

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

(H28-新興行政-一般-008)

平成28～29年度 総合・分担研究報告書

研究代表者 大西 真

平成30年(2018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 28～29 年度 総合研究報告書

目次

I. 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	1
II. 異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究	
研究分担者 有馬 雄三 国立感染症研究所	8
妊婦健診における梅毒スクリーニングのデータ収集・分析に関する研究	
研究分担者 川名 敬 日本大学医学部 産婦人科	17
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	21
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	31

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 28～29 年度 総合研究報告書

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)
研究分担者	有馬雄三	(国立感染症研究所感染症疫学センター)
研究分担者	川名 敬	(日本大学医学部産婦人科)
研究分担者	中山周一	(国立感染症研究所 細菌第一部)
研究協力者	錦 信吾	(国立感染症研究所感染症疫学センター)
	山岸拓也	(国立感染症研究所感染症疫学センター)
	高橋琢理	(国立感染症研究所感染症疫学センター)
	金井瑞恵	(国立感染症研究所 細菌第一部)

研究要旨

異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究：記述疫学解析、梅毒サーベイランス評価、東京都と連携し、症例対照研究を実施した。東京都の自治体、4 医療機関と連携し予備調査を実施後、本調査を 2017 年 6 月から開始した。症例対照研究の暫定結果から、梅毒感染例と社会的背景、最近 6 か月以内の性行為相手の人数、性行為の頻度、コンドームの使用頻度、性的サービスとの関係性の有無が関連している事を認めた。疫学分析を踏まえた症例対照研究から、異性間性的接触による梅毒感染におけるリスク要因およびリスク集団をより明確化できたことより、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繋げる事が可能と考えた。

妊婦健診における梅毒スクリーニングのデータ収集・分析に関する研究：日本産科婦人科学会のもとで、妊婦健診での梅毒感染妊婦の診断、治療について全国調査を実施した。2011～2015 年の 5 年間で梅毒合併妊婦 166 名であったが、2015 年で倍増した。梅毒合併妊婦の 60%が 10-20 歳代であった。また 25%は妊婦健診が未受診もしくは不定期受診妊婦であった。20 例 (14%) で先天梅毒が発生していたが、その 75%は未受診もしくは不定期受診妊婦であり、スクリーニング検査が機能しなかった。先天梅毒に至った妊婦へのアプローチは医療現場では難しく、梅毒の流行自体を終息させるしかないと考えられた。一方、梅毒スクリーニングで発見された妊婦の多くは抗菌剤投与によって母子感染症は予防できていることもわかった。

病原体 DNA の検出およびタイピング：唾液検体からの梅毒トレポネーマ DNA 検出系を開発した。梅毒の臨床症状は多彩であることから、本検査法の臨床的意義は限定的であるが補助的な利用は可能である。また、分子型別とマクロライド耐性に関連する 23S rRNA 変異の検出を時系列的に行い、2016 年以降国内でも耐性型株が増加していることを明らかにした。精緻な分子疫学解析法確立を目的として、ゲノム解析手法を確立した。国内症例由来 16 検体からゲノム情報し、比較解析を実施した。異性間性的接触による症例と同性間性的接触による症例とは異なる集団である可能性があり、また諸外国の感染事例と直接的な関連を示唆するデータは得られなかった。ゲノム解析を継時的に実施することでより確実な情報を得ることができると考える。

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

分担研究者として、有馬が「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究」を、川名が「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、そして中山が「病原体のタイピング解析」を実施した。その詳細は各分担報告に詳述されている。

(倫理面への配慮)

詳細は各分担研究において詳述されている。国立感染症研究所の倫理委員会の承認を得て実施した。感染症発生動向調査のデータを用いた研究においては、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。症例対照研究に於いては、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った。本研究（は、国立感染症研究所の倫理委員会の承認を平成 29 年に得た。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。

また、妊婦健診における梅毒スクリーニングのデータ収集・分析では、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、個人情報は扱っていない。

C. 研究結果

1. 異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究

1) 感染症発生動向調査の記述と情報発信

四半期毎に梅毒届出症例の情報還元を 2017 年 5 月から開始した（「日本の梅毒症例の動向について」

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/id/1626-di>

[sease-based/ha/syphilis/idsc/idwr-sokuhou/7816-syphilis-data.html](https://www.niid.go.jp/niid/ha/syphilis/idsc/idwr-sokuhou/7816-syphilis-data.html))。時・人・場所

のデータの記述と共に、地域流行・変動に注目し、情報発信を強化した。性感染症の国際学会で、我が国における梅毒の発生動向の発表を行い（「Rapid Increase in New Syphilis Cases in Japan」）、その後、詳細な解析と考察を含む論文（「Rapid increase in reports of syphilis associated with men who have sex with women and women who have sex with men, Japan, 2012-2016」）として、国内外に広く情報提供した。

東京都に特化した動向に於いては、若年女性の急増、報告数の増加と伴った地域拡散、そして届出が診療所からが多い点等について注目し、広く情報還元した（「東京都における梅毒届出状況」病原微生物検出情報 (IASR)）。また、本解析から得られた結果は、都民向けに、感染症情報センターのホームページ、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ズレターや HIV/エイズ研修会を通して、広く情報発信した。

2) サーベイランス評価

サーベイランス従事者における現行のシステムの受容性及びデータの完全性は高かった。データエラーについては、カルジオリピンを抗原とする検査の自動化法に係る誤分類が 23%存在しており、改善すべき課題であった。発生届については、症状、診断方法、感染経路の様式・記載内容について多くの指摘を得た。公衆衛生対策への活用の観点から、①女性における妊娠の有無、②居住地、③国籍、④性産業従事歴および利用歴、⑤梅毒の既往の有無、⑥HIV 感染症合併の有無、⑦受診動機の 7 つが追加項目として検討された。結果として、システムの受容性は高く、システム変更のための素地は整っているものの、改善すべき課題が複数存在していることが確認された。

3) 東京都に於ける症例対照研究

東京都と協力し、都内の 4 医療施設から研究への協力の同意を得て、倫理審査承認後、2017 年 4 月から 6 月にかけて、アンケートの内容を含む研究方法の確立など研究実施の妥当性を評価する目的で、パイロット調査を実施した。パイロット調査の結果より、研究の妥当性、データの分散を認め、調査実施が可能と判断した。一方、記入欄の形式や設問文の表現や選択肢の問題を認め、改訂した。2017 年 6 月より本調査を開始した。2017 年 6 月～2018 年 2 月にかけて、男性 182 例、女性 506 例より回答を得た。最終

的に解析対象とした回答は、男性 157 例（症例 60 例、対照 97 例）、女性 454 例（症例 57 例、対照 397 例）であった。現時点で得られた主な知見について、有馬による平成 29 年度分担報告書を参照。

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

以下の 4 項目において解析がなされた。詳細は川名による分担研究報告を参照。

- 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

3. 病原体のタイピング解析

以下の 4 項目において解析がなされた。詳細は中山による分担研究報告を参照。

- 1) 分子型別（図 1）
- 2) 23S rRNA 解析
- 3) 唾液検体を用いての梅毒トレポネーマ DNA 検出法開発
- 4) ゲノム解析

分子型別に関しては 156 検体中 82 検体において梅毒トレポネーマ DNA が検出され、その内 58 検体について分子型別が決定された。異性間性的接触による感染事例では 14d/f 型が 80%程度を占めるが、同性感性的接触による感染事例では 35%程度であり、多様な分子型が検出された。

ゲノム解析に関しては、国内株間及びそれらと海外株との差異、類縁関係を総体的に把握するため、培養を要しない方法での梅毒トレポネーマ DNA 増幅と選択濃縮を行い、次世代イルミナシーケンサーでゲノム配列を取得し、株間比較を行った。分子型別、23S rRNA 解析とも成功したものから、由来患者の性別、性的嗜好をできるだけ均衡化させた集団にすることも目指して最終的に 39 検体を選択した。

Treponema pallidum Strain Nichols のゲノム配列を reference とし、ゲノムカバー率 90%以上で重複リード深度が 10 以上となった検体は 16 例得られた。この 16 例と、先行する海外株集団でのゲノム解析報告で使用された検体で、データにアクセス可能な株のうち同じ基準を満たした 29 株、計 45 株間での連関を解析し、Minimum Spanning Tree で図示した（図 2）。異性間性的接触で感染した男性、及び女性由来株は SS14 グループに属する比較的均一な遺伝的集団であることと考えられた。しかしながら、国外で得られたゲノムデータと一致するものは

なかった。

D. 考察

1. 異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究

我が国における異性間性的接触による梅毒感染リスクに関し評価した初の症例対照研究が実施された。本研究結果における重要事項としては、①社会的背景因子と梅毒感染の相関が示唆されたこと（男女共に最終学歴が高等学校以下のもの、女性でフルタイムの雇用形態でないものが症例に多い）、②男女共に海外の既存の報告のように性行為相手の人数および性行為の頻度の増加は、異性間性的接触による梅毒感染と概ね相関がみられたこと、③女性において、金銭などのやりとりのある性的サービスと梅毒感染の関係が示唆されたこと（性的サービスの主流は店舗型と非店舗型、男性では症例の約 8 割が性的サービスありと回答）、④男女ともに性行為（膣・アナル）で毎回コンドームを使用するもの、男性において梅毒増加を認識しているものが対照に多かったことが挙げられる。

男性においては、CSW（commercial sex worker：性産業従事者）の利用者、若年層を中心とした性的活動性の高い集団へのアプローチが対策を検討する上で考慮される。女性においては、CSW を中心とした高リスク（学生を含む）と想定される集団から、性行為相手の人数が少ない集団の一部までを含む啓発等の対策の検討が望まれる（女性に於いては、受診動機として「性的関係のあった相手が梅毒と診断された」と回答したものの割合が症例に多かった）。今後は、コンドームの使用や梅毒増加についての予防・啓発の促進など、対象者毎に適したアプローチで、対策を検討していくことが必要と考える。

