

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業

梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と

効果的な介入手法に関する研究

(H 2 8 - 新興行政 - 一般 - 0 0 8)

平成 28 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大西 真

平成 29 年 (2017 年) 3 月

厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と効果的な介入手法に関する研究班
平成 28 年度 総括・研究分担報告書

目次

| | |
|------------------------------------|----------|
| ．平成 28 年度総括研究報告書 | |
| 梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と効果的な介入手法に関する研究 | |
| 研究代表者 大西 真 国立感染症研究所 | ．．．．． 2 |
| ．平成 28 年度分担研究報告書 | |
| 1．発生動向調査の精査・梅毒感染リスクの分析 | |
| 研究分担者 有馬 雄三 国立感染症研究所 | ．．．．． 11 |
| 2．妊婦健診における梅毒スクリーニングのデータ収集・分析 | |
| 研究分担者 川名 敬 日本大学医学部 産婦人科 | ．．．．． 22 |
| 3．口腔梅毒病変の核酸検査の検討に関する研究 | |
| 研究分担者 中山 周一 国立感染症研究所 | ．．．．． 26 |
| ．研究成果の刊行に関する一覧表 | ．．．．． 30 |

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
平成 28 年度 統括研究報告書

梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と効果的な介入手法に関する研究

研究代表者 大西 真 （国立感染症研究所 細菌第一部 部長）

研究要旨

我が国において、梅毒は 2010 年以降増加しており、感染リスクと報告数の増加の原因分析を踏まえ対策を講じることが急務となっている。

現状の発生動向調査から得られる情報の精査、症例対照研究の実施、産婦人科医療機関への全国調査の利用、梅毒トレポネーマ核酸検出法の利用拡大の方策、妊婦スクリーニングを用いた一般成人女性における梅毒感染の増加の実態の把握を試みた。

東京都における梅毒の現状把握においては、男女共に、異性間性的接触による感染の届出が増えていることを認めた。早期顕症梅毒がその大半を占め、2014 年以降、地域的な分散傾向が見られた。診療所からの報告数が病院からの報告数を大きく上回り、早期顕症梅毒（I 期）が前者に多かった。「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究」の症例対照研究においては、協力医療機関の確保を行い、アンケートとプロトコルを作成し、国立感染症研究所の倫理審査（2017 年 2 月 20 日）を通して、承認を 2017 年 3 月 10 日に得た。4 月 1 日から予備調査を開始する。

唾液検体から梅毒トレポネーマ核酸を検出するための標準プロトコルを作成した。また、検体由来梅毒トレポネーマの分子型別と 23S rRNA のマクロライド耐性型変異の検出を時系列に行い、2016 年以降国内でも耐性型梅毒トレポネーマが急激の増加していること、それが最頻分子型 14d/f での増加によるものであることを明らかにした。

2011～2015 年の 5 年間で梅毒合併妊婦が約 2 倍に増加している（非妊娠女性でも約 2 倍に増加）。その 60%が 10-20 歳代であった。予後が確認された梅毒合併妊婦 152 例中 21 例（14%）で先天梅毒（母子感染が成立）が発生していた。梅毒合併妊婦の 25%が未受診妊婦もしくは不定期妊婦であった。

今後、症例対照研究を実施し、国内の梅毒感染の原因となっている因子を推定することが重要である。また、その結果に基づいた介入方法を提言するとともに、発生動向調査の改善点を提言する。予定である。唾液検体などを用いた梅毒トレポネーマ核酸診断系を利用し、国内で伝播している梅毒トレポネーマの特性明らかにすることも必要である。産婦人科医療機関への全国調査として、妊婦における梅毒の発生頻度、周産期管理、先天梅毒の発生頻度をアンケート調査の解析結果を基に施策を検討していく。

A. 研究目的

我が国において、梅毒は 2010 年以降増加しており、感染リスクと報告数の増加の原因分析を踏まえ対策を講じることが急務となっている。2012 年以降は男性に加えて女性の増加も認められ異性間性的接触による感染伝播が推測されている。女性の増加は 20 代が大半を占め、先天梅毒の増加も懸念される。

医療機関からの詳細情報を収集精査し、リスク要因、増加原因を分析し、また治療実態を把握することで、梅毒感染のリスク要因・増加要因を推測することが重要である。特に異性間性的接触による梅毒の感染拡大を防ぐ効果的介入法につい

て提言することが重要となっている。

B. 研究方法

本研究では、3 つの分担研究を設定して実施した。

1 疫学研究： 東京都に焦点を当て感染症研究所と東京都と東京都内の医療機関の協力・連携体制を構築した。具体的には、感染症研究所感染症疫学センター（高橋琢理、錦信吾）、東京都健康安全研究センターの企画調整部 健康危機管理情報課 疫学情報担当課長（村上邦仁子、小林信之）と微生物部 病原細菌研究科長（新開敬行）、東京都福祉保健局 健康安全部感染症対策課

感染症対策課長（杉下由行、カエベタ亜矢）と定期的な報告会を開催しながらすすめた。

1) 東京都（以下、都）にフォーカスを当てた梅毒の現状把握と精査

2007～2016年の10年間の都の梅毒届出症例に関し、特に2016年の傾向に焦点を当てて検討を行った。感染症発生動向調査システム（National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases：NESID）に登録された症例より、管轄保健所の受理日を基準に、2007～2015年に都に届けられた梅毒症例を2016年10月11日に抽出、さらに2016年の同症例を2017年1月13日に抽出し、各年の疫学的分析を行った。人口当たりの届出率の算出においては、人口動態統計による各年1月1日現在の人口を用いた。

更に、2015年～2016年に報告された直近の梅毒届出数を、全国と東京都それぞれ、男女毎に、診断週による流行曲線を描いた。異性間性的接触の推移に注目している為、男性は、異性間性的接触による感染として報告された症例に限定した（女性は従来から大半が異性間性的接触による為、限定せず）。また、報告数の週毎の変動が激しいため、12週間移動平均を用いてスムーズ化した線を加えた。

2) 症例対照研究のデザイン

近年の梅毒感染のリスク因子を調査した文献レビューを行い、Conceptualモデルを作成し、重要と想定される梅毒感染の危険因子・防御因子を選択した。これらを参考に、研究デザインは、無記名での自己記入式質問紙（以下、アンケート）調査と検査結果を合わせた前方視的な症例対照研究とした。初めに、梅毒届出数が上位20の東京都内医療施設をリストアップし、施設毎に、受診者の特徴を記述した（例：主に男性と性交する男性（MSM）対象、主に性風俗従事者（CSW）対象、主により一般の人口対象者）。本研究は、異性間性的接触を対象としていることから、MSM以外が主な対象の14施設を対象医療機関候補として選択した。それらを、東京都健康安全研究センター、東京都福祉保健局と共に検討し、協力体制が得られうる施設（n=7）を選択した。当7施設に参加依頼の打診を行い、面談を行った。

また、必要なサンプル数の算出を行った。先行研究に倣い、統計的に十分なサンプル数を確保し、かつ、効率良く症例対照研究を行うために、症例1:対照3と設定した（Zhou H et al. Sex Transm Infect 2007）。対照の3～4割がリスク因子に曝露していると想定した場合、症例36、対照108で、オッズ比3以上が、アルファ5%、検出力80%で探知出来る。性別毎に層化した解析を行う為、男女それぞれ少なくとも症例36、対照108を目標

数として確保することとする。また、想定される対象者の性別（受診者の性別分布が、施設によって異なる為）や対象者数は、最終的に参加される施設によって異なる為、予備調査（以下、パイロット）をふまえ、参加医療機関の最終選定後に、本調査における対象者の選択（男性及び女性、女性のみ、ないし男性のみ）、性別毎のマッチングの有無を決定する。

3) アンケート作成

「男性と性交する男性（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」、「先天梅毒について、児の臨床像・治療実態および児の親の梅毒感染・治療に関連する背景を明らかにする研究」、海外における先行研究等を参考にした。東京都の自治体、参加依頼を求めた医療施設の医療従事者らと連携しながらアンケートを作成した。

研究対象者は、先行研究（Zhou H et al. Sex Transm Infect 2007、Champenois K et al. Sex Transm Infect 2013、Ishikane et al. WPSAR. 2016等）を参考に、過去6ヶ月以内にセックス歴（オーラル、膣、アナルを使用したセックス）があったものに限定する。症例（陽性例）の定義は、感染症法に基づく届出基準の定義に合致した（<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-05-11.html>）早期顕症期、無症候病原体保有者とする。対照（陰性例）は症例と同一の医療機関より選択し、その定義は、検査結果と臨床所見・経過等により明らかに活動性のない梅毒と判断される者、ないし生物学的偽陽性と判断される者とする（但し、調査日から過去6カ月以内に梅毒の治療歴のある者を除く）。

本研究は、平成29年3月10日（倫理審査承認日）から、平成30年3月31日までとする。

2) 梅毒トレポネーマ核酸診断系の利用

従前より共同研究を行なっている医療機関に、口腔病変がある場合には、唾液サンプルも同時採取を依頼し、それらを材料とした。

基本的に梅毒トレポネーマDNA検出PCRは(1,2)の方法に、梅毒トレポネーマ多型遺伝子のPCR産物を用いた分子型別は(3)の方法に、23S rRNAのマクロライド耐性変異解析は(4)の方法にそれぞれ従った。

なお、後述するように今次期間内においては入手できた唾液サンプルがセットとなった口腔病変検体が1検体のみであり病変そのもの、唾液とも梅毒トレポネーマDNA陰性であったため、実際の検討には至らなかった。

そこで、他の検体種を用いてのDNA抽出法の最適化を試行した。詳細は研究結果の項に記述する。

3) 産婦人科医療機関への全国調査

日本産科婦人科学会の女性ヘルスケア委員会内にある、本邦における産婦人科感染症実態調査小委員会(小委員長:深澤一雄、委員:岩破一博、川名 敬、大槻克文、野口靖之)によって企画、立案され、日本産科婦人科学会によって実施された「性感染症による母子感染と周産期異常に関する実態調査」である。

目的としては、性感染症のなかで、性器クラミジア感染症、淋菌感染症、尖圭コンジローマ、性器ヘルペス、梅毒に関して、母子感染と周産期異常に着目し、新生児管理も含めた実態調査を行うことを目的とした。これらの感染症に対する診断方法について調査し、母子感染については感染病理やハイリスク因子を明らかにし、その予防や治療法の確立を目指して、新生児管理も含めてアンケート調査を行った。

日本産科婦人科学会の研修施設(研修基幹施設)628施設を対象として、「性感染症による母子感染と周産期異常に関する実態調査」と題するアンケート調査を送付依頼した。2015年1~12月の1年間のデータを回収集積し各感染症の診断法、治療法等を解析した。アンケート調査および回答はweb上で行った。

梅毒については年次推移を把握するために、2011~2015年の発生数を、非妊婦(婦人科)、妊婦(産科)別に調べた。また、産科においては、母体年齢、梅毒の診断時期、治療開始時期、治療の有無、先天梅毒の発生数、先天梅毒児の予後について調査を行った。妊婦における梅毒の発生頻度、周産期管理、先天梅毒の発生頻度をアンケート調査した。

(倫理面への配慮)

1-1

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ず、倫理面での問題が生じることは無い。

1-2

本研究は国立感染症研究所の倫理委員会の承認を得た。検査結果を用いる調査研究に関しては参加者に十分に説明し書面による了承をえる。また連結不可能匿名化を施し、集計結果から個人が特定出来ない形で調査を進める。また、検査および結果の公表についても書面による了承をえる。アンケート調査においても、質問には性に関する個人的情報を含むため、本人には十分研究の意義と重要な情報の扱いを説明し、研究に参加しなかった場合にもデメリットは発生しない旨伝える。研究は国立感染症研究所の倫理委員会の承認を平成29年3月10日に得ているが、事前調査の結果に基づき、アンケートを改善した後、国立感染症

研究所の倫理委員会を再度通して、症例対照研究を行う。

2

入手した検体は全て連結不可能匿名化済みでヒト由来材料を用いた研究に関する倫理審査対象とはならない。ただし、検体採取に際して現在は実施頻度が低下しているのが現状である病変部擦過を行う場合があり、これがQOL低下に繋がる可能性を鑑み、担当医師が研究の内容を説明、病変検体提供の患者同意書が得られた場合のみ採取をお願いすることは最低のルールとして維持している。

3

日本産科婦人科学会の研究倫理委員会の承認のもとで、本実態調査は施行された。アンケートは研修基幹施設の産婦人科責任者に対して行われ、個人情報扱っていない。

C. 研究結果

1 疫学研究:

