2019.100994>
5. Takuya Kawahata, Yoko Kojima, Keiichi Furubayashi, Koh Shinohara, Tsunehiro Shimizu, Jun Komano, Haruyo Mori, Kazushi Motomura. Bejel, a Nonvenereal Treponematoses, among Men who have Sex with Men, Japan. Emerging Infectious Diseases 2019 Aug;25(8):1581-1583. doi: 10.3201/eid2508.181690.
6. Lee, Ken-ichi; Nakayama, Shu-ichi; Osawa, Kayo; Yoshida, Hiroyuki; Arakawa, Soichi; Furubayashi, Kei-ichi; Kameoka, Hiroshi; Shimuta, Ken; Kawahata, Takuya; Unemo, Magnus; Ohnishi, Makoto. Clonal expansion and spread of the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain FC428 identified in Japan in 2015 and closely related isolates. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2019 Jul 1;74(7):1812-1819. doi: 10.1093/jac/dkz129.
7. Terada S, Harada T, Yokota M, Tsuchiya T, Adachi K, Asaka T, Miura M, Kawahara R, Kawatsu K, Komano J. First isolation and characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* harboring vanD5 gene cluster recovered from a 79-year-old female inpatient in Japan. Diagn Microbiol Infect Dis. 2019 Dec;95(4):114883. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.114883. Epub 2019 Aug 10.
8. Kurata T, Uchino K, Hotta C, Ogura A, Miyoshi T, Ogawa T, Kanbayashi D, Tanaka T, Yumisashi T, Komano J. Clinical value of enzyme immunoassay that detects rubella-specific immunoglobulin M immediately after disease onset. Microbiol Immunol. 2019 Jan;63(1):32-35. doi: 10.1111/1348-0421.12664.
9. 下坂馨歩, 浅香敏之, 今村淳治, 横幕能行, 片山雅夫, 川崎朋範, 下坂寿希, 亀井克彦, 矢田啓二, 駒野 淳. ベトナム人 HIV 陽性者から分離された *Talaromyces marneffi* によるマルネツフェイ型ペニシリウム症の1例. *Med Mycol J*. 60(1), 15-20, 2019
10. Kurata T., Kanbayashi D., Egawa M., Motomura K., : A measles outbreak from an index case with immunologically confirmed secondary vaccine failure. *Vaccine* 38:1467-1475 2020
11. Tacharoenmuang R., Komoto S., Guntapong R., Upachai S., Singchai P., Ide T., Fukuda S., Ruchusatsawast K., Sriwantana B., Tatsumi M., Motomura K., Takeda N., Murata T., Sangkitporn S., Taniguchi K., Yoshikawa T. : High prevalence of equine-like G3P[8] rotavirus in children and adults with acute gastroenteritis in Thailand. *Journal of Medical Virology* 92:174-186 2020
12. Ueda S., Witaningrum AM., Khairunisa SQ., Kotaki T., Motomura K., Nasronudin., Kameoka M. : Transmission dynamics of HIV-1 subtype B strains in Indonesia. *Science Report* 2019 Sep 27;9(1):13986.