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

今回の実態調査は、専門医機構の基幹病院に対して実施されており、一般診療所の症例は含まれていない。そのために、厚労省・感染研からの全数報告数とは数字がずれている。しかし、妊婦に特定した梅毒報告数は過去には報告がない点で有用な情報である。妊婦まで梅毒が蔓延してきている実態を把握できたことから、次世代への影響も懸念され始めていることが窺える。先天梅毒の発症には、社会的ハイリスク妊婦の問題がある。これは医療行政や医療機関の努力では解決することが難しい問題である。梅毒の流行自体を終息させることが肝要であると考えられる。

3. 病原体のタイピング解析

梅毒の臨床症状は多彩であることから、唾液を用いた梅毒トレポネーマ DNA 検出の臨床的意義は限定的である。しかしながら、感染源ともなりうる梅毒早期顕症 II 期の梅毒性粘膜疹の診断は困難であり、唾液検体を用いた検証が可能となると、新しい診断ツールになりうる。本研究で検討した検体に関して、患者の病態等での選択バイアスの有無は明確ではない。今後それらの情報を同時取得しながらの検体収集を行う必要があると判断した。

23S rRNA 塩基配列解析からは、近年国内で伝播している梅毒トレポネーマは、アジスロマイシン等マクロライド系薬剤に耐性であることが示唆された。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。

日本の MSM 由来株は異性間性的接触に感染症例由来株と比較して多様であることが分子型別結果から示唆された (図 1)。また、ゲノム解析からも裏付けられた (中山分担報告)。日本の異性間性的接触で感染したと考えられる男性および女性由来株は、比較的均一な集団を形成し、世界的に伝播の主流と考えられる SS14 グループであることが判明した (図 2)。しかしながら、単一のクローンによる感染が疑われる症例は限定的であった。MSM 由来株にも SS14 グループに属するものが存在するが、異性間性的接触に感染症例由来株とは詳細な解析では区別が可能である。これらの結果は現在の国内の梅毒流行に参画している梅毒トレポネーマは単一集団ではなく、複数の集団が同期的にサーキュレートしていることを強く示唆している。

E. 結論

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、急務である。感染症発生动向調査のまとめ報告や症例対照研究より得られた知見を、国や地方自治体での具体的な対策に生かすことが必要と考える。本研究による強化情報収集によって、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が可能になった。また、現状に即し、より効率的かつ有用なシステムを目指し、発生届の改訂を検討する必要があると考える。

一般女性からの抽出群とも言える妊婦において、2014 年以降梅毒感染者が増加していることが

明白となった。性産業従事者のみならず、非従事者にも蔓延している。さらに、妊婦健診スクリーニングを受けない未受診・不定期受診妊婦が、先天梅毒の発生に深く関与していることから、これらの社会的ハイリスク妊婦への梅毒・先天梅毒の啓発も急務である。次世代へ影響する感染症として、国政として梅毒の流行終息に取り組む必要があると考えられた。

唾液検体を用いた検査ツールおよび分子型別解析限定的ながら利用可能であることが示された。全ゲノム解析は詳細な症例間の関連性を検索するために有用であることが示された。異性間性的接触による症例と同性間性的接触による症例とは異なる集団である可能性があり、また諸外国の感染事例と直接的な関連を示唆するデータは得られなかった。ゲノム解析を継時的に実施することでより確実な情報を得ることができると考える。現在解析過程にある 16 症例の追加解析が待たれる。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. N. Itoh, H. Katano, S. Nakayama, H. Kurai. Gastric syphilis. Internal Medicine. 2017. 56:1753.
2. Koizumi, Y., Watabe, T., Ota, Y., Nakayama, S., Asai, N., Hagihara, M., Yamagishi, Y., Suematsu, H., Tsuzuki, T., Takayasu M., Ohnishi, M., and Mikamo, H. Cerebral Syphilitic Gumma can arise within months of reinfection: a case of histologically proven *Treponema pallidum* Strain Type 14b/f infection with Human Immunodeficiency Virus positivity. (2018) Sex Transm. Dis. Accepted.
3. Takahashi, Takuri; Arima, Yuzo; Yamagishi, Takuya; Nishiki, Shingo; Kanai, Mizue; Ishikane, Masahiro; Matsui, Tamano; Sunagawa, Tomimasa; Ohnishi, Makoto; Oishi, Kazunori. Rapid increase in reports of syphilis associated with men who have sex with women and women who have sex with men, Japan, 2012–2016. Sex Transm Dis. 2018 Mar;45(3):139-143.
4. 川名 敬、感染症フォーカス、妊婦と感染症、INFECTION FRONT, 39: 8-10, 2017

2. 学会発表

1. 中山周一、金井瑞江、井戸田一朗、本郷偉元、亀岡 博、澤村正之、濱田 貴、錦 信吾、大西 真。国内における 2016 年からのマクロライド耐性型 *Treponema pallidum* の急激な増加。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。
2. 金井瑞江、中山周一、李 謙一、志牟田 健、大西 真。近年本邦で流行する梅毒トレポネーマのゲノム解析法の検討。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。
3. 澤村正之、中山周一、錦 信吾、有馬雄三、大西 真。梅毒患者の受診行動と診断経緯に関する検討。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。
4. 錦信吾、有馬雄三、山岸拓也、高橋琢理、山岸拓也、内田千秋、佐々木貴子、澤村正之、濱田貴、杉下由行、大西真。第 30 回日本性感染症学会学術大会。「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究：パイロット調査からの結果」。2017 年 12 月。
5. 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
6. 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
7. 川名 敬、産科領域と関連のある性感染症～次世代へ影響する性感染症～、日本性感染症学会関東甲信越支部会、2017. 9. 2、東京
8. 川名 敬、産婦人科感染症とその随伴疾患～その予防をめざして～、第 17 回岡山県西部地区産婦人科研究会、2017. 9. 21、岡山
9. 川名 敬、産婦人科に関連する感染症と最新知識、大分感染症研究会、2018. 2. 22、大分
10. 大西 真、国内の梅毒の現状、日本細菌学会、2018. 3. 29、福岡

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

図 1. 異性間、同性間性的接触による感染事例検体からの分子型別の多様性

国内で伝播する梅毒トレポネーマ分子型別 (2017)

156 specimens: from 5 clinics in Tokyo and Osaka

82: positive for *T. pallidum* DNA

58: *T. pallidum* molecular typing

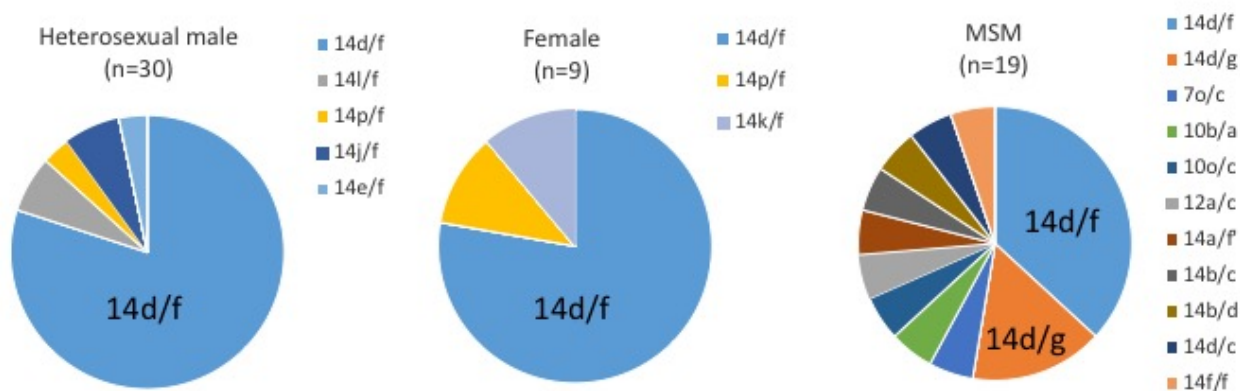
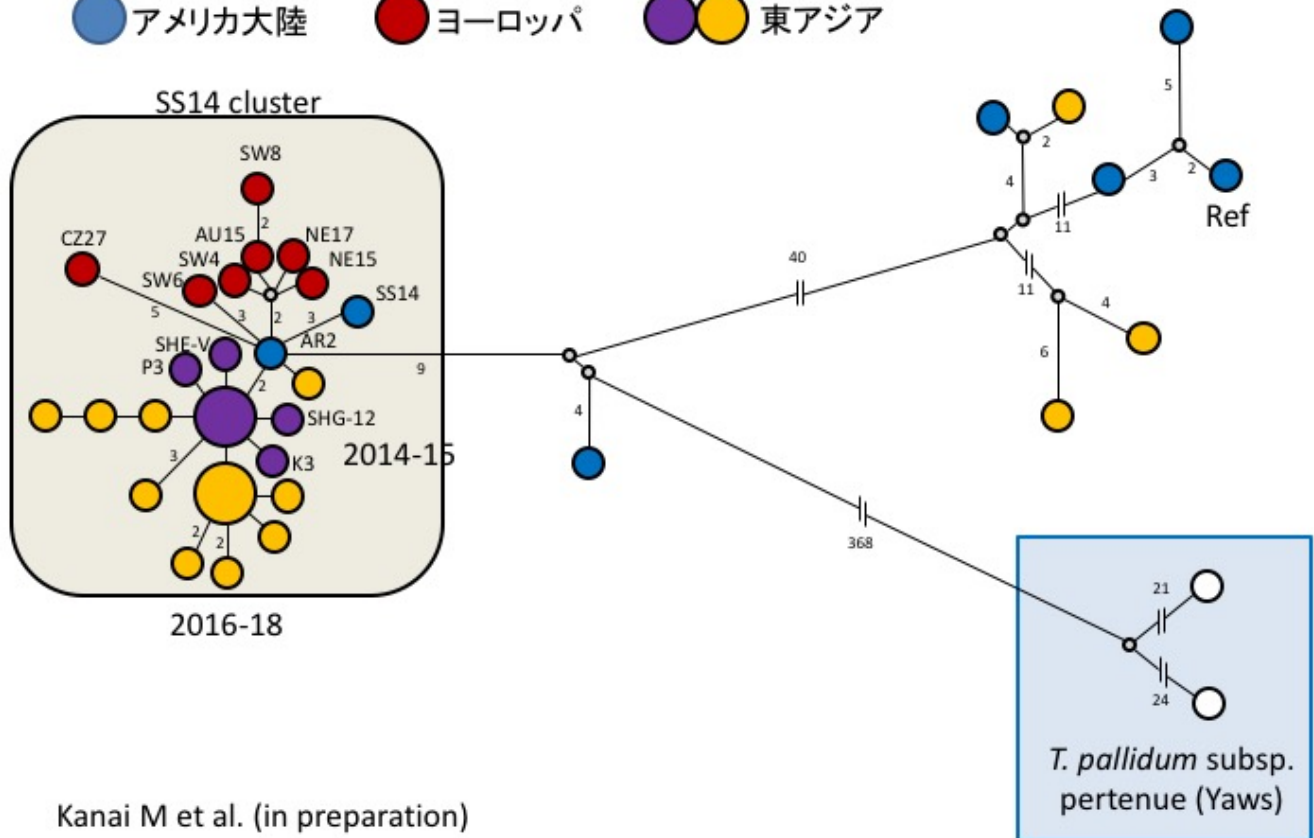