東京都における梅毒の現状把握においては、男女共に、異性間性的接触による感染の届出が増えていることを認めた。早期顕症梅毒がその大半を占め、2014年以降、地域的な分散傾向が見られた。診療所からの報告数が病院からの報告数を大きく上回り、早期顕症梅毒(I期)が前者に多かった。「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究」の症例対照研究においては、協力医療機関の確保を行い、アンケートとプロトコルを作成し、国立感染症研究所の倫理審査(2017年2月20日)を通して、承認を2017年3月10日に得た。4月1日から予備調査を開始する。詳細は分担研究報告に記述した。

2 梅毒トレポネーマの分子型別:

梅毒トレポネーマ DNA 検出 PCR、陽性検体での分子型別、23S rRNA 解析を実施した。2017年3月10日現在、2012年以来71例で分子型別情報が得られた。世界的に最頻型の14d/fが日本でも優勢で46例を占める。11o/cと14d/cが各4例でそれに次ぐ。これまで国際誌に1例しか報告の無かった11o/cが4例あることは日本の流行型サーキュレーションを特徴づけるものとなる可能性があり、今後とも注視する必要がある。詳細は分担研究報告に記述した。

マクロライド耐性に関与する変異型 23S rRNA 遺伝子を保有する梅毒トレポネーマが、解析可能であった39例中、10例(25.6%)を占めていた。2012年~2015年は27例中3例(11.1%)が耐性型であったが、これに対して2016年~2017年3月は12例中7例(58.3%)と急激に上昇していることが判明した。

唾液検体を用いての梅毒トレポネーマ DNA 検出

方開発の検討に関して、通常のプロトコルを変更し、DNA抽出プロトコルを固めることができた。

梅毒PCR検査のための検体採取マニュアルを作成した(別添1)。

3 産婦人科医療機関への全国調査

産婦人科医療機関に対する調査を実施し、研修施設628施設中、257施設(回収率41%)より回答を得た。これらの施設からの2015年の分娩総数は144,427件(施設別0~3403件/年、年間400件台が38施設で最多)となった。

- (1) 妊婦スクリーニングの有用性
- (2) 梅毒合併妊婦の背景
- (3) 梅毒合併妊婦の治療
- (4) 先天梅毒とその予後

の4つの項目において調査結果がまとめられた。詳細は分担研究報告に記述されているが、梅毒合併妊婦数の年次推移から2011~2014年は年間25~31例であったものが、2015年に53例認められ、増加傾向が梅毒合併妊婦数でも明らかとなった。梅毒陽性者のうち、顕性感染者は10%のみで90%は妊婦スクリーニングで検出されており、スクリーニングの有用性が確認された。また、梅毒感染妊婦の4人に1人が同時に社会的ハイリスク妊婦である点は特記すべきである。本調査からは、母体への治療開始が妊娠21週以降となったのが18%、無治療が9%であった。胎盤が完成する妊娠20週までに治療されていない妊婦が27%となり、胎盤への感染が成立した可能性が否定できない。加えて257施設の中では、先天梅毒と診断された児は2011~2015年の5年間で21例であった。児の経過をフォローされた梅毒合併妊婦が5年間で152例であり、そのうち14%の児が先天梅毒と診断された(先天梅毒の年次推移は不明)。梅毒の診断時期が遅いために経胎盤感染から児への感染が成立していたと推測される。

先天梅毒の予後は、21例中、5例が死亡、4例が後遺症有りとなった。先天梅毒を発症すると予後不良であることが確認された。

D. 考察

症例対照研究「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究」が国立感染症研究所の倫理審査会から承認された。2017年度初頭から予備調査ならびに本格調査を開始する準備が整った。予備調査の協力医療機関の選定も終えた。

国内の梅毒の動向を明確にするために、発生動向調査の詳細な解析が必要である。今年度は東京都における詳細な解析を実施した。発生動向調査の解析を2017年度は3ヶ月に一度の定期的な実施して報告することを目指す。特に梅毒報告

数の増加(あるいは減少)と診断時期との関連を検討する(図1)。また、東京都の異性間性的接触による男性患者数および女性梅毒患者数は2016年30~35週頃から減少傾向に転換した可能性がある。しかしながら、全国的にはその減少傾向が明らかではない。つまり全体の40%を占める東京都の傾向とは異なる傾向を示す地域がある可能性がある。2017年度の定期報告にも地域性を考慮した情報提供を模索する。2016年度に検討した項目を反映させた定期報告案を提示したいと考えている。

妊婦健診における梅毒スクリーニングのデータ収集・分析を行った。結論として、妊婦健診の梅毒スクリーニングは不顕性感染者を検出でき有用である。妊婦健診から見た梅毒発生数は2015年に明らかに増加した。梅毒合併妊婦の内訳を見ると、3/4は妊婦健診を通常に受診している妊婦であり、1/4は未受診か不定期妊婦であった。若年者を中心とする一般女性への蔓延が窺われる。先天梅毒の発生も診断・治療の遅れが原因と考えられ、これらの社会的ハイリスク妊婦に対する対応が急務であると考えられた。この点は医療システムだけでなく、社会的な課題と考えられた。

梅毒の分子タイピングを実施し、その課題等を明らかにした。同性間性的接触による感染においては、2016年とそれ以前の比較では、マクロライド耐性型の株が増加している可能性を示唆するデータを得ている。梅毒トレポネーマの国際的な伝播に言及するには、既存の分子タイピング法では十分ではないと言える。梅毒トレポネーマのゲノム情報からより詳細な解析が実施できる可能性を、大西らの文部省科学研究で示した。2017年度は異性間性的接触による患者からの検体を利用して、分子タイピングを実施し同性間清適接触患者検体から得られるデータとの比較解析を実施することを予定している。可能であれば一部ゲノム情報の取得を試みる。

E. 結論

発生動向調査のより詳細な解析が現状把握するためには重要である。一方で妊婦健診における梅毒スクリーニングのデータ収集・分析によって、対象を明確にしたデータ解析を体系的に実施することも欠かせないツールである。

国内の梅毒に関する症例対照研究ははじめての試みである。個人情報保護はもとより、調査協力をえるためにもアンケート内容等を吟味するなど周知な準備が欠かせない。2017年度の最初の数ヶ月で予備調査を実施し、内容をさらに吟味することを目指す必要がある。

病変中に存在する梅毒トレポネーマのゲノム

解析を含む分子タイピングは、他の病原細菌と比較して困難であるが、病原微生物側から症例間の関連性を把握する可能性を秘める唯一の方法である。技術的に困難な点は解決可能となっており、本研究でも積極的に取り入れていくことが重要である。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) N Itoh, H Katano, S Nakayama, H Kurai. Gastric syphilis. Internal Medicine. 2017. (in press)
- 2) 村上邦仁子、小林信之、新開敬行、カエタ垂矢、杉下由行、錦信吾、有馬雄三、大西真. 東京都における梅毒届出状況. 病原微生物検出情報 (IASR). Vol. 38. No. 3 (No.445). 2017.3. 感染症研究所.

2. 学会発表

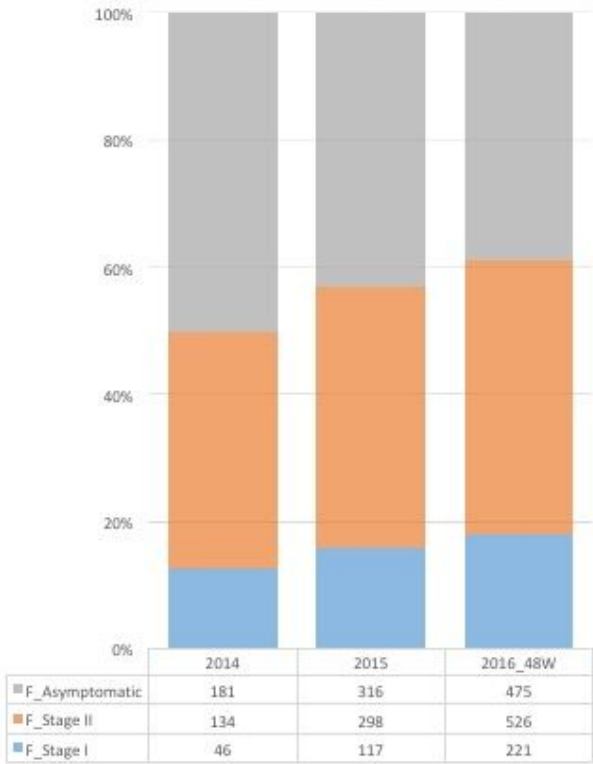
- 1) 高橋琢理 Rapid Increase in New Syphilis Cases in Japan. IUSTI.岡山2016年12月.
- 2) I Itoda, J Hata, K Hayakawa, Si Kutsuna, Y Kato, SI Nakayama, T Morita-Ishihara, K Shimuta, M Onishi. Clinical features of syphilis patients detected by polymerase chain reaction and molecular typing of Treponema pallidum at an urban community-based STI clinic in Japan. 19th IUSTI-AP, 岡山2016年12月
- 3) 川名 敬、産婦人科における話題のウイルス疾患、新潟産科婦人科感染症研究会、新潟、2017.2.11
- 4) 川名 敬、性感染症によって発症しうる母子感染症～新たな脅威～、第29回日本性感染症学会、岡山、2016.12.4
- 5) 川名 敬、外陰疾患・性感染症のピットフォーラム、鴨和感染症フォーラム、京都、2016.10.29
- 6) 大西 真、性感染症の最近の話題～急増する梅毒を中心に疫学、臨床、病理、予防、治療を学ぶ～、平成28年度 福島県性感染症対策研修会、2017年3月
- 7) 大西 真、注目の性感染症 - 梅毒と淋菌感染症 -、平成28年度富山県臨床衛生検査研修会、2017年3月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

女性

女性早期顕症I期・II期・無症候



男性

男性 早期顕症 I期・II期・無症候

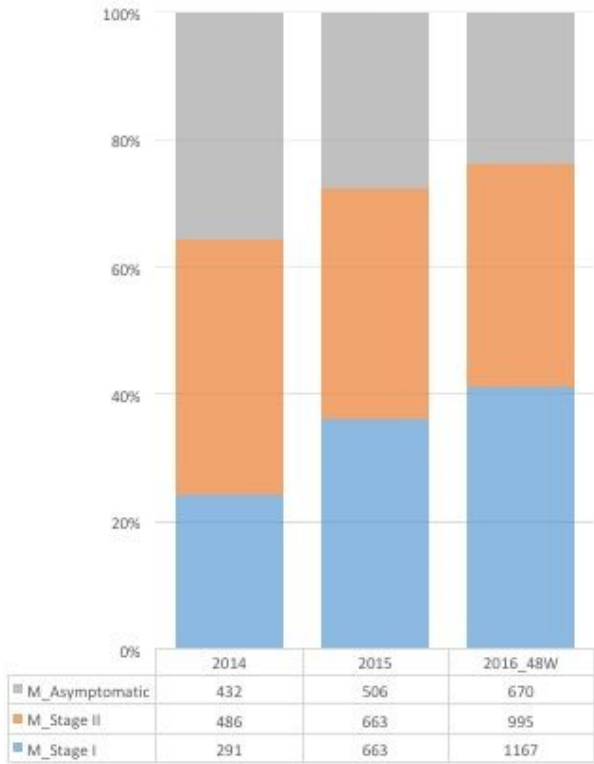


図1 男女別の感染症発生動向調査における梅毒診断時期
 診断時において、早期顕症 I 期、II 期、無症候とされた報告の比率を男女別に示した。男性に比較して女性は無症候梅毒として診断される比率が高く、また女性は男性と比較して早期顕症 I 期で診断される症例は II 期で診断される症例に比して少ないことがわかる。

梅毒 PCR 検査検体取扱い マニュアル

1. 必要物品

| | | | |
|---|----------------------|---|------------------|
| ① | 乾式滅菌綿棒 | ⑤ | 輸送用梱包容器（段ボールe小箱） |
| ② | スピッツ | C | 封筒 |
| @ | スピッツt 収納すp 白い吸収剤 | ⑦ | 着払い用伝票 |
| ④ | スピッツと吸収剤t 入れp パウチ（袋） | | |