13. 中田恵子, 生田和良, 小林和夫, 奥野良信, 本村和嗣 : 大阪府における急性弛緩性麻痺患者の検査状況と EV-D68 が検出された患者の症例報告、病原微生物検出情報月報 40: 15-16 2019
  14. 左近直美, 本村和嗣, 井石倫弘, 塩見正司, 元岡大裕, 中村昇太 : 新生児集中治療室におけるロタウイルス集団発生、病原微生物検出情報月報 40: 109 2019
  15. 河原寿賀子, 平山隆則, 田邊雅章, 倉田貴子, 上林大起, 本村和嗣 : 2019 年 1 月に発生した大阪府内における麻疹集団感染事例の概要と対応、病原微生物検出情報月報 40: 124-126 2019
  16. 左近直美, 白井達哉, 本村和嗣, 西尾孝之, 田邊雅章, 吉田英樹, 山本憲 : 大阪府におけるロタウイルス検出状況、病原微生物検出情報月報 40: 208-209 2019
2. 学会発表
1. 川畑拓也, 阪野文哉, 小島洋子, 森 治代, 本村和嗣, 上原大知, 伊禮之直, 真栄田哲, 崎原永辰, 仲宗根正, 仁平 稔, 久高 潤, 渡邊 大, 大森亮介, 駒野 淳, 健診機会を利用した HIV・梅毒検査提供に向けた検討、第 33 回日本エイズ学会学術集会、熊本、2019
  2. 川畑拓也, 新しい HIV 確認検査試薬「Geenius HIV-1/2」の特徴について、第 33 回日本エイズ学会学術集会、熊本、2019
  3. 川畑拓也, 砂山智子, 山田香保理, 森川哲也, 阪野文哉, 森 治代, ダイナスクリーン・HIV Combo 抗原偽陽性事例の検討、第 33 回日本エイズ学会学術集会、熊本、2019
  4. 森 治代, 小島洋子, 阪野文哉, 川畑拓也, 森田 諒, 小西啓司, 麻岡大裕, 白野倫徳, 古西 満, 抗レトロウイルス療法下における HIV-1 プロウイルスの動態、第 33 回日本エイズ学会学術集会、熊本、2019
  5. 土屋菜歩, 佐野貴子, 近藤真規子, カエベタ亜矢, 関なおみ, 城所敏英, 根岸 潤, 堅多敦子, 川畑拓也, 貞升健志, 須藤弘二, 加藤真吾, 大木幸子, 生島 嗣, 今井光信, 今村顕史, 保健所・検査所における HIV 検査・相談体制と実施状況および課題に関するアンケート調査、第 33 回日本エイズ学会学術集会、熊本、2019
  6. 土屋菜歩, 佐野貴子, 近藤真規子, カエベタ亜矢, 関なおみ, 城所敏英, 根岸 潤, 堅多敦子, 川畑拓也, 貞升健志, 須藤弘二, 加藤真吾, 大木幸子, 生島 嗣, 今井光信, 今村顕史, 保健所・検査所における梅毒検査実施状況および陽性率に関するアンケート調査、第 33 回日本エイズ学会学術集会、熊本、2019
  7. 出野結己, 山本啓裕, 岡崎伸次, 松本美枝, 藤川利彦, 川畑拓也, 古林敬一, *Treponema pallidum* 亜種感染例での TP 抗体、脂質抗体の測定結果について、第 32 回日本性感染症学会学術大会、京都、2019
  8. 川畑拓也, 梅毒核酸検査(梅毒トレポネーマ PCR 法)の実際、第 32 回日本性感染症学会学術大会、京都、2019
  9. 川畑拓也, リアルタイム PCR 法を用いた梅毒核酸迅速検査、第 32 回日本性感染症学会学術大会、京都、2019
  10. 古林敬一, 小島洋子, 川畑拓也, 梅毒の届出基準に関する検討、第 32 回日本性感染症学会学術大会、京都、2019
  11. 川畑拓也, 阪野文哉, 岩佐 厚, 亀岡 博, 菅野展史, 清田敦彦, 近藤雅彦, 杉本賢治, 高田昌彦, 田端運久, 中村幸生, 古林敬一, 塩野徳史, 田邊雅章, MSM 向け HIV・性感染症検査キャンペーン・2018 年度実績報告、第 32 回日本性感染症学会学術大会、京都、2019
  12. 川畑拓也, 阪野文哉, 岡 伸俊, 今西 治, 吉田光宏, 福原 恒, 朝来駿一, 塩野徳史, 澤田暁宏, 西岡弘晶, 荒川創一, 阪神地区在住 MSM 向け HIV・性感染症検査キャンペーン・2019 年度速報、第 32 回日本性感染症学会学術大会、京都、2019
  13. 貞升健志, 長島真美, 千葉隆司, 川畑拓也, 地方衛生研究所における HIV 検査に関する精度管理調査から得られたこと、第 78 回日本公衆衛生学会総会、高知、2019
  14. 渡邊 大, 川畑拓也, 森 治代, 小島洋子, 駒野 淳, 塩田達雄, 中山英美, 村上 努, 榎田智仁, 廣田和之, 上地隆史, 西田恭治, 上平朝子, 白阪琢磨, プロテアーゼ領域と逆転写酵素領域の配列を用いた新型変異 HIV 感染のスクリーニング法に関する検討、第 33 回近畿エイズ研究会学術集会、大阪、2019
  15. 森 治代, 小島洋子, 阪野文哉, 川畑拓也, HIV 確認検査陽性検体における HIV の分子疫学的解析、第 33 回近畿エイズ

研究会学術集会、大阪、2019

16. 蜂谷敦子、佐藤かおり、豊嶋崇徳、伊藤俊広、林田庸総、岡 慎一、瀧永博之、古賀道子、長島真美、貞升健志、近藤真規子、椎野禎一郎、須藤弘二、加藤真吾、堀場昌英、太田康男、茂呂 寛、渡邊珠代、松田昌和、重見 麗、岡崎玲子、岩谷靖雅、横幕能行、渡邊 大、小島洋子、森 治代、菊地 正、他 15 名、国内新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV-1 の動向、第 33 回日本エイズ学会学術集会、熊本、2019
17. 土屋孝弘、谷口菜優、中村光希、蓮井良美、丸山奈緒子、宮本勝城、良原栄策、駒野 淳、多剤耐性アシネトバクターに対する新規抗菌物質の開発。第 31 回微生物シンポジウム。2019 年。京都。
18. 倉田 貴子、上林 大起、駒野 淳、本村 和嗣。成人麻疹患者における補助的診断マーカーの探索。第 67 回日本ウイルス学会学術集会。東京。2019 年。
19. Naomi Sakon, Rika Takada, Tomoko Takahashi, You Uyeki, Kazushi Motomura, Jun Komano. Analysis of Longitudinal Surveillance Data of Norovirus Infection in Three Remote Locations in Japan. 7th International Calicivirus Conference. 2019. Australia.
20. 本村和嗣、大阪府における感染症発生動向について－2019 -、2019 年度大阪府茨木保健所管内感染ネットワーク会議、大阪、2019
21. 本村和嗣、大阪府における麻疹・風疹の発生動向について－2019 -、大阪府池田保健所管内感染ネットワーク会議、大阪、2019
22. 本村和嗣、大阪府における感染症発生動向について－2018 -、大阪小児医会、大阪、2019
23. 本村和嗣、大阪府における麻疹の集団発生動向について、大阪府池田保健所管内感染ネットワーク会議、大阪、2019

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし。