図2. ゲノム情報が得られた国内外(日本16株、海外29株) Minimum Spanning Tree による遺伝的連関図。株間の SNP 数を株間の連結実線に数字で付した。丸の大きさは同一ゲノム型を示す検体数によって異なる。基本的に同一ゲノム型を示すものは、2つの例外を除いて存在しなかった。紫色および黄色で示した大きな丸は4検体が同一ゲノム型を示した。東アジアの検体(紫色、黄色)のうち、黄色が今回の研究で明らかにされた、国内検体から得られたデータとなる。

Treponema pallidum ゲノム解析

● アメリカ大陸 ● ヨーロッパ ● 東アジア



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 28～29 年度 分担（総合）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 異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究

研究分担者 有馬雄三（国立感染症研究所感染症疫学センター）
研究協力者 錦 信吾（国立感染症研究所感染症疫学センター）
山岸拓也（国立感染症研究所感染症疫学センター）
高橋琢理（国立感染症研究所感染症疫学センター）

研究要旨

目的：感染症発生動向調査により届出られている異性間性的接触による梅毒感染例の数は近年増加している。その為、梅毒症例データの精査を通じ、情報共有・対策の一環としての効果的な国内外に向けて情報発信する事が重要である。また、報告数の増加に伴う状況の変化を鑑み、現行の梅毒サーベイランスの有用性、不足する情報等の課題について評価し、サーベイランスに係る公衆衛生的なニーズの変化に対応した現状に適するシステムへの改善を検討した。更に、東京都が、報告数、人口当たりの報告率共に最多である為、都に於ける異性間性的接触による梅毒感染の特徴およびそのリスクをより明らかにすることを目的とした。最終的にそれら結果をふまえ、効果的かつ効率的な梅毒感染拡大の防止の対策立案につなげる事を目的とした。

方法：近年届出られた全国と東京都それぞれの梅毒症例のデータを記述・解析・解釈し、まとめた。また、記述解析と自治体関係者や医療従事者等からの意見収集をあわせて、梅毒サーベイランス評価を行った。リスクアセスメントに不足している情報を精査し、流行期に於ける情報発信についても検討した。東京都と連携し、梅毒感染に関与しうる情報を収集し、感染リスクを評価する為に、症例対照研究を計画した。重要と想定される危険・防御因子を検討・選択し、東京都の自治体、4 医療機関と連携しアンケートとプロトコルを作成した。予備調査を実施後、本調査を 2017 年 6 月から開始した。

結果：2012 年～2016 年に、全国的に梅毒症例の届出数は毎年増加したが、病型別には、感染早期の発生動向を反映する早期顕症梅毒の増加率が最も高かった。サーベイランスバイアスを抑える為にも早期顕症梅毒に限定し、都道府県別、感染経路別、性別・年齢群別の記述疫学をまとめた。東京都は継続した梅毒ホットスポットであったが、全国的な拡散を反映し、2016 年には東京都が全届出に占める割合が減少した。四半期毎の精査からも、東から西へと地域流行を認めた。この期間に男性異性間、女性異性間、先天梅毒症例数の届出数は並行して増加し、女性異性間症例は 20 代に集中していた。また、東京都の現状においても、同様な異性間性的接触による症例の増加を認め、報告数の増加に伴い地域的な広がりが見られた。診療所からの報告数が多く、多くが早期顕症梅毒（I 期）であった。系統的なサーベイランス評価から、現行のシステムの強み・弱みを認め、職業、パートナータイプ等具体的な情報の不足等、発生届出の課題も複数認めた。これらの結果に基づいて実施した症例対照研究の暫定結果から、梅毒感染例と社会的背景、最近 6 か月以内の性行為相手の人数、性行為の頻度、コンドームの使用頻度、性的サービスとの関係性の有無が関連している事を認めた。

考察：近年の異性間性的接触による梅毒の流行は、早期顕症梅毒が大半を占めており、東京都がホットスポットであるものの、全国的な拡散が見られ、サーベイランス情報の適時の情報発信の重要性が改めて確認された。全国の梅毒症例データに関する四半期毎の報告、東京都に限定したデータの精査のいずれにおいても、地域流行と広がりを認め、時と場所を併せた定期的な情報発信の意義が示された。一方、現行の発生動向調査の発生届に含まれる項目のみでは、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十分ではない事を確認した。それらの情報を質問紙にて収集し、疫学分析を踏まえた症例対照研究から、異性間性的接触による梅毒感染におけるリスク要因およびリスク集団をより明確化できたことより、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繋げる事が可能と考えた。

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全国的に増加している。2012年以降は男女共に異性間性的接触による報告数の増加を認めており、先天梅毒の発生も懸念されている。その為、梅毒症例の疫学情報を精査し、感染リスクに関して不足する情報を明確にし、効果的に国内外に向けて発信する方法を検討した。また、現行の梅毒サーベイランスの有用性、課題について評価し、近年の報告数の増加やサーベイランスに係る公衆衛生的なニーズの変化に対応した現状に適するシステムへの改善を検討した。

都道府県別では、東京都が、絶対数、人口当たりの報告率が共に近年最多であり、全国の届出数の3割以上を占めている。東京都として、早急に感染拡大防止対策を進める上で、梅毒感染の具体的なリスク因子・リスク集団を把握する必要がある。そこで、東京都内の医療機関を対象として、異性間性的接触による梅毒感染の特徴およびそのリスクを明らかにすることを目的とした。また、梅毒感染に関与しうる情報について収集し、疫学分析を踏まえ、その結果に基づき、効果的かつ効率的な梅毒感染拡大の防止・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、①感染症法に基づく感染症発生動向調査のデータと②東京都内の医療機関からのデータを使用した。梅毒のホットスポットである東京都に焦点を当てた為、感染症研究所、東京都、そして都内の医療機関との協力・連携が重要であり、感染症研究所感染症疫学センター、東京都健康安全研究センター、東京都福祉保健局 健康安全全部感染症対策課、新宿区保健所等と定期的な情報交換を行いながら進めた。②から梅毒感染のリスク集団・リスク因子に関与する詳細な情報を収集する為、梅毒を多く届出している東京都の医療機関と自治体と連携し、症例対照研究を実施した。①、②からの記述・解析結果を併せて解釈し、我が国に於ける異性間性的接触による梅毒感染の予防とコントロールに関するアプローチを検討した。

①感染症発生動向調査の記述、考察、情報発信

現行の感染症法に基づく感染症発生動向調査のデータを用いて、現状の異性間性的接触による梅毒

感染例の届出を記述・解析・解釈した。現在梅毒は、全国的な流行を認めているため、効果的に国内外に向けて情報を発信する方法を検討した。

全国の梅毒症例データの分析と並行し、特に梅毒の報告数が最も多い東京都に注目し、直近の疫学情報を詳細に精査した。都に於ける梅毒の現状把握に関しては、人、時、そして具体的な場所の観点から記述した。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、系統的に、現行の梅毒サーベイランスの有用性、課題について評価し、近年の報告数の増加やサーベイランスに係る公衆衛生的なニーズの変化に対応した現状に適するシステムへの改善を検討した。感染症発生動向調査の情報からは、報告数の分布やトレンドを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た為、これらの情報について検討し、追加での情報収集が検討される事項を抽出した。

②東京都に於ける症例対照研究

現行の発生届には含まれていない梅毒感染に関与しうる詳細な情報を収集し、リスク集団・リスク因子を明らかにする事を目的に、症例対照研究を計画・実施した（詳細は、平成28年度分担報告書、平成29年度分担報告書を参照）。研究デザインは、無記名の自己記入式質問紙（以下、アンケート）調査と梅毒検査結果をあわせた前方視的な症例対照研究とした。研究にあたっては、国立感染症研究所の倫理委員会の承認を得た後にパイロット調査を実施した。先行研究の教訓（Ishikane et al. WPSAR. 2016）から、研究方法の確立など研究実施の妥当性を評価する目的で、本調査の前にパイロット調査が重要と考えた。パイロット調査の結果に基づき、アンケートならびに調査方法の見直し、改訂を行った。その後、再度、国立感染症研究所の倫理委員会の承認を得た後に本調査を実施した。

まず、梅毒感染のリスク因子を調査した文献レビューを行い（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ので、多くが海外からの情報であった）、Conceptual（概念）モデルを作成し、サーベイランス評価結果と併せて、重要と想定される梅毒感染の危険因子・防御因子の情報を選択した。

対象医療機関の選定の為、男女別に異性間性的接触による梅毒届出数の多い東京都内の医療機関（上位 15 位）を候補として選定した。その後、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、更なる絞込みを行い、7 医療機関に参加を依頼した。面談を行った結果、最終的に 4 医療機関に決定した。