①



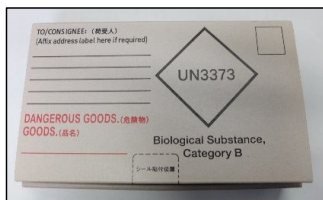
②



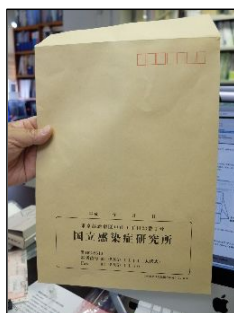
@



④



⑤



C



⑦

2. 検体採e S 保存の手順

Step 1 : 手袋を装着した指で、皮膚病変部を揉むなどして、漿液を滲出させる。

Step2 : 乾t 滅菌綿棒 (①) に漿液を全体に吸収させる。

：口腔の梅毒粘膜疹を疑2 病変に関しては、綿棒でスワブする。

Step3 : 乾t 滅菌綿棒をスピッツ (②) に封入する。(写真 1)

Step4 : 綿棒4 スピッツ内に収まるよ2、柄 (木の部分) を、適当な長6 に切断、
な1 し、指で折る。(写真 2)

Step5 : スピッツの蓋を閉める。側面に「検体番号」を記載する。(写真 3)

* 検体番号は、後に検査結果と照合する際に必要となるため、各施設で記録して3 1 て下6 1。

* 検体番号を記載する際、絶p に、個人情報記載しな1 で5 だ6 1。

Step6 : 輸送の準備を開始するまでは、綿棒の入ったスピッツは、冷蔵庫 (4℃) に
保管する。(写真 4)

* 冷蔵庫で保管した場合、検体は、「少な5 とも1 週間」は、検査に適した状態で保たれます。



写真1

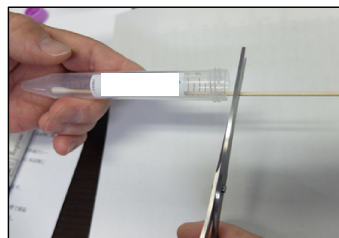


写真2



写真3



写真4

3. 検体の輸送

* お手数ならびにご不便j おかけし、申し訳あe ませんが、検体送付に当S っては、下記にご留意いS だきますc う、何卒c h しくお願い申し上げます。

- 検体は、1 週間分j 、@月曜午前着指定」にて感染研まで送付ください。
- 1 週間分の検体数が、4 検体以上になる場合は、2 箱以上に分けてお送e ください。
- 検体の配送業者は、@ヤマt 運輸」でお願い致します。
- 検体j 送付いS だいS 場合は、発送後に、下記までメールにてご連絡ください。
- 検査結果は、検体到着後 1 週間以内（通常 2 3 日）に、ご連絡いS だいS メールアu レに、@検体番号」と@結果」j あi せて、メールにてお返事させていS だきます。
連絡先 国立感染症研究所 細菌第一部 中山 周一 メール：719212@42.05.jp

- 8e6 1 : o ピツj 、吸収剤 (3) で包み、吸収剤 j 折e S S む。(写真5、6)

* 1 つの吸収剤に包むo ピツは、最大で3 個までにして下さい。

- 8e6 2 : パウp (4) の中に、吸収剤 j 収納し、パウp j 折e S S む。(写真7、8)

* パウp の口にn ールが貼ってある場合は、n ールは剥がさずにご使用ください。

* パウp は折e S S むだけで、口は閉じてない状態で構いません。

- 8e6 3 : 輸送用梱包容器 (5) に、吸収剤の入っS パウp j 収納する。(写真9)

* 梱包容器には@n ール貼付位置」の記載があe ますが、n ールは貼らないでください。

- 8e6 4 : 輸送用梱包容器j 、封筒に入g 、封筒j 折e S S み、s ープ等でとめる。(写真10、11)

- 8e6 5 : 着払い伝票j 封筒に貼e つけ、国立感染症研究所に送付する。(写真12)

* 着払い伝票は、@ご依頼主」の欄以外は、事前に必要事項j 記載してあe ます。



写真5



写真6



写真7



写真8



写真9



写真10



写真11



写真12

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
平成 28 年度 分担研究報告書

梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と効果的な介入手法に関する研究
分担課題 発生動向調査の精査・梅毒感染リスクの分析

研究分担者 有馬 雄三 （感染症研究所感染症疫学センター・主任研究官）

研究要旨

目的：梅毒の届出数は近年著明な増加を認めており、異性間性的接触による感染伝播が推測される。東京都が、絶対数、人口当たりの報告率共に最多であり、全国の届出数の約 4 割を占めている。よって、東京都と連携し、異性間性的接触による梅毒感染リスクの原因分析を踏まえ、適切かつ効果的な対策を講じることが目的である。

方法：梅毒の報告数が最も多い東京都に焦点をあてて、感染症発生動向調査で収集された直近の疫学情報を記述・解釈し、先行研究等からの知見と併せて、リスクアセスメントに不足している情報を精査した。梅毒感染に関与しうるより詳細な情報を収集し、感染リスクを評価する為に、アンケート調査と検査結果を合わせた症例対照研究を提案した。梅毒感染に関する文献レビューを行い、Conceptual モデルを作成し、重要と想定される危険因子・防御因子を検討・選択した。症例と対照の定義と解析方法を決定し、必要となるサンプル数の算出を行った。異性間性的接触による感染の届出が多い東京都の医療機関を抽出し、参加依頼、面談を行った。東京都の自治体、参加依頼を求めた医療施設の医療従事者と連携しながらアンケートを作成した。

結果：東京都における梅毒の現状把握においては、男女共に、異性間性的接触による感染の届出が増えていることを認めた。早期顕症梅毒がその大半を占め、2014 年以降、地域的な分散傾向が見られた。診療所からの報告数が病院からの報告数を大きく上回り、早期顕症梅毒（I 期）が前者に多かった。「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究」の症例対照研究においては、協力医療機関の確保を行い、アンケートとプロトコルを作成し、国立感染症研究所の倫理審査（2017 年 2 月 20 日）を通して、承認を 2017 年 3 月 10 日に得た。4 月 1 日から予備調査を開始する。

考察：東京都における近年の異性間性的接触による感染の届出の増加は、診療所からの報告数が病院からの報告数より多く、早期顕症梅毒（I 期）が前者に多かったことから、診療所で、より早期に梅毒が診断されている状況が示唆された。一方、発生動向調査の届出には、効果的な対策を講じる為に必要な、リスク因子・リスク集団を把握する為の情報（職業、居住地域、国籍、パートナータイプ等）が無い事も認めた。東京都におけるこれらの疫学状況については、IASR を通して、広く情報提供する。また、2016 年の後半以降、東京都以外の地域からの届出が継続して増加している事も認めた。来年度は、リスクアセスメントに必要と考えられる情報を更に精査し、発生動向調査・届出表の改善を提案する。症例対照研究においては、来年度予備調査を行い、改善した後に本格的に症例対照研究を実施する。本調査から、異性間性的接触による梅毒感染における感染のリスク要因、増加要因を推測し、エビデンスに基づいた梅毒感染の予防・コントロール・介入方法の対策立案につなげる。

A. 研究目的

感染症法に基づく届出により梅毒として報告された届出数は近年著明な増加を認めている。2012 年以降は男性に加えて女性の報告数の増加も認められ異性間性的接触による感染伝播が推測される。また、女性の増加は 20 代が大半を占め、先天梅毒の発生も懸念される。報告都道府県別では、東京都が、絶対数、人口当たりの報告率共に

最多であり、全国の届出数の約 4 割を占めている。東京都として、早急に感染拡大防止対策を進める上で、どの様な個体群がそのターゲットとなりうるのか（梅毒感染のリスク因子・リスク集団）検討する必要がある。よって、現在のアウトブレイクを考慮し、東京都と連携し、異性間性的接触による梅毒感染リスクの原因分析を踏まえ、適切かつ効果的な対策を講じることが求められる。

まず、現状の把握と精査が必要である為、梅毒の報告数が最も多い東京都に焦点をあてて、梅毒の発生動向調査の分析の一環として、直近の疫学情報を記述する。また、感染症法に基づく発生動向調査の情報からは、報告数の時系列的トレンド、地域分布、年齢・性別分布、感染経路の有用な情報がモニタリング出来るが、梅毒感染に関与する可能性のある具体的な情報が不足していると考えられる。よって、近年の梅毒感染に関与しうる情報について検討し、疫学分析を踏まえ、強化ポイントを抽出する事が重要である。実際に、日本の異性間性的接触による梅毒の疫学を示した文献は極めて限られている。1999~2001年における日本の性風俗従事者調査があるが(Miyazaki M et al. JIC 2003)、その後の継続調査は行われていない。リスク集団・リスク因子に関与する詳細な情報を収集する為に、梅毒を多く届出している東京都の医療機関・自治体と連携し、症例対照研究を実施する。これらの医療機関からの情報と、梅毒感染のリスク要因、梅毒報告数が増加している原因を分析・考察する。本研究の結果をもとに、発生動向調査の改善、梅毒感染の効果的かつ効率的な予防・コントロールの対策立案につなげる事を目的とする。

B. 研究方法

本研究は、東京都に焦点を当てている為、感染症研究所と東京都と東京都内の医療機関の協力・連携が重要である。感染症研究所感染症疫学センター(高橋琢理、錦信吾)、東京都健康安全研究センターの企画調整部 健康危機管理情報課 疫学情報担当課長(村上邦仁子、小林信之)と微生物部 病原細菌研究科長(新開敬行)、東京都福祉保健局 健康安全部感染症対策課 感染症対策課長(杉下由行、カエベタ亜矢)と定期的な報告会を開催しながらすすめた。

東京都(以下、都)にフォーカスを当てた梅毒の現状把握と精査においては、直近の疫学情報を、人、時、場所の観点から分布した。2007~2016年の10年間の都の梅毒届出症例に関し、特に2016年の傾向に焦点を当てて検討を行った。感染症発生動向調査システム(National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: NESID)に登録された症例より、管轄保健所の受理日を基準に、2007~2015年に都で診断され届出られた梅毒症例を2016年10月11日に抽出、さらに2016年の同症例を2017年1月13日に抽出し、各年の疫学的分析を行った。人口当たりの届出率の算出においては、人口動態統計による各年1月1日現在の人口を用いた。また、感染症発生動向調査で収集されたデータを精査し、リスクアセスメントと対

策において不足する情報を精査した。更に、2015年~2016年に報告された直近の梅毒届出数を、全国と東京都それぞれ、男女毎に、診断週による流行曲線を描いた。異性間性的接触の推移に注目している為、男性は、異性間性的接触による感染として報告された症例に限定した(女性は従来から大半が異性間性的接触による為、限定せず)。また、報告数の週毎の変動が激しいため、12週間移動平均を用いてスムーズ化した線を加えた。

不足する梅毒感染に関与しうる情報を収集し、リスク集団・リスク因子を明らかにする事を目的とした、症例対照研究を系統的にの計画した。まず、近年の梅毒感染のリスク因子を調査した文献レビューを行い、Conceptual モデルを作成し、重要と想定される梅毒感染の危険因子・防御因子を選択した。これらを参考に、研究デザインは、無記名での自己記入式質問紙(以下、アンケート)調査と検査結果を合わせた前方視的な症例対照研究とした。

初めに、梅毒届出数が上位20の東京都内医療施設をリストアップし、施設毎に、受診者の特徴を記述した(例:主に男性と性交する男性(MSM)対象、主に性風俗従事者(CSW)対象、主により一般の人口対象者)。本研究は、異性間性的接触を対象としていることから、MSM以外が主な対象の14施設を対象医療機関候補として選択した。それらを、東京都健康安全研究センター、東京都福祉保健局と共に検討し、協力体制が得られる施設(n=7)を選択した。当7施設に参加依頼の打診を行い、面談を行った。

また、本調査を行う為に、必要なサンプル数の算出を行った。先行研究に倣い、統計的に十分なサンプル数を確保し、かつ、効率良く症例対照研究を行うために、症例1:対照3と設定した(Zhou H et al. Sex Transm Infect 2007)。対照の3~4割がリスク因子に曝露していると想定した場合、症例36、対照108で、オッズ比3以上が、アルファ5%、検出力80%で探知出来る。性別毎に層化した解析を行う為、男女それぞれ少なくとも症例36、対照108を目標数として確保することとする。また、想定される対象者の性別(受診者の性別分布が、施設によって異なる為)や対象者数は、最終的に参加される施設によって異なる為、予備調査(以下、パイロット)をふまえ、参加医療機関の最終選定後に、本調査における対象者の選択(男性及び女性、女性のみ、ないし男性のみ)、性別毎のマッチングの有無を決定する。

アンケート作成においては、「男性と性交する男性(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」、「先天梅毒について、児の臨

床像・治療実態および児の親の梅毒感染・治療に関連する背景を明らかにする研究¹⁾、海外における先行研究等を参考にした。東京都の自治体、参加依頼を求めた医療施設の医療従事者らと連携しながらアンケートを作成した。アンケートの事前調査として、少なくとも3施設でパイロット調査を行う。先行研究の教訓から、特に性に関するプライベートなアンケートにおいては、パイロット調査を行う重要性が指摘されている為である (Ishikane et al. WPSAR. 2016)。

研究対象者は、先行研究 (Zhou H et al. Sex Transm Infect 2007、Champenois K et al. Sex Transm Infect 2013、Ishikane et al. WPSAR. 2016 等) を参考に、過去6ヶ月以内にセックス歴 (オーラル、膣、アナルを使用したセックス) があったものに限定する。症例 (陽性例) の定義は、感染症法に基づく届出基準の定義に合致した (<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-11.html>) 早期顕症期、無症候病原体保有者とする。早期顕症期、無症候期は、概ね、過去6ヶ月以内の感染と考えられるためである。なお、晩期梅毒は、6か月以前の感染に起因するため、除外する。対照 (陰性例) は症例と同一の医療機関より選択し、その定義は、検査結果と臨床所見・経過等により明らかに活動性のない梅毒と判断される者、ないし、生物学的偽陽性と判断される者とする (但し、調査日から過去6か月以内に梅毒の治療歴のある者を除く)。

研究参加について、以下のものは、調査対象外とする：

- 20歳未満の未成年者
- 調査対象者の同意が得られなかった者
- 最近6ヶ月間以内にセックス (口腔[オーラル]、膣、肛門[アナル]を使用したセックス) がない者
- 最近6ヶ月間以内に同性間でのセックスがある者
- 日本語の言語での同意書やアンケートを受けられない者
- 代諾者からインフォームド・コンセントを得る必要があると判断された場合
- 研究期間内に既に本研究に参加したことがある者

症例1:対照3は、症例1名の協力が得られた後に、症例と同姓で、同医療機関において検査結果の説明を受ける、対照に該当した者を順番に選択し、その中で同意が得られた最初の3名を対照とする (Zhou H et al. Sex Transm Infect 2007)。

収集された情報の解析においては、まず、症例と対照の基本情報の分布を記述する。ロジステッ

ク回帰分析を用いて、単変量・多変量解析を行い、危険因子を検討する。統計学的有意差は、両側検定で、 p 値 < 0.05 とする。多変量解析は、単変量解析で p 値 < 0.05 であった因子、概念モデルに基づいて重要と考えられた危険因子で行う。さらに結果に基づいて探索的な分析、感度分析も行う。

本研究は、平成29年3月10日 (倫理審査承認日) から、平成30年3月31日までとする。

(倫理面への配慮)

の研究においては、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ず、倫理面での問題が生じることは無い。

の研究は、調査対象者の同意を得た上で、アンケートを用いて、検査結果、性活動歴等の情報を主治医及び調査対象者から収集する研究である。本研究は国立感染症研究所の倫理委員会の承認を得て行う。検査結果を用いる調査研究に関しては参加者に十分に説明し書面による了承をえる。また連結不可能匿名化を施し、集計結果から個人が特定出来ない形で調査を進める。また、検査および結果の公表についても書面による了承をえる。アンケート調査においても、質問には性に関する個人的情報を含むため、本人には十分研究の意義と厳重な情報の扱いを説明し、研究に参加しなかった場合にもデメリットは発生しない旨伝える。研究は国立感染症研究所の倫理委員会の承認を平成29年3月10日に得ているが、事前調査の結果に基づき、アンケートを改善した後、国立感染症研究所の倫理委員会を再度通して、症例対照研究を行う。

初めに、本調査の参加依頼は、医療機関として参加に同意した主治医 (以下、主治医) により、調査対象者 (症例、対照) に説明が行われる。主治医が、研究計画書及び説明書に基づき対象者に説明を行い、同意書により同意を得る (同意書は、主治医が保管する)。調査対象者から同意が得られた場合には、主治医を通して調査対象者にアンケートへの記入を依頼する。調査対象者による記入にあたっては、プライバシーの保たれた場所で行う。記入後のアンケートは、調査対象者自身が封筒に入れ封をし、主治医が内容を確認できないようにする。調査員は、アンケートが同封された封筒を主治医から回収し、プライバシーの保たれた状態でデータ解析機関である国立感染症研究所感染症疫学センターへ運び、保管する。

対象者が20歳未満の未成年者である場合、調査対象外とする。また、中学校に相当する課程を修了していない場合や、研究を実施することに関する判断能力を十分に有しないと判断する場合等、代諾者からインフォームド・コンセントを得

る必要があると判断された場合は、調査対象外とする。また、20歳以上でありかつ研究を実施されることに関する十分な判断能力を有すると判断される対象者の場合であっても、本人からインフォームド・コンセントを得る。その場合には研究の目的や情報の取扱いを含む研究の実施についての情報を公開し、本研究の実施について拒否できる機会も保障することとする。

本研究で使用する質問にはプライベートな情報を含むため、主治医および調査対象者には十分研究の意義と重要な情報の取り扱いを説明し、研究に参加しなかった場合にも不利益がない旨を伝える。また参加の任意性および撤回についてもあらかじめ調査対象者に主治医が説明した上で研究を行う。本調査は、個人を特定できる情報は収集せず、対応表も作成しないため、アンケートが提出された後は連結不可能匿名化された情報となり、その情報のみを用いる研究である。

本研究で収集するデータは、医療機関で既に行われている梅毒検査の結果とアンケート様式の内容になる。研究で収集するデータには性行動歴の内容も含まれるが、データを取扱うのは本研究に参加する研究者のみとし、本研究以外の目的には使用しない。研究者はデータの取扱いに十分注意する。データの収集に当たっては、連結不可能匿名化されたアンケートの回答内容と検査結果を、データベースに入力する。研究用データベースには、個人を特定できる情報はない。アンケートは、封をした封筒に入った状態で管理されるため、内容は主治医には確認できないように配慮されている。また、特定の個人を識別することができない情報に限定しているため、侵襲や健康に対する不利益を伴うことはない。

また本研究は、対象者が外来受診時に合わせて調査を依頼されるものであり、調査対象者においては研究参加のために来院する負担や経済的コストは伴わない。アンケートに要すると考えられる時間は約5~10分を想定しており、研究参加前に予め調査対象者に説明する。本研究に参加することにより、調査対象者は、要した時間等に対する謝品として、クオカード500円分を受領しうる。その他には、調査対象者の即座の利益はないが、本研究により得られた知見は今後の梅毒感染予防の向上のために役立つと期待される。

集められたアンケートおよび研究業務で発生した印刷文書、メモなどの資料は、国立感染症研究所内の第三者の目に触れない場所で閲覧し、施錠できるキャビネットに保管する。研究用データベースは、施錠できる室内に置かれたコンピューターのハードディスクに保管され、コンピューター及びハードディスクはパスワードにて保護さ

れる。研究で収集したデータは、研究終了後5年間保管し、その後、廃棄する。印刷資料、電子媒体データなどいずれの資料も物理的に内容の読取りが不可能な状態にした後に廃棄する。

C. 研究結果

2016年の全国の梅毒届出数は4,518例で、そのうち都は1,673例で全国の37%を占めた。都における梅毒患者届出数は、2011年以降男女ともに増加傾向にあり、2016年全体の届出数は1,673例(届出率、人口10万対12.3)で、これは2007年の162例(同1.3)の10.3倍であった。男性の届出数は、それぞれ1,218例(同18.1)、131例(同2.1)で9.3倍、女性は455例(同6.6)、31例(同0.5)で14.7倍で、10年間の増加率は男性に比べて女性のほうが高かった(図1)。2007年の男性割合は全体の80.9%であったが、2009年以降男性割合がより増加し、2011年には89.1%に達した。2014年以降女性の届出が増加し、2016年の男性割合は72.8%まで低下した。

年齢の中央値は、2016年全体で36歳、男性は39歳(範囲0-87歳)女性は27歳(範囲16-94歳)であった。2016年の5歳階級別の届出率を検討すると、15-19歳、20-24歳においては女性の届出率が高く他の年代においては男性の届出率が女性を上回った(図2)。

推定感染経路別は、全体では2007年は性的接触82.7%、その他および不明が17.3%であったのに比べ、2016年ではそれぞれ95.3%、4.7%であった。性的接触の内訳は、2016年全体で異性間性的接触55.5%、同性間性的接触26.5%であった。男性の異性間性的接触割合は、2013年の16.0%を最小にその後増加し、2016年は43.8%であった。一方、男性の同性間性的接触割合(両性間含)は2013年68.8%を最大にその後減少し、2016年は37.1%となっており、2015年の段階で男性の異性間性的接触割合が同性間性的接触割合を上回った(図1)。女性の異性間性的接触割合は、2007年(61.3%)、2016年(86.6%)と大半が異性間性的接触によるものであった。

推定感染経路と年齢層別の関係は、2016年男性30歳代では、同性間性的接触割合が43.8%、異性間性的接触割合38.7%と、同性間が異性間を上回ったが、それ以外の年齢層では異性間が同性間を上回っていた。女性は、年齢層が高くなるにつれて、推定感染経路不明の割合が、男性に比べて高くなる傾向があったが、報告数の最も多い20代~30代においては、大半が異性間性的接触であった(図3)。

病期別では、2016年全体で早期顕症梅毒(期)32.0%、早期顕症梅毒(期)39.7%、晩期顕症梅毒

毒 1.3%、無症状病原体保有者 26.8%であった。2007 年はそれぞれ 27.8%、38.3%、7.4%、26.5%であった。また、2016 年には、先天梅毒 2 例 (0.1%) の報告があった。

届出医療機関の種別では、2016 年全体で診療所 64.3%、病院 35.6%、保健所 0.1%であった。2007 年全体はそれぞれ 48.1%、50.6%、1.2%であり、近年診療所からの届出割合が増加した。男性では 2016 年診療所の割合が 59.9%であったのに対して、女性は 76.0%で、女性の方が診療所で診断される割合が高かった。さらに、届け出症例の病期と医療機関種別の関係を検討すると、2016 年診療所では早期顕症梅毒 (I 期) が 40.0%、早期顕症梅毒 (II 期) が 41.4%、無症候性梅毒が 18.6%に対し、病院では I 期が 17.6%、II 期が 36.6%、晩期が 3.7%、無症候性梅毒が 41.7%であった (図 4)。

発生届の届出先保健所別の割合では、2016 年全体の 37.2%が新宿区 (2,061 例)、9.9%が港区 (465 例)、8.1%が豊島区 (295 例) および台東区 (283 例)、3.5%が文京区 (226 例) であった。2010 年以降、新宿区からの届出は約 5 割を占めていたが、2014 年以降は割合としては減少傾向で、他地域からの報告割合が増えている傾向があった (図 5)。

推定感染地域は、2016 年全体では東京都 72.9% (男性 71.8%、女性 75.6%)、東京都の近隣県 (埼玉県、神奈川県、千葉県) 3.3% (男性 3.4%、女性 3.1%) で男女共に大半が東京都内であった。

また、2015 年~2016 年に報告された届出数を、全国と東京都それぞれ、男女毎に (男性は、異性間性的接触に限定) 流行曲線を描いた (図 6、7)。全国においては、異性間性的接触による感染の男性、女性症例共に、2016 年の後半は高いレベルで高止まりしたまま推移していた (図 6A、7A)。一方、東京都においては、異性間性的接触による感染の男性、女性症例共に、2016 年の後半は微減していた (図 6B、7B)。

「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究」の症例対照研究においては、来年度の予備調査、本調査に向けて、系統的に計画を進めた。協力医療機関を確保し、アンケートとプロトコルを作成し、国立感染症研究所の倫理審査 (2017 年 2 月 20 日) を通して、2017 年 3 月 10 日に承認を得た。4 月 1 日から予備調査を開始する。

より詳細な、梅毒感染に関与しうる情報を収集する為に、先行研究等から、想定されるリスク集団・リスク因子を精査した Conceptual モデルを作成した (図 8)。これらの因子を明らかにする事を目的としたアンケートを作成した (参考資料)。本アンケートでは、基本情報 (性・年齢、