アンケートの作成に於いては、国内での 2 つの先行研究、「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」と「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」、および海外における先行研究^{1)~3)}を参考に作成した。また、東京都の自治体、協力医療機関の医療従事者らと連携・確認しながらアンケートを作成した。アンケートでは、以下の情報を収集した：①疫学情報として、年齢、性別、国籍、居住地（都道府県名）、最終学歴、雇用状況、婚姻状況、同居者の有無、②最近 6 ヶ月以内の性行動（口腔、膣、肛門を使用したセックス）に関する情報として、相手の人数、頻度、新しい/初めての相手の有無、一夜限り/その場限りといったカジュアルパートナーの有無、日本国内での外国籍の相手の有無、相手との出会いの方法、性産業従事歴ないし利用歴の有無、コンドームの使用頻度、③これまでの梅毒および梅毒以外の性感染症の既往歴、受診・検査の動機、梅毒患者数増加の認識の有無、アンケートの理解度。

調査対象者は、選択された 4 医療機関にて梅毒検査を受けた 20 歳以上の男女、調査期間は 2017 年 4 月からとした。また、諸外国の先行研究も参考に、過去 6 ヶ月以内にセックス歴（オーラル、膣・肛門を使用したセックス）があったものを対象の集団とした。研究デザインは、前向き症例対照研究である。症例は感染症法に基づく梅毒届出基準に合致した者（カルジオリピンを抗原とする検査で陽性かつ *T. pallidum* を抗原とする検査で陽性。但し、無症状病原体保有者についてはカルジオリピンを抗原とする検査で 16 倍以上相当が必要）、対照（陰性例）は症例と同一の医療機関より選択し、臨床所見、検査結果をふまえ、梅毒未罹患ないし梅毒治癒後で明らかに活動性のない梅毒と判断される者とした。除外基準は、①20 歳未満の者、②日本語が読めない・理解できない者および本人より同意の取得できない者、③以前に本アンケート調査に参加したことがある者、④最近 6 か月以内にセックスをしていない者、⑤最近 6 か月以内に同性間でのセックスをしている者、⑥アンケート調査実施日から過去 6 か月以内に梅毒の治療として抗菌薬の投与を受けた者、⑦晩期顕症梅毒の症例とした。また、検査結果と臨床症状が乖離する症例など診断が困難な症例につい

ては、医師の判断にて随時除外可能とした。

協力医療機関を受診した患者のうち、梅毒検査を受けた者を調査対象とした。研究への協力を依頼するタイミングについては、医療機関の検査方法、診療の流れや事前調査の結果（梅毒検査を受けた受診者に占める検査陽性例と陰性例の比率）に応じて行われた。当該医師による説明の後に研究への協力を同意した調査対象者は、同意書に署名し、アンケートおよび封筒を受け取った。調査対象者はアンケートに回答した後、自身でアンケートを封筒に入れ封をし、医療機関に提出した。

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（Zhou H et al. Sex Transm Infect 2007 等）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。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、可能な限り、男女それぞれ症例約 36 例、対照約 108 例を目標数とした。

収集された情報の解析においては、症例と対照の基本情報の分布を記述後、ロジステック回帰分析を用いて、単変量解析を行い、危険・防御因子を検討した。本研究は、平成 29 年 4 月（倫理審査承認日後）から、実施を開始し、平成 30 年 3 月現在継続中である。

（倫理面への配慮）

①感染症発生動向調査のデータを用いた研究においては、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。

②症例対照研究に於いては、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為、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った。本研究（パイロット調査、本調査）は、国立感染症研究所の倫理委員会の承認を平成 29 年に得た（倫理面への配慮に関するより詳細な情報に関しては、平成 28 年度分担報告書、平成 29 年度分担報告書を参照）。

本調査の参加依頼に於いては、参加に同意した医療機関で、調査対象者にまず詳細な説明が行われた。研究計画書及び説明書に基づき、調査対象者は、研究の意義と重要な情報の扱いの説明を受けた。参加の任意性および撤回についてもあらかじめ説明を受け、参加しなかった場合にもデメリットは発生しない旨を伝えられた。

調査対象者から同意書により同意が得られた

場合には、調査対象者にアンケートへの記入を依頼した。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出来ない様にした。調査員は、アンケートが同封された封筒を回収し、プライバシーの保たれた状態で国立感染症研究所感染症疫学センターへ運び、保管した。集められたアンケート及び研究業務で発生した印刷文書、メモなどの資料は、施錠できる室内に保管された。データを取扱うのは本研究に参加する研究者のみで、研究者はデータの取扱いに十分注意した。研究用データベースには、個人を特定できる情報はなかった。

本研究は、対象者が外来受診時に合わせて調査を依頼したものであり、調査対象者においては研究参加の為に来院する負担や経済的出費は無かった。アンケートに要すると考えられる時間は5~10分を想定し、研究参加前に予め調査対象者に説明した。参加する事により、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円分を受領した。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。

C. 研究結果

① 感染症発生動向調査の記述と情報発信

梅毒の届出数は、2012年~2017年の間に毎年増加し、2016年は1974年以来、42年ぶりに4000例を超え、2017年は、5800例を超えた(2018年3月現在暫定値)。病型別には、感染早期の発生動向を反映する早期顕症梅毒の増加率が最も高かった。早期顕症梅毒は、晩期梅毒とは異なり最近の感染を示し、無症候梅毒報告数ほど検査行動に影響を受けないと考える為(関心が高まって症状が無くとも検査をする等の変化)、早期顕症梅毒に限定し、2012年~2016年、都道府県別、感染経路別、性別・年齢群別の記述疫学をまとめた。

男性異性間性的接触と女性異性間性的接触による梅毒感染例の届出数は並行して増加し、2016年にはそれぞれ男性同性間を上回った。都道府県別には、東京都の届出数と人口当たり届出率が共に最多であった。全国的な増加によって、2016年には東京都が全届出に占める割合が減少した。毎年継続して、女性症例が20代に集中しており、女性症例に於いて占める割合も増加した。先天梅毒症例数も2012年の4例から、2016年の15例と継続して増加した(2017年には、2016年の15例から9例(2018年3月暫定値)と減少した)。

この様に感染症発生動向調査の情報からは、梅毒報告数の地域分布、年齢・性別分布、感染経路、病型、時系列トレンドのモニタリングを可能にし、特に流行期に於いては、状況把握とリスクアセスメントに有用な情報が得られる事を認めた。実際に、梅毒の発生動向調査の情報の受容性は高く、

より頻繁に、より詳細な情報提供を行う為、四半期毎に梅毒届出症例の情報還元を2017年5月から開始した(「日本の梅毒症例の動向について」<https://www.niid.go.jp/niid/ja/id/1626-disease-based/ha/syphilis/idsc/idwr-sokuhou/7816-syphilis-data.html>)。時・人・場所のデータの記述と共に、地域流行・変動に注目し、情報発信を強化した。2017年には、地域拡散が更に広がり、西日本に於いての増加を認め、届出数が増加する中、東京都が占める割合は減少傾向が見られた。また、2016年の後半は、東京都の届出数は微減したが、2017年の第2、第3四半期に再び増加し、継続した注視の重要性を示唆した。

現在世界的に梅毒が再流行している中、海外からも日本に於ける異性間性的接触による梅毒感染例の増加傾向は、注目されている。よって、性感染症の国際学会で、我が国における梅毒の発生動向の発表を行い(「Rapid Increase in New Syphilis Cases in Japan」)、その後、詳細な解析と考察を含む論文(「Rapid increase in reports of syphilis associated with men who have sex with women and women who have sex with men, Japan, 2012-2016」として、国内外に広く情報提供した。

東京都に特化した梅毒届出数に於いては、2011年~2016年のデータを詳細に精査した。都における梅毒患者届出数は、全国同様、男女ともに増加し、2016年全体の届出数は1,673例(届出率、人口10万対12)で、2007年の162例の10倍であった。男性の届出数は、それぞれ1,218例、131例で9倍、女性は455例、31例で15倍であった。2016年の年齢中央値は、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男性の届出率を上回った。

推定感染経路別は、2007年は性的接触が83%であったが、2016年は95%であった。男性の異性間性的接触割合は、2013年の16%を最小にその後増加し、2016年は44%であった。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。女性の異性間性的接触割合も、2007年(61%)、2016年(87%)と増加した。病期別では、2016年全体で早期顕症梅毒(I期)32%、早期顕症梅毒(II期)40%、晩期顕症梅毒1%、無症候病原体保有者27%であった。2007年はそれぞれ28%、38%、7%、27%であった。また、2016年には、先天梅毒2例の報告があった。

届出医療機関の種別では、2016年全体で診療所64%、病院36%、保健所<1%であった。2007年全体はそれぞれ48%、51%、1%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年に診

療所の割合が60%であったのに対して、女性は76%であった。さらに、届出症例の病型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%、早期顕症梅毒（Ⅱ期）が41%、無症候性梅毒が19%に対し、病院ではⅠ期が18%、Ⅱ期が37%、晩期が4%、無症候性梅毒が42%であった。

発生届の届出先保健所別の割合では、2016年全体の37%が新宿区であった。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。推定感染地域は、2016年全体では東京都が男女共に7割強、東京都の近隣県が男女共に3%で大半が東京都内であった。

東京都に特化した動向に於いては、若年女性の急増、報告数の増加と伴った地域拡散、そして届出が診療所からが多い点等について注目し、広く情報還元した（「東京都における梅毒届出状況」病原微生物検出情報（IASR））。また、本解析から得られた結果は、都民向けに、感染症情報センターのホームページ、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ズレターやHIV/エイズ研修会を通して、広く情報発信した。対策として、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。

サーベイランス評価

感染症発生動向調査の情報からは、疾患のトレンドの把握とリスクアセスメントに有用な情報が得られる事を認めた。一方、現行の梅毒サーベイランスは、米国CDC発行のUpdated Guidelines for Evaluating Public Health Surveillance Systemsに準拠した手法によって評価を実施した結果、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おり、収集情報の追加を検討することが重要である事も認めた。本手法を用いて、感染症発生動向調査に梅毒として2012年～2016年に報告された11,021例を対象とした解析及び、医師、自治体担当者など計7名へのインタビューを行った（詳細は、別紙「感染症法に基づく届出による梅毒サーベイランスシステムの評価」を参照）。サーベイランス従事者における現行のシステムの実用性及びデータの完全性は高かった。データエラーについては、カルジオリピンを抗原とする検査の自動化法に係る誤分類が23%存在しており、改善すべき課題であった。発生届については、症状、診断方法、感染経路の様式・記載内容について多くの指摘を得た。公衆衛生対策への活用の観点から、①女性における妊娠の有無、②居住地、③国籍、④性産業従事歴および利用歴、⑤