居住地〔都道府県〕、国籍、学歴、職業、婚姻状況等)、過去の性感染症の既往、梅毒に関する知識、性行動歴 (性産業従事歴、性産業従事者とのコンタクト、コンドームの使用、パートナー数、頻度等) のデータを収集する。アンケート作成においては、東京都健康安全研究センター、東京都福祉保健局健康安全部感染症対策課、新宿区保健所、と意見交換・確認を行いながら作成した。参加者への負荷を最小限に抑えた効率の高い、回答のバイアスを最小限に抑えたアンケートを作成した。

選択された 7 つの候補施設においては、施設の代表者に協力を求め、面談を行い、5 施設が予備調査 (パイロット) の協力に同意した。検査の流れが施設によって異なる場合も有る為、詳細な手順プロトコルを作成した。また、当アンケートは、参加依頼を求めた医療施設の医療従事者らにも検討して頂き、より現場の現実にあったものにするために、更に修正した。

D. 考察

東京都にフォーカスを当てた梅毒の現状把握においては、近年における梅毒患者届出数の著しい増加を認めた。男女ともに、異性間性的接触による感染の届出が増えていることと、とりわけ、妊娠可能な若年層の女性の間で梅毒が著増していることは、先天梅毒予防の視点からも、公衆衛生上の対策を推進することは急務である。時、人、場所の記述疫学から、年齢・性別分布、報告施設、地域分布等、有用な疫学情報が得られたが、梅毒は五類全数報告疾患であり、発生届には患者属性の詳細 (職業、居住地域、国籍、パートナータイプ、治療歴など) を聞き取る項目はない。より効果的な対策を講じるために、さらに進んだ情報収集が必要である。Conceptual モデルからも、梅毒感染に関与する可能性のある具体的な情報が不足している事が改めて認められた。

届出先保健所別で新宿区の割合が約半数で近年推移しているのは、性感染症を取扱う医療機関が同区に多い背景が影響していると類推されるが、近年は他地区においても報告数と割合の増加傾向を認めており、分散傾向が認められる。

各医療機関別では、2016 年には診療所からの届出の割合が増えた。診療所と比較し、病院において無症状病原体保有者割合が高かった背景には、病院における入院時検査、または術前として実施された検査が含まれている可能性がある。また病期別で 2007 年と 2016 年を比較すると、早期顕症梅毒 (I 期) の割合が増加し、晩期顕症梅毒の割合が減少した。これらの結果から、病院ではなく診療所で、より早期に梅毒が診断されている状況

が示唆される。

本解析から得られた東京都の直近の梅毒の疫学状況を、病原微生物検出情報 (IASR; Vol. 38, No. 3 (No.445), 2017.3) を通して、広く情報提供する。東京都では、都民向けに、感染症情報センターのホームページでの梅毒の発生動向や基礎知識についての情報や、医療従事者向けに、四半期毎に発行しているエイズニュースレターや HIV/エイズ研修会での梅毒の増加について情報を発信している。また、東京都南新宿検査・相談室や一部の保健所では、希望者に HIV 検査とともに梅毒検査を実施しており、早期発見・治療につなげている。今後、症例の属性について、より明らかにするために更なる情報の収集と分析が必要であり、そのためには、関係機関との連携強化を図り、課題の克服のために必要な新たな取組を進めていく必要がある。

また、全国においては、異性間性的接触による感染の男性、女性症例共に、2016 年の後半は高止まりしていたのに対して、東京都においては、同時期、それぞれ共に微減していた。すなわち、東京都を除いた地域で増加している事が示唆された。実際に、直近の 2017 年第 1 ~ 9 週に報告された症例数と、2016 年の同時期を比較したところ、東北、東京を除いた関東地域、関西、中国、九州、においては、届け出数の増加を認めた。実際に、東京都が占める割合は、2016 年第 1 ~ 9 週は 45%、2017 年の同期間には 32% と減少した。全国的な梅毒の流行が継続していることから、梅毒への対応は、今後も必要である事が示唆された。

異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する症例対照研究においては、協力医療機関の確保、アンケートとプロトコル作成を達成した。アンケートの実施とフローに関しては、施設毎に、研究参加者がアンケートを行う場所・スペース、検査法とその情報の還元の流れ等が異なる場合もある事が、候補施設の代表者との面談の際に分かった。また、受診者が多い時間帯、より詳細なフローのポンチ絵の必要性等、予備調査の実施の重要性が改めて認識された。来年度は、予備調査を実施し、アンケート調査用紙を最良のものに改善しフローを確認し、本調査を実行する。

アンケート調査結果を分析し、リスク要因・リスク集団の特定等を明らかにする。先天梅毒の発生の懸念 (IASR: 先天梅毒の動向 (2011 ~ 2014 年), 36 : 230, 2015) も考慮し、女性梅毒患者の特性を把握することに焦点をあてる。また、東京都健康安全研究センター、東京都福祉保健局と連携し、梅毒のリスクアセスメントに必要なと考えられる情報を更に精査し、発生動向調査・届出用紙の改

善を試みる。これらの結果をもとに、増加要因を推測し、エビデンスに基づいた梅毒感染の予防・コントロール・介入方法の対策立案につなげる。

E. 結論

現在、我が国においては、異性間性的接触による梅毒の感染拡大を防ぐ効果的介入法について提言することが重要となっている。最も梅毒によるバーデンが高い東京都に焦点を当て、直近の疫学状況をより明らかにし、不足する情報を検討した。今後、症例対照研究を行い、より詳細な情報を収集し、梅毒感染の原因となっている因子を推定する。その結果に基づいた介入方法を提言するとともに、発生動向調査の改善点を提言する。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表
無し

2. 学会発表

- 高橋琢理 Rapid Increase in New Syphilis Cases in Japan. IUSTI.岡山 2016 年 12 月.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

無し

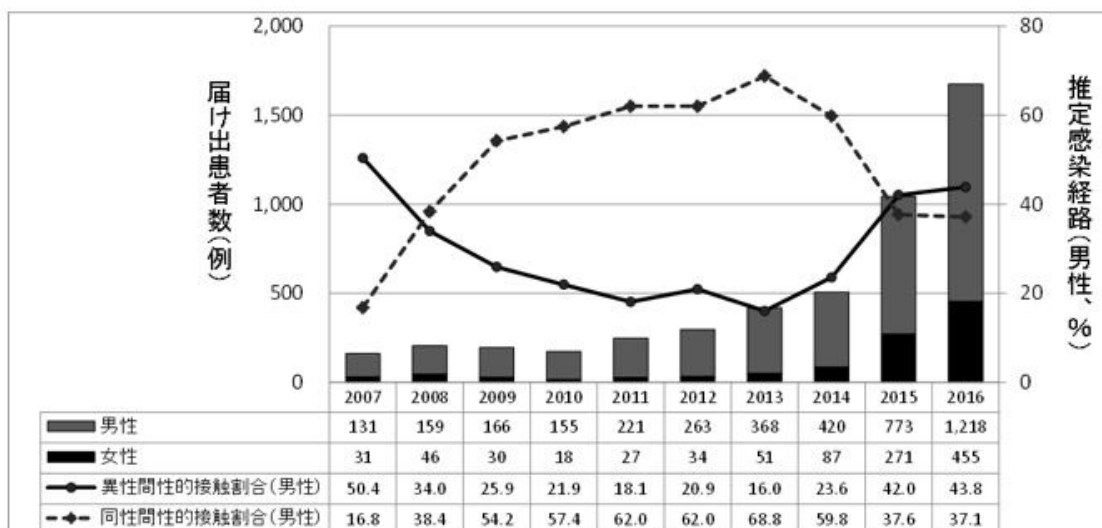
2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

図1. 届け出数と男性患者における推定感染経路の年次推移(東京都, 2007-2016)



*同性間性的接触は、異性間と同性間の重複(両性間)を含む

図2. 患者届け出率(東京都, 2016年, 5歳階級別, 男女別)

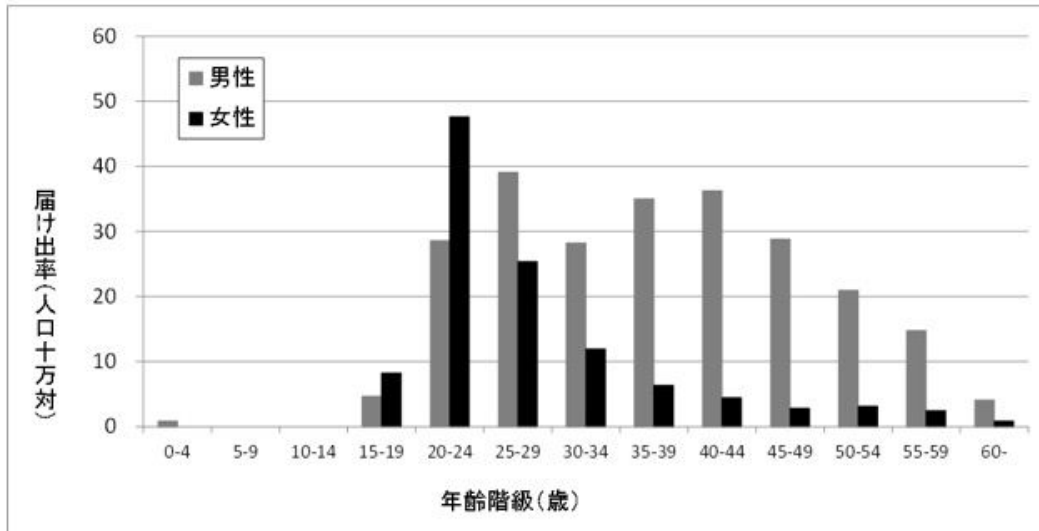


図3. 年齢層別推定感染経路(東京都, 2016年, 男女別)

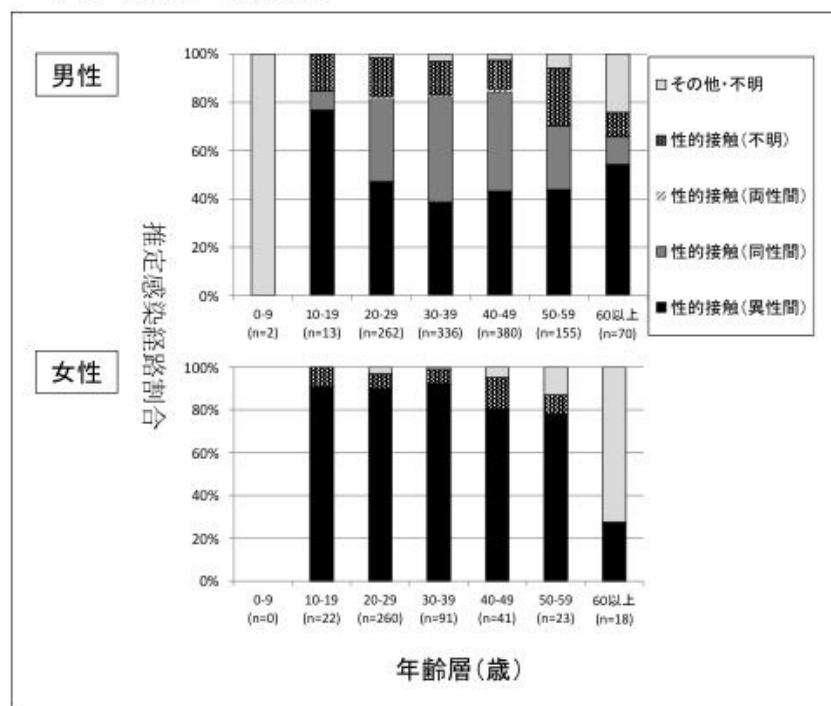


図4. 病期別割合(東京都全患者, 医療機関別, 2016年)

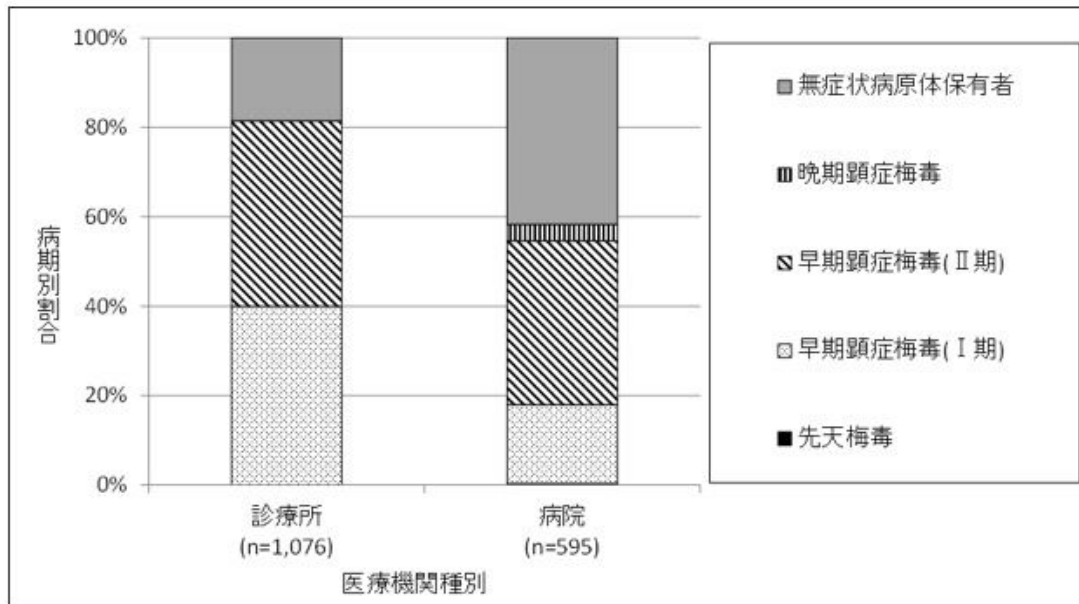


図5. 届出先保健所別推移(東京都全患者, 2007~2016年)

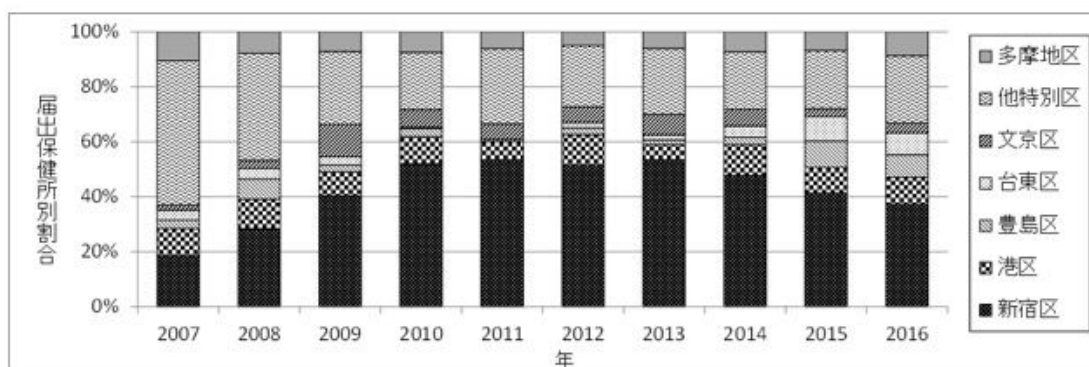


図6. 異性間性的接触による男性梅毒報告数、2015-2016年、第1~53週:A)全国 B)東京

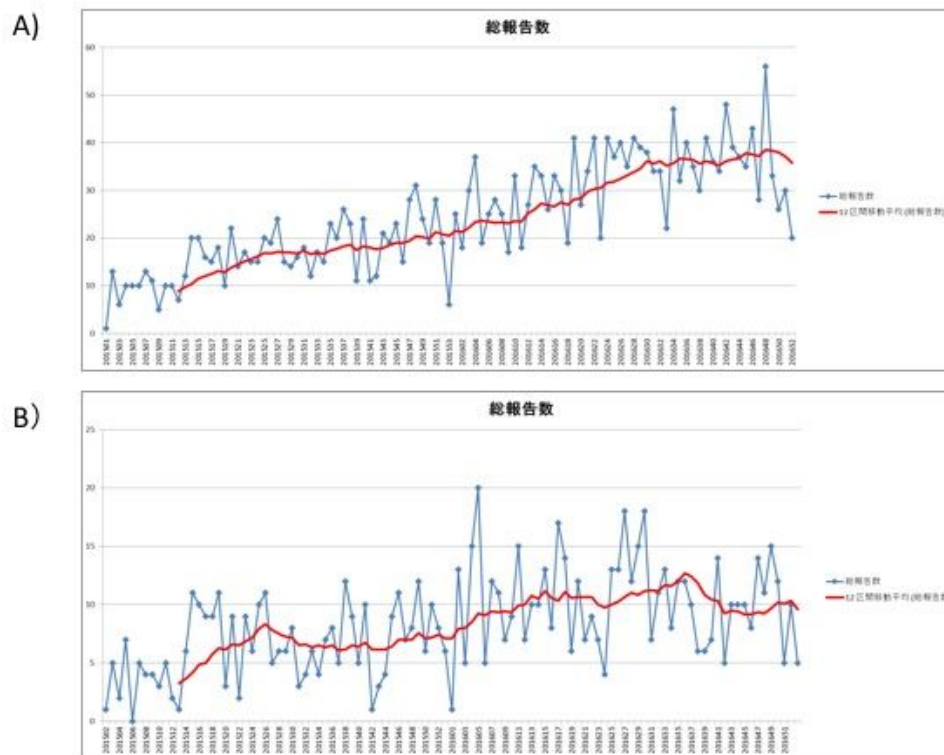


図7. 女性における梅毒報告数、2015-2016年、第1~53週:A)全国 B)東京

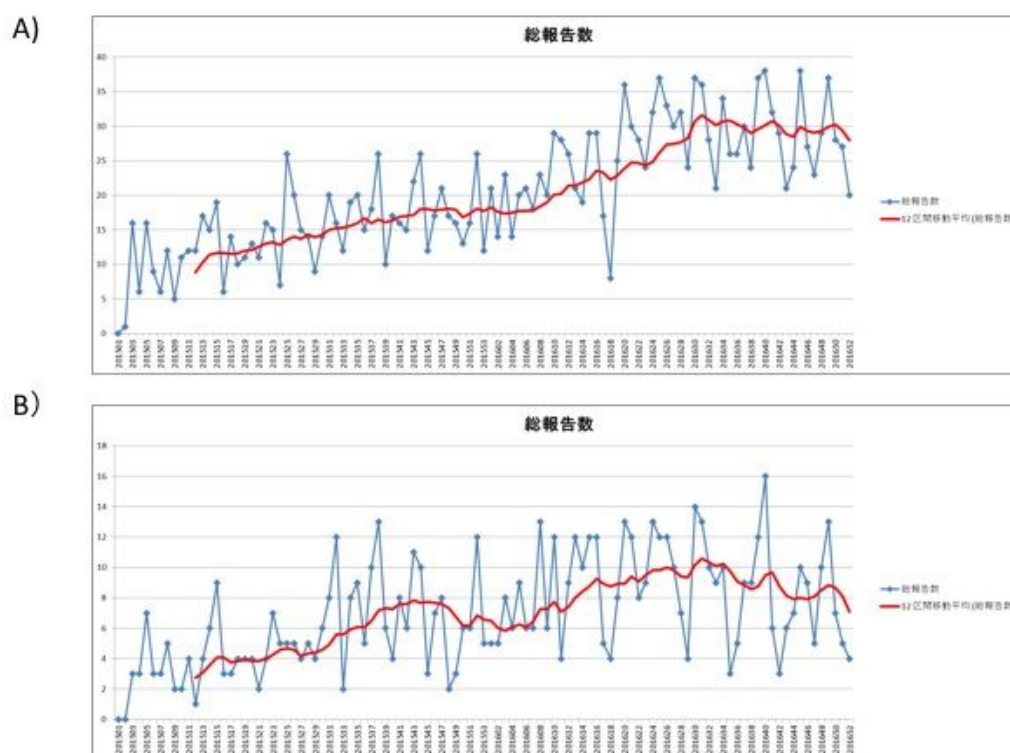
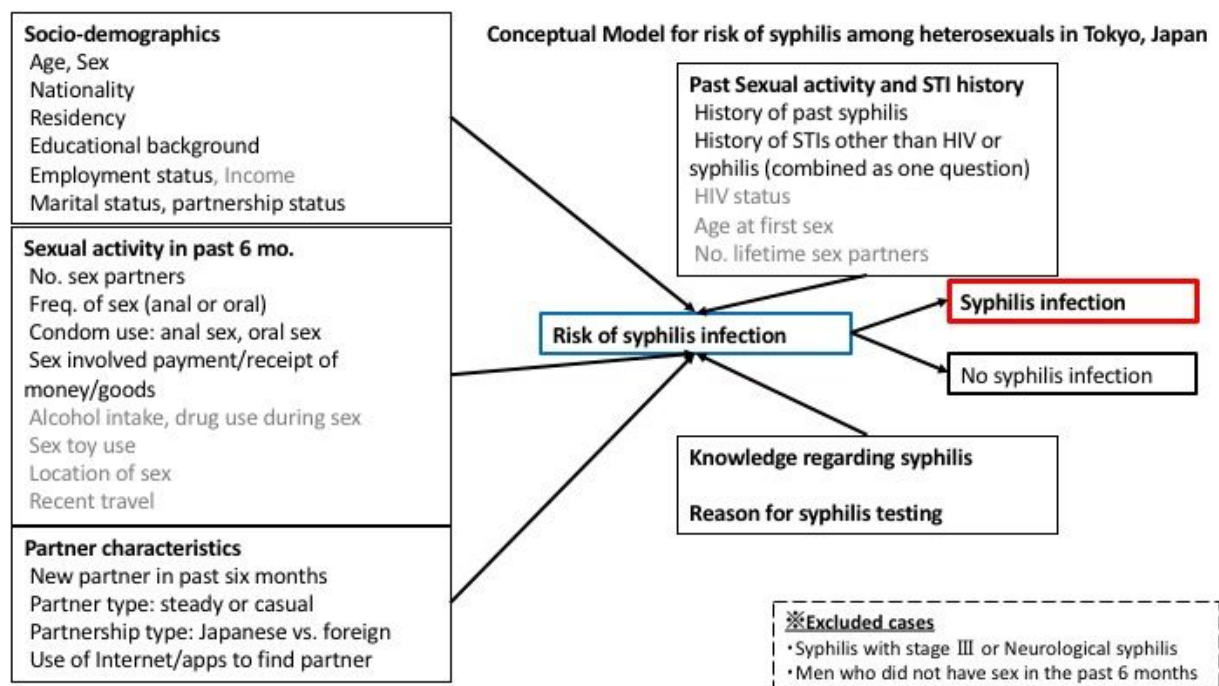


図8. 梅毒感染におけるConceptual Model



梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と効果的な介入手法に関する研究

分担課題 妊婦健診における梅毒スクリーニングのデータ収集・分析

研究分担者 川名 敬 （日本大学医学部・産婦人科・教授）

研究要旨

梅毒スクリーニング検査は本邦では、妊婦健診で必須項目として従前より実施されてきた。本研究では、妊婦スクリーニングを用いて、一般成人女性における梅毒感染の増加の実態を把握することとした。更に先天梅毒の報告数増加の原因を追究するため、妊婦健診での梅毒感染妊婦の診断、治療について、全国の分娩を扱っている医療機関（主として医育機関）を対象に調査を実施した。2011～2015 年の 5 年間で梅毒合併妊婦が約 2 倍に増加している（非妊娠女性でも約 2 倍に増加）。その 60%が 10-20 歳代であった。予後が確認された梅毒合併妊婦 152 例中 21 例（14%）で先天梅毒（母子感染が成立）が発生している。特記すべきことは、梅毒合併妊婦の 25%が未受診妊婦もしくは不定期妊婦であった。これらの社会的ハイリスク妊婦では、妊娠初期の梅毒スクリーニングは無効である。実際、妊娠中の診断・治療が遅れ、先天梅毒に至る可能性が高い。また社会的ハイリスク妊婦は児童虐待のハイリスクでもあり、児への無関心さが先天梅毒の背景にある。周産期管理の観点から社会的な対応が必要であると考えられた。

A. 研究目的

近年の梅毒感染の報告数増加は、女性においては、生殖可能年齢、特に 10-20 歳代において目立っている。一般には、女性の場合はコマーシャルセックスワーカー（CSW）が感染対象となりやすいため、全数報告には CSW の感染状況が色濃く反映されると推測される。患者背景を吸い上げるシステムがない全数報告では、非 CSW 女性における実態を把握することは難しい。一方、梅毒は、妊娠中のどこ時期にも胎内感染が起こりうる病原体である。先天梅毒は全数報告の対象となっているため、実数は把握されているが、近年、明らかに増加している。しかし、その患者背景（妊婦の背景）については把握できないために原因を検索することが難しい。

本邦では、B 型肝炎ウイルスと並んで妊娠 4 か月に公費で梅毒に対する妊婦抗体スクリーニング検査が行われる。本邦の産科ガイドラインにおいても推奨レベル A として臨床的に義務付けられている。