梅毒の既往の有無、⑥HIV感染症合併の有無、⑦受診動機の7つが追加項目として検討された。結果として、システムの実用性は高く、システム変更のための素地は整っているものの、改善すべき課題が複数存在していることが確認された。

②東京都に於ける症例対照研究

（協力医療機関の確保、アンケート、プロトコール作成の詳細な情報に関しては、平成28年度分担報告書を参照）

東京都と協力し、都内の4医療施設から研究への協力の同意を得て、倫理審査承認後、2017年4月から6月にかけて、アンケートの内容を含む研究方法の確立など研究実施の妥当性を評価する目的で、パイロット調査を実施した。計38例（男性14例、女性24例）よりアンケートへの回答を得た。男性は症例7例、対照7例、女性は症例6例、対照18例であった。年齢の中央値は、男性42歳（範囲24-59歳）、女性25歳（範囲20-54歳）であった。男性、女性ともに症例の年齢分布は、感染症発生動向調査による梅毒報告例の年齢分布と同様であった。最近6ヶ月以内の性行為相手の人数は、男性で2-5人（中央値3人）、女性で1-25人（同5人）であった。最近6ヶ月以内に金銭などのやりとりのある性的サービスを提供しないし利用したことがある者は、男性12人（86%）、女性11人（46%）であった。アンケートの内容については、9割が分かりやすかったと回答した。パイロット調査の結果より、研究の妥当性、データの分散を認め、調査実施が可能と判断した。一方、記入欄の形式や設問文の表現や選択肢の問題を認め、改訂した。

アンケートと調査実施方法を修正後、再度国立感染症研究所の倫理審査の確認を得て、2017年6月より本調査を開始した。2017年6月～2018年2月にかけて、男性182例、女性506例より回答を得た。最終的に解析対象とした回答は、男性157例（症例60例、対照97例）、女性454例（症例57例、対照397例）であった。現時点で得られた主な知見について、以下に記載する（詳細は、平成29年度分担報告書を参照）。

男性

男性の症例および対照の年齢中央値は、それぞれ、症例41歳（範囲21-61歳）、対照37歳（範囲21-61歳）であった。症例は、最終学歴が高等学校以下のものが多かった（専門学校・大学・大学院卒業と比較し、OR=4.3 [95%CI=1.6-11.4]）。学生の占める割合は、症例3%（2例）、対照3%（2例）と同程度であった。

最近6ヶ月以内の性行為相手の人数に於いては、5人以上と回答したものは、症例32%、対照20%

で、症例に多かった（相手一人に対して、5人以上の場合、OR=3.3 [95%CI=0.9-11.9]）。また、性行為の頻度については、オーラル、膣・肛門ともに、週に複数回以上のものは、症例に多かった（オーラル[症例 20%、対照 6%]、膣・肛門[症例 18%、対照 4%]）。月に1回未満と比べて、週に複数回以上のものは、オーラル:OR=4.5 (95%CI=1.2-17.1)、膣・肛門:OR=7.4 (95%CI=1.7-32.2)であった。コンドームについては、オーラルの場合、毎回使用すると回答したものは症例 3% (2例)、対照 6% (6例)と少数であった。一方、膣・肛門の場合、毎回使用すると回答したものは、症例 7%、対照 39%で対照に多かった（毎回使用するものと比較して、それ以外のものは、OR=6.9 [95%CI=2.1-22.3]）。

最近6ヶ月以内の金銭などのやりとりのある性的サービスの提供ないし利用（以下、性的サービス）について、症例 77%、対照 79%と、いずれにおいても高かった。種別としては、症例・対照ともに約9割が風俗（店舗型（ソープ、ヘルス等）ないし非店舗型（デリヘル等））であった。性的サービスなし群と比較し、店舗型風俗のみあり群では OR=1.6、95%CI=0.5-5.0、非店舗型風俗のみあり群では OR=4.3、95%CI=1.4-13.3 であった。また、性的サービス有に限定した場合、性行為（膣・肛門）の際に毎回コンドームを使用するものと比較して、それ以外のものは、OR=8.3 (95%CI=2.1-33.0)であった。

男性の症例・対照共に、20代と比べて30代以上で性的サービス有りの割合が高かった。また、梅毒感染と性的サービスとの関係は、年齢群によって異なり、20代に於いては、サービスなしが症例と関連していたが（症例 69%、対照 35%）、30代以上に於いては、むしろ対象に多かった（症例 11%、対照 16%）。「性的サービスなし」と回答した症例は、あり群と比較し、若年者で最終学歴が低く、性行為相手の人数と頻度が高く、コンドームを使用しない傾向が見られた。

近年、出会いの方法として利用の増加が指摘されている出会い系サイト、アプリやSNSの利用については、これらを利用して見つけた相手がいるものは、症例 12% (7例)、対照 2% (2例)と症例に多かったが少数であった。また、近年の梅毒患者数の増加の認識があったものが症例 63%、対照 88%であった。また、国内での外国籍の性行為相手（配偶者およびパートナーは除く）ありが症例対照共に 12%あった。

なお、最終学歴、最近6ヶ月以内の性行為相手の人数、性行為の頻度（オーラル、膣・肛門）、コンドームの使用頻度（膣・肛門）、梅毒増加の認識の有無については、医療機関別にみても、同様な結果であった。

女性

女性の症例および対照の年齢中央値は、それぞれ、症例 23 歳（範囲 20-65 歳）、対照 26 歳（範囲 20-56 歳）であり、症例の約 8 割が 20 代であった。症例は、最終学歴が高等学校以下のもの（専門学校・大学・大学院卒業と比較し、OR=2.7 [95%CI=1.5-4.7]）、フルタイムの雇用形態でないものと相関がみられた（フルタイムと比較し、OR=3.8 [95%CI=2.0-7.0]）。また、女性では学生の占める割合が男性より多く、症例 16% (9例)、対照 9% (35例)と症例で多かった。

最近6ヶ月以内の性行為相手の人数の中央値に於いては、症例 5 人（四分位範囲 1-40 人）、対照 2 人（四分位範囲 1-5 人）であり、5人以上と回答したものは、症例 40%、対照 26%で、症例に多かった（相手一人に対して、5人以上の場合、OR=2.2 [95%CI=1.0-4.7]）。また、性行為の頻度については、オーラル、膣・肛門ともに、週に複数回以上のものは、症例に多かった（オーラル[症例 56%、対照 37%]、膣・肛門[症例 51%、対照 38%]）。月に1回未満と比べて、週に複数回以上のものは、オーラル:OR=3.1 (95%CI=1.2-8.3)、膣・肛門:OR=2.9 (95%CI=1.0-8.8)であった。コンドームについては、オーラルの場合、毎回使用すると回答したものは症例 4% (2例)、対照 3% (11例)と少数であった。一方、膣・肛門の場合、毎回使用すると回答したものは、症例 12%、対照 22%で対照に多かった（毎回使用するものと比較して、それ以外のものは、OR=2.0 [95%CI=0.9-4.6]）。

性的サービス有については、症例 63%、対照 31%と症例に多かった。種別としては、症例・対照ともに約9割が風俗（店舗型ないし非店舗型）であった。性的サービスなし群と比較し、店舗型風俗のみあり群では OR=2.9、95%CI=1.3-6.6、非店舗型風俗のみあり群では OR=4.6、95%CI=2.0-10.6 であった。また、性的サービス有に限定した場合、性行為（膣・肛門）の際に毎回コンドームを使用するものと比較して、それ以外のものは、OR=4.2、95%CI=1.4-4.6 であった。同様に、一夜限り・その場限りの相手ありと回答したものに限定した場合、OR=3.4、95%CI=1.2-9.9 であった。男性同様、よりカジュアルな相手を想定した場合、症例とコンドームの使用が低い群との相関が増した。

女性の症例は、大半 (46/57 例) が 20 代で、その 39% (18/46 例) は性的サービスなしと回答していた。性的サービスなしの 21 例では、最近 6 か月以内の性行為相手の人数は少なく（中央値 1 人、四分位範囲:1-2.5 人）、性的サービス有群と大きく異なった（中央値 10 人、四分位範囲:10-100 人）。12/21 例は、相手が 1 人のみで、10/12 例は一夜限り・その場限りといったカジュアルな相手

がなしと回答していた。また、梅毒増加の認識ありのものが約半数のみであった（性的サービスありの症例では、約9割）。

出会い系サイト・アプリ・SNS等を利用して見つけた性行為相手がいたものは、症例14%(8例)、対照17%(68例)であった。また、日本国内での外国籍の性行為相手がいたものは症例・対照ともに15%程度であった。

D. 考察

近年、異性間性的接触による梅毒症例の増加が男女共に続いており、最近の感染を反映する早期顕症梅毒の増加率が最も高かった。梅毒の更なる感染拡大を防止する為に、感染症発生動向調査のまとめ報告や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より得られた知見を、国や地方自治体での具体的な対策に生かすことが重要と考える。

①感染症発生動向調査の記述、考察、情報発信

平成28年度の報告同様、梅毒報告数の増加は2017年も継続し、5000例を超えた。異性間性的接触による増加が男女共に続いており、早期顕症梅毒の増加率が最も高かった。東京都の届出数と人口当たり届出率が最多であったが、全国的な増加により、2016年には東京都が占める割合が減少した。女性症例は継続して20代に集中しており、先天梅毒症例数も2012年～2016年に増加した。

また、近年の増加に於いては、サーベイランスバイアスの可能性も考慮し、早期顕症梅毒の病型の分布と傾向に注目した。他の病型と比べて早期顕症梅毒の増加率が最も高かった事、男性女性共に届出数が同時期に並行して増加した事、成人の梅毒症例とは異なる医療施設で探知される先天梅毒も増加した事、そして感染症発生動向調査以外のシステムに於いても梅毒の増加傾向を認めた事等から、サーベイランスバイアス（関心・検査増加）だけでは近年の梅毒報告数の増加は説明が困難だと考えた。これらの傾向は、梅毒発生の真の増加の可能性を示唆するものと考えた。

また、より詳細な時・人・場所のデータの記述と共に、より強化した情報発信を目的とした四半期毎の梅毒のまとめから、地域流行が注目された。2017年以降、梅毒報告は地域的な広がりがあり、西日本に於いて増加傾向がみられる。また、2016年の後半には、東京都は微減したが、その後再び増加し、地域的なモニタリングの重要性が示唆された。四半期毎に感染症発生動向調査から得られる梅毒症例の動向については、自治体担当者等の関係者に適時に還元し、関係各位での迅速かつ円滑な情報共有を行う事が今後も重要であると考えた。

最も梅毒による負荷が高い東京都に於いても、全国同様、近年梅毒届出数の著しい増加を認めた。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事と、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事は、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と考えられた。

また、自治体の観点からは、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るが、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）を聞き取る項目がない事が制限として認められた。国と同様に、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と考えた。また、そのためには、関係機関との連携強化を進めていくことが重要だと考えられた。

届出先保健所別で東京都における新宿区の占める割合が約半数で推移していたが、近年の増加に於いては、他地区の報告数も増加し、新宿区の割合が減少し、報告地域が拡散している傾向を認めた。また、医療機関種別では、2016年には診療所からの届出の割合が増えた。診療所においては、早期顕症梅毒（I期）の割合が高く、2016年にはI期の割合が増加した。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。

国内・海外でも梅毒が流行しているなか、今後も地域流行に注目しながら全国、そして負荷が依然として最も高い東京都の状況を、適宜広く情報発信していく事が重要だと考えた。

サーベイランス評価

系統的な、米国CDCのサーベイランス評価手法を用いて評価を実施した結果、梅毒感染に関与する可能性のある具体的な情報が十分ではなく、収集情報の追加を検討することが重要である事を認めた。システムの受容性は高く、システム変更のための素地は整っているものの、改善すべき課題が複数存在していることが確認された。公衆衛生対策への活用の観点から、①女性における妊娠の有無、②居住地、③国籍、④性産業従事歴および利用歴、⑤梅毒の既往の有無、⑥HIV感染症合併の有無、⑦受診動機が追加項目として挙げられた。システムの効率的な運用によるサーベイランス従事者の負担軽減、梅毒感染リスクの把握ならびに公衆衛生的対策への活用を目的とした梅毒発生届の改定案を検討する事が重要である。得られた結果は、発生届などのシステムの課題を明確にし、現状に適したより良いシステムへの改善を検討するための参考資料となると考えた。

②東京都に於ける症例対照研究

著者らの知る限り、本研究は、我が国における

異性間性的接触による梅毒感染リスクに関し評価した初の症例対照である。本研究結果における重要事項としては、①社会的背景因子と梅毒感染の相関が示唆されたこと、②男女共に性行為相手の人数および性行為の頻度の増加は、異性間性的接触による梅毒感染と概ね相関がみられたこと、③女性において、金銭などのやりとりのある性的サービスと梅毒感染の関係が示唆されたこと、④男女ともに性行為(膣・アナル)で毎回コンドームを使用するもの、男性において梅毒増加を認識しているものが対照に多かったこと等が挙げられる。

また、性的サービスあり群となし群に症例を分けて比較した場合、異なる梅毒感染要因を有する集団が存在する可能性が示唆された。男性においては、若年層を中心に性的サービスなしと回答していた症例群が存在しており、彼らは性行為の頻度が高く、コンドームの使用頻度が低い等という、梅毒感染のリスクとなりうる特徴を認めた。女性に於いては、性行為の相手が特定の男性のみという場合を症例の18%で認めた。このような女性においても梅毒症例が確認されている点は、現在の成人女性における梅毒の広がりや推定し、対策を立案する上で、重要な情報と考える。また、女性の症例の約2割を学生が占めていたという事実も対策の方針を検討する際に考慮すべき点と考える。

これらの結果から、男性においては、性産業の利用者、若年層を中心とした性的活動性の高い集団へのアプローチが対策を検討するうえで重要だと考えられた。女性においては、性産業従事者を中心とした高リスク(学生を含む)と想定される集団から、性行為相手の人数が少ない集団の一部までを考慮した対策の検討が望まれる。実際に、アンケートの自由記載欄には、梅毒や性感染症について、もっと情報を発信して欲しい、男性がもっと性感染症の検査を受けるべき、という意見が複数寄せられた。また、医療機関を受診し梅毒検査を受けた動機については、男女共に、症例には症状があった者が多く、対照には症状はないが心配だった者が多かった。梅毒の症状について広く啓発を行い、疑う症状が有る者に、早期の受診ならびに検査を促すことが大事であると考えられる。

本調査は現在継続中で、現時点での結果は暫定的なものであり、追加の解析を行う必要がある。その後、最終結果は自治体へ還元し、論文掲載する予定である。今後、本調査の最終結果をふまえ、コンドームの使用や梅毒増加についての予防・啓発の促進など、対象者毎に適したアプローチで、効果的かつ効率的な梅毒感染拡大の防止・コントロールの対策立案を検討していくことが必要と考える。

E. 結論

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、急務である。感染症発生動向調査のまとめ報告や症例対照研究より得られた知見を、国や地方自治体での具体的な対策に生かすことが必要と考える。本研究による強化情報収集によって、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が可能になった。また、現状に即し、より効率的かつ有用なシステムを目指し、発生届の改訂を検討する必要があると考える。

本研究に多大なるご協力を頂きました、東京都福祉保健局健康安全部感染症対策課(杉下由行、カエベタ亜矢)、東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課及び微生物部病原細菌研究科(村上邦仁子、小林信之、新開敬行、石川貴敏、横山敬子)、医療法人社団 七海会 あおぞらクリニック(内田千秋、古賀健一、野口武俊)、医療法人社団 ルーチェ会 佐々木医院(佐々木貴子、柳野珠乃)、医療法人社団 智嵩会 新宿さくらクリニック(澤村正之)、医療法人社団 新宿レディースクリニック会 新宿レディースクリニック(岡崎成実、濱田貴)の皆様ならびに関係者各位に深謝する。

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

Takahashi T, Arima Y, Yamagishi T, Nishiki S, Kanai M, Ishikane M, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K. Rapid Increase in Reports of Syphilis Associated With Men Who Have Sex With Women and Women Who Have Sex With Men, Japan, 2012 to 2016. *Sex Transm Dis.* 2018 Mar;45(3):139-143.

2. 学会発表

- 高橋琢理 Rapid Increase in New Syphilis Cases in Japan. IUSTI. 岡山 2016年12月.
- 錦信吾、有馬雄三、山岸拓也、高橋琢理、山岸拓也、内田千秋、佐々木貴子、澤村正之、濱田貴、杉下由行、大西真。第30回日本性感染症学会学術大会。「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究：パイロット調査からの結果」。2017年12月。

その他：

- 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の届出状況(IASR Vol.

38 p. 62-64: 2017年3月号)

(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

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 28～29 年度 分担（総合）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 妊婦健診における梅毒スクリーニングのデータ収集・分析に関する研究

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、妊婦健診で必須項目として従前より実施されてきた。したがって妊婦の梅毒流行の実態を観察することは、性産業従事者等とは異なる一般的な女性への蔓延状況を知る貴重な情報と考えられる。本研究では、日本産科婦人科学会のもとで、妊婦健診での梅毒感染妊婦の診断、治療について全国調査を実施した。2011～2015年の5年間で梅毒合併妊婦 166名であったが、2015年で倍増した。梅毒合併妊婦の60%が10-20歳代であった。また25%は妊婦健診が未受診もしくは不定期受診妊婦であった。20例（14%）で先天梅毒が発生していたが、その75%は未受診もしくは不定期受診妊婦であり、スクリーニング検査が機能しなかった。先天梅毒に至った妊婦へのアプローチは医療現場では難しく、梅毒の流行自体を終息させるしかないと考えられた。一方、梅毒スクリーニングで発見された妊婦の多くは抗菌剤投与によって母子感染症は予防できていることもわかった。

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菌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。

梅毒についての調査では、妊婦、非妊婦について2011～2015年の発生数のトレンドを調べた。また、梅毒合併妊婦についての発見の契機、進行期、治療の有無、治療時期、先天梅毒の有無、児の予後について調査した。

（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20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。2014年、2015年に急激に先天梅毒児が増加していた。先天梅毒を発症した児の母親の75%は、妊婦健診の未受診もしくは不定期受診妊婦であったことから、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、20例中、3例が死亡、3

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

今回の実態調査は、専門医機構の基幹病院に対して実施されており、一般診療所の症例は含まれていない。そのために、厚労省・感染研からの全数報告数とは数字がずれている。しかし、妊婦に特定した梅毒報告数は過去には報告がない点で有用な情報である。妊婦まで梅毒が蔓延してきている実態を把握できたことから、次世代への影響も懸念され始めていることが窺える。先天梅毒の発症には、社会的ハイリスク妊婦の問題がある。これは医療行政や医療機関の努力では解決することが難しい問題である。梅毒の流行自体を終息させることが肝要であると考えられる。

E. 結論

一般女性からの抽出群とも言える妊婦において、2014年以降梅毒感染者が増加していることが明白となった。性産業従事者のみならず、非従事者にも蔓延している。さらに、妊婦健診スクリーニングを受けない未受診・不定期受診妊婦が、先天梅毒の発症に深く関与していることから、これらの社会的ハイリスク妊婦への梅毒・先天梅毒の啓発も急務である。次世代へ影響する感染症として、国政として梅毒の流行終息に取り組む必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