一般に、本邦で STS , TPHA が陽性になる確

率は 0.1～0.2%と低い。妊婦は非 CSW を主体とする集団と考えられるため、非 CSW 女性への梅毒感染の蔓延状況を推測できると考えられる。梅毒感染が母体に起こった場合、妊娠中に胎内感染することがある。母体の不顕性感染があるので妊娠初期の血清抗体検査は重要である。梅毒合併妊婦の周産期管理としては、STS かつ TPHA 陽性であれば、母体に合成ペニシリン（アンピシリン，アモキシシリン）を 4～6 週投与する。STS 抗体価の下降（変動しなくなるまで投与）で治療効果を確認する。梅毒トレポネーマは胎盤を介して児に感染するため、妊娠 18 週までに治療するのが理想的である。

経胎盤感染により母子感染を起こした場合、流産、死産、先天梅毒を起こす。流産が約 30%を占める。先天梅毒には、生後早期から先天異常が多発する乳児期発症と、数か月～数年経てから眼障害や難聴を発症する幼児・学童期発症（晩期先天梅毒）がある。

出生時、臍帯血の TPHA-IgM 抗体が陽性の場合には胎内感染が確実であり、新生児に対して合成ペニシリンを 1～2 週間投与する。母体未

治療例では、新生児に異常がなくても抗生剤投与を行うという管理を行っている。新生児に対する治療の開始が早いほど予後も良好である。

このような背景から、本研究では、産科医を対象とした全国アンケート調査を実施した。これによって、非CSW女性の蔓延状況を推測し、また妊婦健診によるスクリーニングの有用性を検討することを目的とした。さらに、先天梅毒の発生状況とその妊婦背景について調べることを目的とした。

B. 研究方法

日本産科婦人科学会の女性ヘルスケア委員会内にある、本邦における産婦人科感染症実態調査小委員会（小委員長：深澤一雄、委員：岩破一博、川名 敬、大槻克文、野口靖之）によって企画、立案され、日本産科婦人科学会によって実施された「性感染症による母子感染と周産期異常に関する実態調査」である。

目的としては、性感染症のなかで、性器クラミジア感染症、淋菌感染症、尖圭コンジローマ、性器ヘルペス、梅毒に関して、母子感染と周産期異常に着目し、新生児管理も含めた実態調査を行うことを目的とした。これらの感染症に対する診断方法について調査し、母子感染については感染病理やハイリスク因子を明らかにし、その予防や治療法の確立を目指して、新生児管理も含めてアンケート調査を行った。

日本産科婦人科学会の研修施設（研修基幹施設）628施設を対象として、「性感染症による母子感染と周産期異常に関する実態調査」と題するアンケート調査を送付依頼した。2015年1～12月の1年間のデータを回収集積し各感染症の診断法、治療法等を解析した。アンケート調査および回答はweb上で行った。

梅毒については年次推移を把握するために、2011～2015年の発生数を、非妊婦（婦人科）、妊婦（産科）別に調べた。また、産科においては、母体年齢、梅毒の診断時期、治療開始時期、治療の有無、先天梅毒の発生数、先天梅毒児の予後について調査を行った。

倫理面への配慮：日本産科婦人科学会の研究倫理委員会の承認のもとで、本実態調査は施行された。アンケートは研修基幹施設の産婦人科責任者に対して行われ、個人情報扱っていない。

C. 研究結果

研修施設 628 施設中、257 施設（回収率 41%）より回答を得た。これらの施設からの 2015 年の分娩総数は 144,427 件（施設別 0～3403 件/年、年間 400 件台が 38 施設で最多）となった。

（1）妊婦スクリーニングの有用性

257 施設の中では、梅毒合併妊婦数は、2011 年 28 例、2012 年 25 例、2013 年 31 例、2014 年 29 例、2015 年 53 例であり、2015 年の倍増していた。2015 年については分娩数から算定すると妊婦の 0.04% が梅毒を合併していることになり、対象施設が医育機関に限定されていることが影響している可能性が示唆された。

梅毒陽性者のうち、顕性感染者は 10% のみで 90% は妊婦スクリーニングで検出されており、スクリーニングの有用性が確認された。

同じ対象施設の中で、2015 年に倍増したことは特記すべきことであり、この数年の全数報告数増加を反映していると考えられた。

（2）梅毒合併妊婦の背景

年齢分布では、10 代 11%、20 代 48%、30 代 39%、40 代 2% と一般的な妊婦の年齢分布と比して若年であり、10-20 代が 60% を占めていた。非妊娠女性の梅毒罹患年齢を反映していると考えられた。

梅毒合併妊婦の 13% が未受診妊婦、12% が不定期受診妊婦であることは特質した結果である。未受診、不定期妊婦は、近年、本邦の周産期管理において大きな問題となっている社会的ハイリスク妊婦である。梅毒感染妊婦の 4 人に 1 人が同時に社会的ハイリスク妊婦である点は特記すべきである。未受診もしくは不定期受診であることから、妊娠 4 か月での梅毒スクリーニングは受けておらず、梅毒感染の診断・治療が遅れることは明らかである。スクリーニング未実施 15% はそれを反映している。

（3）梅毒合併妊婦の治療

診断が妊娠中期～産後となった妊婦が約 25% を占めていることから、母体への治療開始が妊娠 21 週以降となったのが 18%、無治療が 9% であった。胎盤が完成する妊娠 20 週までに治療されていない妊婦が 27% となり、胎盤への感染が成立した可能性が否定できない。

妊婦健診の梅毒スクリーニングでは、社会的

ハイリスク妊婦には対応できないことが窺える。

(4) 先天梅毒とその予後

257 施設の中では、先天梅毒と診断された児は 2011～2015 年の 5 年間で 21 例であった。児の経過をフォローされた梅毒合併妊婦が 5 年間で 152 例であった、そのうち 14%の児が先天梅毒と診断された（先天梅毒の年次推移は不明）。梅毒の診断時期が遅いために経胎盤感染から児への感染が成立していたと推測される。

先天梅毒の予後は、21 例中、5 例が死亡、4 例が後遺症有りとなった。先天梅毒を発症すると予後不良であることが確認された。

D. 考察

アンケート調査対象の特徴として、産婦人科専門医の研修基幹施設であることから全国大学病院、周産期センター、地域中核病院が大半であり、診療所は含まれていない。梅毒合併妊婦は、これらの高次医療機関に紹介されるために今回の結果は実態よりも高い数値となっている可能性があるが、一方で梅毒合併妊娠の診断・治療は比較的容易であること、産科ガイドラインで明記されていることから一次医療機関である診療所レベルで十分対応できる。一次医療機関で梅毒と診断された妊婦は、そのまま診療所単位で管理されている可能性もある。したがって、本全国調査の実数は必ずしも全数を反映しているとは限らず、多く見積もられる可能性も少なく見積もられる可能性もあることをまず留意すべきである。

その上で、本調査では、年間約 14 万分娩を対象としていた。本邦の年間出産数は約 100 万件であることから、1/7 の分娩数をカバーしていることになる。上述の理由から、単純に数字を 7 倍にするわけにはいかないため、実数報告数との摺り合わせが必要であろう。ただし、近年の実態の傾向は把握できたと考えている。

本調査において最も重要な点は、梅毒合併妊婦の 4 人に 1 人が社会的ハイリスク妊婦であり、そのために梅毒の診断が遅れるか診断されずに母子感染が成立するリスクが高いことになる。妊婦健診スクリーニングによって梅毒の次世代への伝播を予防することができない点が大きな課題である。

一方で、妊婦健診をきちんと行っている一般妊婦においても梅毒陽性となることから、梅毒

が広く蔓延していることが窺える。

社会的ハイリスク妊婦の背景は、既に検討されており、望まない妊娠、経済的貧窮、家庭内 DV などがある。これらの背景と梅毒感染のリスクの背景がオーバーラップする可能性を検討していく必要がある。さらに、社会的ハイリスク妊婦の先には、児童虐待があることが知られている。妊婦健診を受診しないこと自体が児への関心の無さ、無責任さを示しており、一種の虐待とも言える。本調査の結果から、梅毒合併妊婦の増加と先天梅毒の増加は社会的ハイリスク妊婦への社会としての対応を必要とすることが示唆された。

E. 結論

梅毒報告数の増加は産科医療機関においても把握できた。妊婦健診の梅毒スクリーニングは不顕性感染者を検出でき有用である。妊婦健診から見た梅毒発生数は 2015 年に明らかに増加した。梅毒合併妊婦の内訳を見ると、3/4 は妊婦健診を通常に受診している妊婦であり、1/4 は未受診か不定期妊婦であった。若年者を中心とする一般女性への蔓延が窺われる。先天梅毒の発生も診断・治療の遅れが原因と考えられ、これらの社会的ハイリスク妊婦に対する対応が急務であると考えられた。この点は医療システムだけでなく、社会的な課題と言える。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

無し

G. 研究発表

1. 論文発表
無し

2. 学会発表

(1) 川名 敬、産婦人科における話題のウイルス疾患、新潟産科婦人科感染症研究会、新潟、2017.2.11

(2) 川名 敬、性感染症によって発症しうる母子感染症～新たな脅威～、第 29 回日本性感

染症学会、岡山、2016.12.4

(3) 川名 敬、外陰疾患・性感染症のピット
フォーラム、鴨和感染症フォーラム、京都、
2016.10.29

| | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | 無し |
| 2. 実用新案登録 | 無し |
| 3. その他 | 無し |

H. 知的財産権の出願・登録状況

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
平成 28 年度 分担研究報告書

梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と効果的な介入手法に関する研究
分担課題 口腔梅毒病変の核酸検査の検討に関する研究

研究分担者 中山 周一 （国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官）

研究要旨

今年度の研究期間では唾液検体を得ることができなかつたため、予備的検討としてできるだけ検体から DNA 濃度が高い画分を得る条件を検討して標準プロトコルを仮固定した。今後実際の唾液検体での同プロトコルでの DNA 濃縮精製が行えるかを検討していくことが必要である。

また付随的に、従来から行っている検体由来梅毒トレポネーマの分子型別を進行させると共にマクロライド製剤による治療が行われるケースで問題となる（日本では推奨されていない）23S rRNA のマクロライド耐性型変異の検出を時系列に行い、2016 年以降国内でも耐性型梅毒トレポネーマが急激の増加していること、それが最頻分子型 14d/f での増加によるものであることを明らかにした。

A. 研究目的

梅毒は 2010 年以降増加しており、感染リスクと報告数の増加の原因分析を踏まえ対策を講じることが急務となっている。

この目的のためには、できるだけ多くの症例で従来の主流な血清抗体診断法とは別に起因菌梅毒トレポネーマの核酸検出による早期確定診断試行による迅速な患者把握が重要である。さらにそれに続く個々の症例での梅毒トレポネーマの分子型別試行によって流行型推定、感染ルート推定とともに患者情報との組み合わせによってリスク集団の科学的根拠を伴う方法での推定を行い、説得力のある介入につなげる必要がある。

このことから、できるだけ幅広く核酸検出を行う検体を収集することが必要である。

近年、口腔内の病変を呈する梅毒の症例が増加しており、従来収集してきた性器関連病変のみでは疫学調査に用いるターゲットとしては不足することが考えられることから口腔内の病変も多数収集する必要がある。

ここで問題となるのは、一般に梅毒病変は無痛性の場合が多く、病変やそれ由来漿液の採取は患者にそれほどの負担を与えないのだが、口腔病変に関しては有痛性の場合は比較的によく、擦過を行うと患者 QOL 低下につながる可能性があり、その点についての配慮が最終的に収集検体の絶対数低下をもたらす可能性である。

このため、できるだけ患者負担を和らげるやり方での口腔内病変、それ由来漿液採取法を考え、「唾液の採取」を着想し、その有効性を検討することを目的とした。基礎科学的視点からは採取した唾液中に梅毒トレポネーマ DNA が検出された場合、それがもともと唾液中に存在したのか、採取時に病変に触れることで混入したのかの区別がつかないという問題があるが、当面の目的として QOL 低下をできるだけ避ける検体採取法検討、に目標を絞ることとした。

また、従前より検討調査を続けている梅毒疑い病変からの PCR による梅毒トレポネーマ DNA 検出とそれに続く多型遺伝子の PCR 産物解析による分子型別をこの課題の一部としても続行した。近年海外では梅毒症例数の増加とともにマクロライド耐性型梅毒トレポネーマの増加が報告されていることから、過去の検体の再解析を含めて、できるだけ多くのものについて 23S rRNA の遺伝子を解析し、年次ごとの耐性型梅毒トレポネーマの分布について情報を得ることを目的とした。

B. 研究方法

従前より共同研究を行なっている医療機関からの疑い検体、及び梅毒トレポネーマ DNA 検出 PCR 試行の個別相談機関からのそれら、口腔病変がある場合にはともに採取可能であれば唾液サンプルも同時採取を依頼し、それらを材料とした。

基本的に梅毒トレポネーマ DNA 検出 PCR は(1,2)の方法に、梅毒トレポネーマ多型遺伝子の PCR 産物を用いた分子型別は(3)の方法に、23S rRNA のマクロライド耐性変異解析は(4)の方法にそれぞれ従った。

なお、後述するように今次期間内においては入手できた唾液サンプルがセットとなった口腔病変検体が1検体のみであり病変そのもの、唾液とも梅毒トレポネーマ DNA 陰性であったため、実際の検討には至らなかった。

そこで、他の検体種を用いての DNA 抽出法の最適化を試行した。詳細は研究結果の項に記述する。

(倫理面への配慮)

入手した検体は全て連結不可能匿名化済みでヒト由来材料を用いた研究に関する倫理審査対象とはならない。ただし、検体採取に際して現在は実施頻度が低下しているのが現状である病変部擦過を行う場合があり、これが QOL 低下に繋がる可能性を鑑み、担当医師が研究の内容を説明、病変検体提供の患者同意書が得られた場合のみ採取をお願いすることは最低のルールとして維持している。

C. 研究結果

従前より行なってきたおり、今次研究期間においても継続、時系列変化を注視している梅毒トレポネーマ DNA 検出 PCR、陽性検体での分子型別、23S rRNA 解析に関して、まずサマライズする。

2017年3月10日現在、2012年以来梅毒トレポネーマ DNA 陽性検体 110 例中 71 例で分子型別成功となった。世界的に最頻型の 14d/f が日本でも優勢で 46 例を占める。11o/c と 14d/c が各 4 例でそれに次ぐ。これまで国際誌に 1 例しか報告の無かった 11o/c が 4 例あることは日本の流行型サーキュレーションを特徴づけるものとなる可能性があり、今後とも注視する必要がある。以下、14e/f が 3 例、10b/a、14b/c、14d/g

が各 2 例、他に 8 種の単一例が検出された。型別成功 71 例につき 23S rRNA マクロライド耐性型変異検出を試行し、39 例について成功した。全体の分布は 29 例が野生型、10 例が耐性型であり、2012 年～2017 年 3 月上旬の総耐性率は単純には約 1/4、25.6%となった。

しかし、耐性率及び耐性変異を有する梅毒トレポネーマの分子型についてその分布を年次ごとにまとめるとその時系列変化には際立った特徴が認められた。簡単のため、便宜的に 2012 年～2015 年までと 2016 年～2017 年 3 月との 2 期に分けて比較記述する。

2012 年～2015 年は分子型別、23S rRNA 変異検出とも成功した 27 例中 3 例 (11.1%) が耐性型、これに対して 2016 年～2017 年 3 月は同上 12 例中 7 例 (58.3%) と急激に上昇した。

さらに耐性変異を持つ梅毒トレポネーマの分子型にも 2012 年～2015 年と 2016 年～2017 年 3 月とでは際立った違いが観察できた。

すなわち、2012 年～2015 年の 3 例は 11o/c が 1 例と 14d/g が 2 例であった (我々が検出した 2 例の 14d/g は両方ともに耐性型であったことになる)。11o/c は世界的に検出例が少なくこの型の耐性保有の原因、意義に関しては今後の検討を待つ必要がある。分子型 14d/g は米シアトル市域で 2005 年以降、それまで主流であった 14d/f 型を凌駕し、またマクロライド耐性変異保有と強くリンクすることが報告されている型であり(5)、その出現と拡散はロンドンにおいても確認されている(6)。

我々の検出した 2 例の分子型 14d/g の耐性型はこの海外で成立したクローナルな株が輸入された事例と捉えるのが妥当である。

2016 年～2017 年 3 月の 7 例の耐性型は 1 例の例外(10d/f)を除いて他の 6 例は全て 14d/f であった。また、注目すべきことに、この期間においては型別、23S rRNA 変異検出とも成功した 14d/f は全て耐性型であり、野生型の検出は皆無であった。(上述 11o/c 同様 10d/f も世界的に検出例が少なく、その耐性保持の意義は今後の検討を待つ必要が有る。)

このように、2016 年以降、分子型別最頻型の 14d/f と強いリンクを有する急激な耐性型梅毒トレポネーマ増加が国内で進行していることが判明した。

唾液検体を用いての梅毒トレポネーマ DNA 検出法開発の検討に関しては、今次期間内においては入手できた唾液サンプルがセットとなった口腔病変検体が 1 検体のみであり病変そのもの、唾液とも梅毒トレポネーマ DNA 陰性であったため、実際の検討には至らなかった。

そこで、他の検体種を用いての DNA 抽出法の最適化を試行した。

これには以下の背景がある。すなわち、従来我々は病変由来漿液の綿棒スワブの場合、その TE バッファーでの懸濁液をそのまま梅毒トレポネーマ PCR の鋳型としてきた。この検体種では DNA 総量が少ないものの検体中の PCR 反応阻害要因となる物質も少ないと考えられ、実際に加熱処理上清やそのエタノール沈殿サンプルを使用するより懸濁液を直接使用する方が PCR 産物のバンドが強くなることを当初いくつかの検体で経験したこ

とによる。

これに対して、他の検体、すなわち、血液、血清、鼻汁、髄液や病変組織肉片では PCR 反応阻害要因となる夾雑物が多く含まれると考えられることから、検体から Qiagen 製の DNeasy Blood & Tissue Kit を用いて、DNA 精製を行い、それを PCR 反応の鋳型としてきた。この際、プロトコルはこの Kit の推奨に準じて、最終抽出バッファー量 100 μ l で行ってきた。この条件は「DNA の回収率と DNA の回収総量」が最良となる事を企図したプロトコルである。

しかし、今後検査対象とする唾液は上に挙げた血液、血清、鼻汁、髄液や病変組織肉片以上に、特に蛋白質性の阻害夾雑物が多いと考えられる上に、目的とする DNA 量は極めて微量であると考えなければならない。このような条件では検出 PCR での感度を可能な限り向上させる上では、「DNA の回収率と DNA の回収総量」よりも「最終抽出サンプル中の DNA 濃度」を最大化することが必要である。

このため、通常のプロトコルを変更し、最終抽出バッファー量を減少させることを着想した。

この予備検討のため漿液スワブサンプルの 1 つを選び、DNeasy Blood & Tissue Kit で抽出バッファー量を 100 μ l とした場合と 20 μ l とした場合、および後者ではカラム抽出ボイドピークのずれを考慮してさらに同じカラムから計 3 回の 20 μ l 抽出物それぞれを回収し、それぞれの DNA 濃度を比較した。なお、20 μ l よりさらに最終抽出バッファー量を減らすとカラムデッドボリュームが大きくなり、実際の回収サンプル量が場合によっては 5 μ l 未満となるためこれ以上の減量は断念した。

結果はこの検体では 100 μ l 抽出、20 μ l 抽出 1 回目、20 μ l 抽出 2 回目、20 μ l 抽出 3 回目の順に、サンプル DNA 濃度がそれぞれ 4.1 ng/ μ l、7.9 ng/ μ l、0.2 ng/ μ l、検出限界未満であった。

以上より最終抽出は 20 ng/ μ l の 1 回目を使用することが最善と判断した。

今後、最初に入手される唾液検体で同様の予備検討を行った後、最終的に唾液検体 DNA 抽出プロトコルを固定し、実際の PCR での検出試行へと進む事を予定している。

D. 考察

既述のように、今次期間中には「梅毒トレポネーマ DNA 陽性の口腔検体と同時採取の唾液検体」が 1 例も入手できなかったため、結果の項に記したような予備検討を行うに留まった。今後そのような検体が入手できた際に再度、現時点での予備的

プロトコルでの DNA 抽出法の有効性を確認する必要がある。また、今次期間中に気づいたことで、検体を送付していただく協力医療機関としては、疑い口腔検体を採取する場合に唾液採取まで気が回らないケースが多いことが判明したため、この場合の同時採取願いを折に触れ繰り返す必要がある事を認識した。

従前より継続してきている梅毒トレポネーマ DNA 検出、分子型別を続行し、近年のか海外でのマクロライド耐性型梅毒トレポネーマ増加報告に鑑み過去検体の再検討を含め 23S rRNA 解析を行った結果、国内では 2016 年から分子型 14d/f と強くリンクして耐性型が急激に増加している実態が明らかになった。

14d/f は世界的にも最頻型である。上記観察結果を説明する要因として、海外で成立した 14d/f 型耐性株が日本に 2016 年初頭ころに上陸した可能性と国内にすでにサーキュレートしていた 14d/f 型がマクロライド耐性変異を獲得した可能性とがある。

日本の性感染症治療ガイドラインは過去に梅毒に対するアジスロマイシン治療を認可したことはない。しかし、このガイドラインへの国内臨床医のコンプライアンスの実態、それと認識せず、他の病原体への治療と認識しての結果的な梅毒トレポネーマ感染者へのアジスロマイシン等マクロライド系薬剤の投与機会頻度の実態は不明である。

アジスロマイシン不使用の性感染症治療ガイドライン遵守の再アナウンス、及び、上記のコンプライアンスの実態調査が必要と考えられる。

E. 結論

擬似サンプルを用いて唾液サンプルからの DNA 抽出法の最適化を検討し、暫定的にプロトコルを決定した。今後真の唾液サンプルを用いた本プロトコルの有効性検討、確認が必要である。

梅毒トレポネーマ分子型別とマクロライド耐性変異の分布調査を引き続き行い、2012~2015 年に比較して 2016 年以降、最頻型 14d/f と強いリンクを持ってマクロライド耐性梅毒トレポネーマが急激に増加している実態を明らかにした。

引用文献：

(1) Orle KA, Gates CA, Martin DH, et al. Simultaneous PCR detection of *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, and Herpes Simplex Virus type 1 and 2 from genital ulcers. *J Clin Microbiol.* 1996; 34:49-54.

(2) Liu H, Rodes B, Chen C-Y, et al. New tests for Syphilis: rational design of a PCR method for detection of *Treponema pallidum* in clinical specimens using unique regions of the DNA polymerase I gene. *J Clin Microbiol.* 2001; 39:1941-1946.

(3) Marra CM, Sahi SK, Tantaló LC, et al. Enhanced molecular typing of *Treponema pallidum*: geographical distribution of strain types and association with neurosyphilis. *J Infect Dis.* 2010; 202:1380-1388.

(4) Lukehart SA, Godornes C, Molini BJ, et al. Macrolide resistance in *Treponema pallidum* in the United States and Ireland. *N Engl J Med.* 2004, 351:154-158.

(5) Grimes M, Sahi SK, Godornes BC, et al. Two mutations associated with macrolide resistance in *Treponema pallidum*: increasing prevalence and correlation with molecular strain type in Seattle, Washington. *Sex Transm Dis.* 2012; 39:954-958.

(6) Tipple C, McClure MO, and Taylor GP. High prevalence of macrolide resistant *Treponema pallidum* strains in a London centre. *Sex Transm Infect.* 2011; 87:486-488.

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

1) N. Itoh, H. Katano, S. Nakayama, H. Kurai. Gastric syphilis. *Internal Medicine.* 2017. (accepted, in press)

2. 学会発表

1) Ichiro Itoda, Jutarō Hata, Kayoko Hayakawa, Satoshi Kutsuna, Yasuyuki Kato, Shu-ichi Nakayama, Tomoko Morita-Ishihara, Ken Shimuta, Makoto Ohnishi. Clinical features of syphilis patients detected by polymerase chain reaction and molecular typing of *Treponema pallidum* at an urban community-based STI clinic in Japan. 19th IUSTI-AP, Dec 2016, Okayama.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|--|-------------------|--------------------------|---------------------------------|-----|---------------------|
| N Itoh, H Katan o, <u>S Nakayama</u> , H Kurai. | Gastric syphilis. | Internal Medicine. | | | 2017. (in press) |
| 村上邦仁子、小林 信之、新開敬行、 カエベタ亜矢、 杉下由行、錦信 吾、有馬雄三、 大西真 | 東京都における梅毒届 出状況 | 病原微生物検 出情報 (IAS R) | Vol. 38. N o. 3 (No.44 5) | | 2017.3. |