特に無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) ○Iwata S, Okada K, Kawana K, on behalf of the Expert Council on Promotion of Vaccination, Consensus statement from 17 relevant Japanese academic societies on the promotion of the human papillomavirus vaccine, *Vaccine*, 35(18):2291-2292, 2017
- 2) Sato M, Kawana K, Adachi K, Fujimoto A, Yoshida M, Nakamura H, Nishida H, Inoue T, Taguchi A, Ogishima J, Eguchi S, Yamashita A, Tomio K, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. Intracellular signaling entropy can be a biomarker for predicting the development of cervical intraepithelial neoplasia. *PLOS One*, 2017
- 3) Sato M, Kawana K, Adachi K, Fujimoto A,

Yoshida M, Nakamura H, Nishida H, Inoue T, Taguchi A, Ogishima J, Eguchi S, Yamashita A, Tomio K, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T, Regeneration of cervical reserve cell-like cells from human induced pluripotent stem cells (iPSCs): A new approach to finding targets for cervical cancer stem cell treatment, *Oncotarget*, doi: 10.18632/oncotarget.16783, 2017

- 4) Sato M, Kawana K, Adachi K, Fujimoto A, Yoshida M, Nakamura H, Nishida H, Inoue T, Taguchi A, Ogishima J, Eguchi S, Yamashita A, Tomio K, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T, Targeting glutamine metabolism and focal adhesion kinase additively inhibits the mammalian target of the rapamycin pathway in spheroid cancer stem-like properties of ovarian clear cell carcinoma *in vitro*. *Int J Oncol*, 2017
- 5) Sato M, Kawana K, Adachi K, Fujimoto A, Taguchi A, Fujikawa T, Yoshida M, Nakamura H, Nishida H, Inoue T, Ogishima J, Eguchi S, Yamashita A, Tomio K, Arimoto T, Wada-Hiraike Osamu, Oda K, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T, Low uptake of fluorodeoxyglucose in positron emission tomography/computed tomography in ovarian clear cell carcinoma may reflect glutaminolysis of its cancer stem cell-like properties, *Oncol Reports*, 2017
- 6) 川名 敬、国内で話題の感染症—診断と治療、ヒトパピローマウイルス、小児内科、49: 1671-1676, 2017
- 7) 川名 敬、感染症フォーカス、妊婦と感染症、INFECTION FRONT, 39: 8-10, 2017
- 8) 川名 敬、胎盤感染が問題となるウイルス、臨床とウイルス、45: 197-202, 2017

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ル、鴨和感染症フォーラム、京都、2016.10.29
- (4) 川名 敬、産科領域と関連のある性感染症 ～次世代へ影響する性感染症～、日本性感染症学会関東甲信越支部会、

- 2017.9.2、東京
- (5) 川名 敬、産婦人科感染症とその随伴疾患～その予防をめざして～、第 17 回岡山県西部地区産婦人科研究会、
2017.9.21、岡山
- (6) 川名 敬、産婦人科に関連する感染症と最新知識、大分感染症研究会、2018.2.22、大分

- 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 |

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

2 年間の研究期間中、1 年目は予備的検討を実施した。DNA 濃度が高い画分を得られる条件を検討して標準プロトコルを仮固定した。2 年目は、唾液検体を収集しての検討を行い、PCR 陽性例を複数得ることができた。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による治療（日本では推奨されていない）が行われるケースで問題となる 23S rRNA のマクロライド耐性型変異の検出を時系列的に行い、2016 年以降国内でも耐性型梅毒トレポネーマが急激に増加していること、その主たる部分は最頻分子型 14d/f での増加によるものであることを明らかにした。

また、精緻な分子疫学解析法確立の一環として、少量の DNA しか含まない病変漿液スワブの TE 懸濁物からの総体 DNA の試験管内均一増幅後の後に梅毒トレポネーマゲノム情報を持つキャプチャー分子で検体内梅毒トレポネーマ DNA を選択濃縮して、そのゲノム解析を行う方法を試行、検討し、いくつかの検体ではゲノム情報を獲得できた。

今後は今回入手できた物を含め患者の病態、口腔病変状態の情報をリンクした検体集団でのデータ再収集を行い、唾液検体一般での PCR 陽性期待率に関する検討が必要である。

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・科学的根拠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が比較的多く、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による病変不特定のままの病原体検出による確定診断率向上の可能性の検討」、に目標を絞った。

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研究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も目標の 1 つとし、試行した。

また分子型別の究極形と位置付けられる検体内梅毒トレポネーマの全ゲノム解析のプロトコル確定、いくつかの検体での実際のゲノム情報採集とを行い、現在日本でサーキュレートしている梅毒トレポネーマ株群の分類及びそれらの間の遺伝的距離関係について部分的にでも情報を抽出することを目指した。

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 H28 年度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 抽出法の最適化を先行試行しておいた。詳細は研究結果の項に記述する。

期間の後半 H29 年度に唾液検体収集法を見直し、血清学的に梅毒と診断された患者の唾液を網羅的に収集していただける病院 1 箇所を設定できたため、口腔病変、病態等の情報は無いながら、39 例の唾液検体が得られ、それらについて梅毒トレポネーマ DNA 検出 PCR (1, 2)を試行し、陽性判定例が得られるか検討した。

また、後半年度においては、2014 年以降国内でサーキュレートする *Treponema pallidum* のゲノム解析と国外株との比較目的で、微量の *Treponema pallidum* DNA しか含まない検体からの DNA をも解析対象とできるプロトコル試行を兼ねて解析を行なった。分子型別が成功したものという条件を満たした検体を選択し、Genomi-Phi kit (GE Health Care) という検体内 DNA を均一の増幅できるキットで処理した増幅後 DNA を Agilent Sure Select Target Enrichment system (Agilent) という目的生物ゲノム情報を持つキャプチャーで濃縮精製した後に次世代イルミナシ

ーケンサーで解析を行なった。

この際、Genomi-Phi kit、及び Sure Select Target Enrichment system、それぞれの試薬キットの指定するプロトコルに従って作業工程を進めたが、Genomi-Phi kit の指定する出発 DNA 材料の濃度に達していない場合でも DNA 量のみ厳守して DNA 均一増幅を行い、次いで増幅サンプルが Agilent Sure Select Target Enrichment system が指定する出発材料の DNA 濃度に達していればキャプチャーでの濃縮精製へ進んだ。解析は Mi-seq 600 試薬により次世代イルミナシーケンサーで行い、*Treponema pallidum* Strain Nichols のゲノム配列を reference とした時ゲノムカバー率 90 %以上で重複リード深度が 10 以上となった検体につき解析データを採用し、系統樹と Minimum spanning tree を作成した。

(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、まずまとめて記述する。

2018 年 3 月 16 日現在、2012 年以来梅毒トレポネーマ DNA 陽性検体 208 例中 140 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 95 例、67.9%を占める。14d/c、14d/g が各 5 例、11o/c、14e/f、10b/a 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、14j/f が 3 例、14b/c、14l/f、14p/f が各 2 例、他に 8 種類の単一例が検出された。

梅毒トレポネーマ DNA 陽性 208 例につき 23S rRNA マクロライド耐性型変異検出を試行し、112 例について成功した。

全体の分布は 37 例が野生型、75 例が耐性型であり、2012 年～2018 年 3 月前半の総耐性率は単純には約 67%となった。

しかし、耐性変異を有する梅毒トレポネーマの分子型、及び耐性率についてその分布の年次推移を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～2018 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～2018 年 3 月は同上 85 例中 72 例 (84.7%) 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 2012 年～2015 年の間に検出した 2 例の 14d/g は両方ともに耐性型であった)。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、かつ、この結果は事前からの想定内であった。

2016 年～2018 年 3 月の 72 例の耐性型のうち 50 例、耐性総数の 69.4%までを分子型 14d/f が占める。逆にこの期間の総 14d/f 型、53 例中 50 例 (94.3%) が耐性であり、2012～2015 年に検出された 14d/f の 18 例に耐性は皆無であったことを振り返るとドラスティックな変化である。

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。

この全体的な耐性化上昇の傾向の中で、少数ながら複数検出が見られる 10b/a、14d/c 型全 8 例 (10b/a 中 1 例が 23S rRNA 解析失敗) とも感受性を維持していることが逆に特徴的である。これらは情報が取得できたものは全て MSM 患者由来である。さらに、2016 以降の 14d/f での感受性型もその全てが MSM 由来であった。

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、H28 年度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出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 の回収総量と」双方のバランス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観点からは「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時の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 4.1ng/ μ l、7.9ng/ μ l、0.2ng/ μ l、検出限界未満、であった。

以上より最終抽出は 20 μ l の 1 回目を使用するこ

とが最善と判断した。

なお、このプロトコルは後述するゲノム解析の出発材料調製のステップにも流用した。

最終的に唾液検体 DNA 抽出プロトコルを上述のように固定し、実際の PCR での検出試行へとんだ。H29 年度には口腔病変と唾液とのペア検体が 3 組得られ、うち 2 組で病変、唾液ともで PCR 陽性、1 組で病変、唾液ともで PCR 陰性の結果であった。これらについては病変と唾液とで検査結果が一致するという結果であったが絶対例数が少なすぎるため評価は暫定的であった。期待以上に上記のようなペア検体が入手できにくいことが判明したため、病変とのペアにこだわらず、梅毒と診断された患者の唾液サンプルを試行的に収集し、PCR に供するトライアルを施行した。

血清学的に梅毒と診断された患者の唾液を網羅的に収集していただける病院 1 箇所を設定できたため、口腔病変、病態等の情報が付加されない形ながら、39 例の唾液検体を得た。ほとんどの例で治療現状情報は付加されており、治療前 13、治療中 8、治療後 15、不明 3。15 例 (38.5%) で PCR 陽性判定ができた。これらの唾液採取時の治療現状は治療前 8、治療中 3、治療後 3、不明 1 であった。治療前検体で (8/13) = 61.5% という比較的良い陽性判定率が見られた。治療中 (3/8) = 37.5% と治療後では (3/15) = 20.0% と陽性判定率は低下し、病原体またはその DNA 検出による診断には治療前検体を使う重要性が再確認できた。

重要な制限要因としてこの検出率については検討にエンロールした検体、患者の病態等での何らかの選択バイアスが無かったかどうか不明なため、現時点で全ての病態の梅毒での唾液を用いた PCR 法の有用性は暫定的であり、今後規模を増やしての再検討と再評価が必要である。しかし、トライアルとして行ったこのプロジェクトでは、唾液サンプルで比較的良い感度での陽性判定がなされ、病原体ベースの検出に期待が持てる予備的結果であった。

次いで、現在国内でサーキュレートしている梅毒トレポネーマの全ゲノムスケール解析を行い、国内株間、及びそれらと海外株との差異、類縁関係を総体的に把握するため、方法の項に述べた方法を用いて、培養を要しない方法での梅毒トレポネーマ DNA 増幅と選択濃縮を行い、次世代イルミナシーケンサーでゲノム配列を取得し、株間比較を MEGA7 解析ソフトで行った。

日本株の材料として、分子型別、23S rRNA 解析とも成功したものから、由来患者の性別、性的嗜好をできるだけ均衡化させた集団にすることも目指して最終的に 39 検体を選んで実際の作業に供した。

シーケンサーでの run 後に *Treponema pallidum* Strain Nichols のゲノム配列を reference とし、ゲノムカバー率 90 % 以上で重複リード深度が 10 以上となった検体は 16 例得られた。この 16 例と、先行する海外株集団でのゲノム解析報告 (7) で使用された検体で、貝瀬席 1 次データにアクセス可能な株のうち同じ基準を満たした 29 株、計 45 株間での連関を解析し、系統樹及び、相互の塩基置換関係が把握しやすい Minimum Spanning Tree を作成した。Minimum Spanning Tree を図 1 として示す。図 1 から読み取れることとして、日本の異性間性的接触で感染した男性、及び女性由来株は SS14 グループに属する比較的均一な遺伝的集団であることと考えられた。しかしながら、国外で得られたゲノムデータと一致するものはなかった。一方、ゲノム解析で区別できない同一クローンが異性間性的接触で感染したと考えられる男性および女性から得られていた。同様に東京および大阪で取得された検体に、同一クローンが存在していた。これに対して、日本 MSM 由来株は図 1 の複数のエリアに散在し、比較的多様性に富む集団であった。

D. 考察

既述のように、今次研究期間前半の H28 年度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、擬似検体を用いた唾液検体からの DNA 抽出法確立に留まった。「口腔検体と同時採取の唾液検体」を入手することが予想外に困難であった。H29 年度は「口腔検体とのペア」に拘らずに唾液を収集する軌道修正を実施し、治療前唾液検体で (8/13) = 61.5% という比較的良い陽性判定率が得られたが、今回検討にエンロールした検体、患者の病態等での選択バイアスが無かったかどうか不明なため、この陽性判定率については、今後それらの情報を同時取得しながらの検体収集を行う必要があると判断した。また、口腔検体とペアでの検体収集が進まなかった原因はそのような検体が少ないというよりも診察現場での失念が多い印象が有ったため、繰り返しのアナウンスによっても改善が期待できると考える。

従前より継続し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て、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有る。

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。

2016 年以降、全体として非常に高いマクロライド耐性率が明らかになったが、その中で MSM 由来株での耐性率及び 14d/f 型の分布は異性間性的接触で感染したと考えられる男性、女性由来検体のそれらと比べて比較的 low、ある程度多様性のある集団であることが示された。

この日本の MSM 由来株の多様性に関しては、ゲノム解析結果からも裏付けられた。これに対して、日本の異性間性的接触で感染したと考えられる男性および女性由来株は、比較的均一な集団を形成し、世界的に伝播の主流と考えられる SS14 グループであることが判明した。

これらの結果は現在の国内の梅毒流行に参画している梅毒トレポネーマは単一集団ではなく、複数の集団が同期的にサーキュレートしていることを強く示唆している。

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、プロトコルを決定した。真の唾液サンプルを用いた本プロトコルの有効性検討、確認を行い、比較的良い陽性判定率が得られ、予備的データとしては今後の有用性が期待できる。今次予備検討にエンロールした検体群の由来する患者の口腔病変状態を含む情報確認などでの再評価が必要である。

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。特に異性間性的接触で感染したと考えられる男性、女性由来検体では現在ほとんどが耐性である実態が判明した。

全ゲノム解析を試行し、異性間性的接触で感染したと考えられる男性および女性由来株群は世界的に流行している SS14 グループに属し、比較的均一であるのに対して MSM 由来検体は比較的多様性をもつ集団であることが示された。また、同一クローンによる感染症例は限定的であった。

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, Tantalos 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.

(7) **Arora N, Schuenemann VJ, et al.** Origin of

modern syphilis and emergence of a
pandemic *Treponema pallidum* cluster.
Nature Microbiol. 2016; 2: DOI:10.1038.

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. **56**:1753.
2. Cerebral Syphilitic Gumma can arise within months of reinfection: a case of histologically proven *Treponema pallidum* Strain Type 14b/f infection with Human Immunodeficiency Virus positivity. (2018) Koizumi, Y., Watabe, T., Ota, Y.,

Nakayama, S., Asai, N., Hagihara, M., Yamagishi, Y., Suematsu, H., Tsuzuki, T., Takayasu M., Ohnishi, M., and Mikamo, H. **Sex Transm. Dis.**
Accepted.

2. 学会発表

1. 中山周一、金井瑞江、井戸田一朗、本郷偉元、亀岡 博、澤村正之、濱田 貴、錦 信吾、大西 真。国内における 2016 年からのマクロライド耐性型 *Treponema pallidum* の急激な増加。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。
2. 金井瑞江、中山周一、李 謙一、志牟田 健、大西 真。近年本邦で流行する梅毒トレポネーマのゲノム解析法の検討。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。
3. 梅毒患者の受診行動と診断経緯に関する検討。澤村正之、中山周一、錦 信吾、有馬雄三、大西 真。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。

(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
2. 実用新案登録
3. その他

図 1 A. ゲノム情報が得られた国内外(日本 16 株、海外 29 株) Minimum Spanning Tree による遺伝的連関図。株間の SNP 数を株間の連結実線に数字で付した。丸の大きさは同一ゲノム型を示す検体数によって異なる。基本的に同一ゲノム型を示すものは、2つの例外を除いて存在しなかった。紫色および黄色で示した大きな丸は 4 検体が同一ゲノム型を示した。東アジアの検体 (紫色、黄色) のうち、黄色が今回の研究で明らかにされた、国内検体から得られたデータとなる。

Treponema pallidum ゲノム解析

● アメリカ大陸 ● ヨーロッパ ● 東アジア

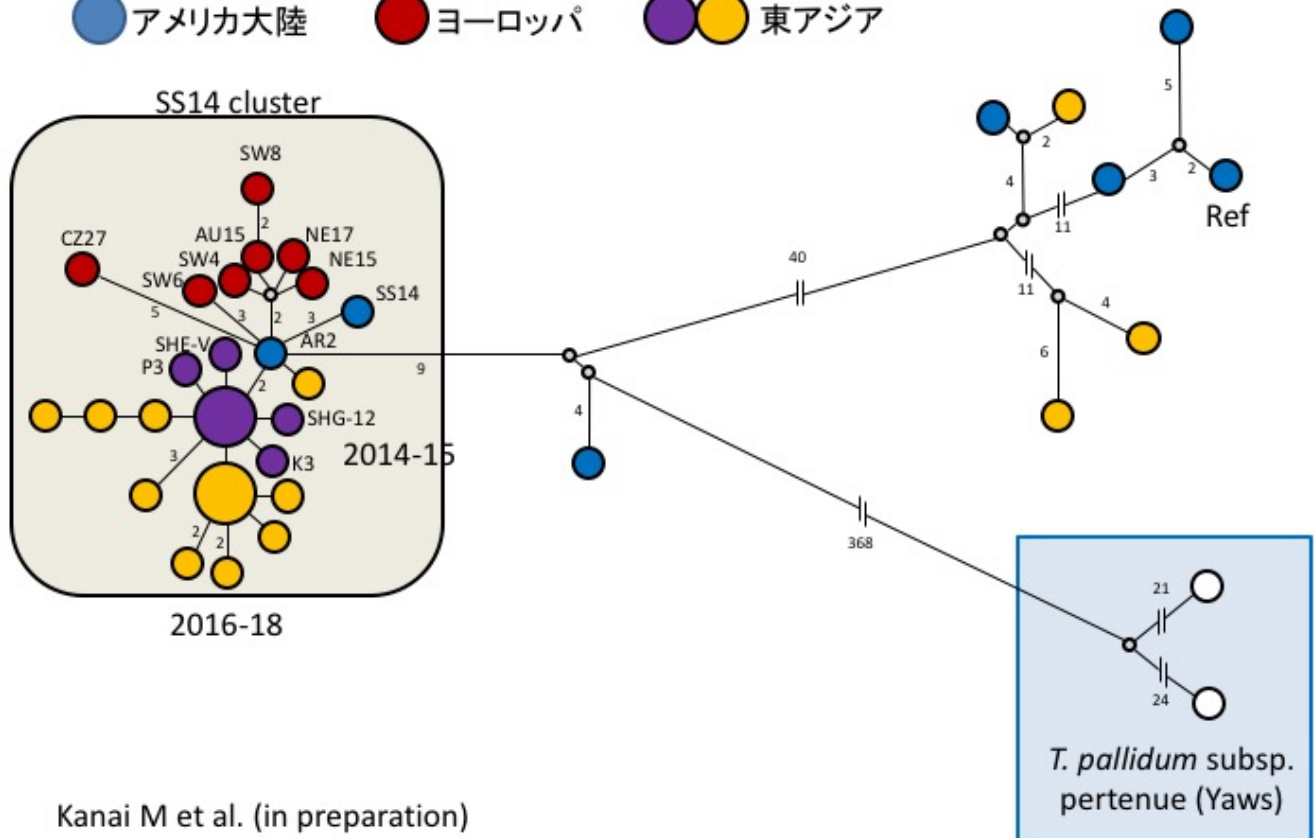
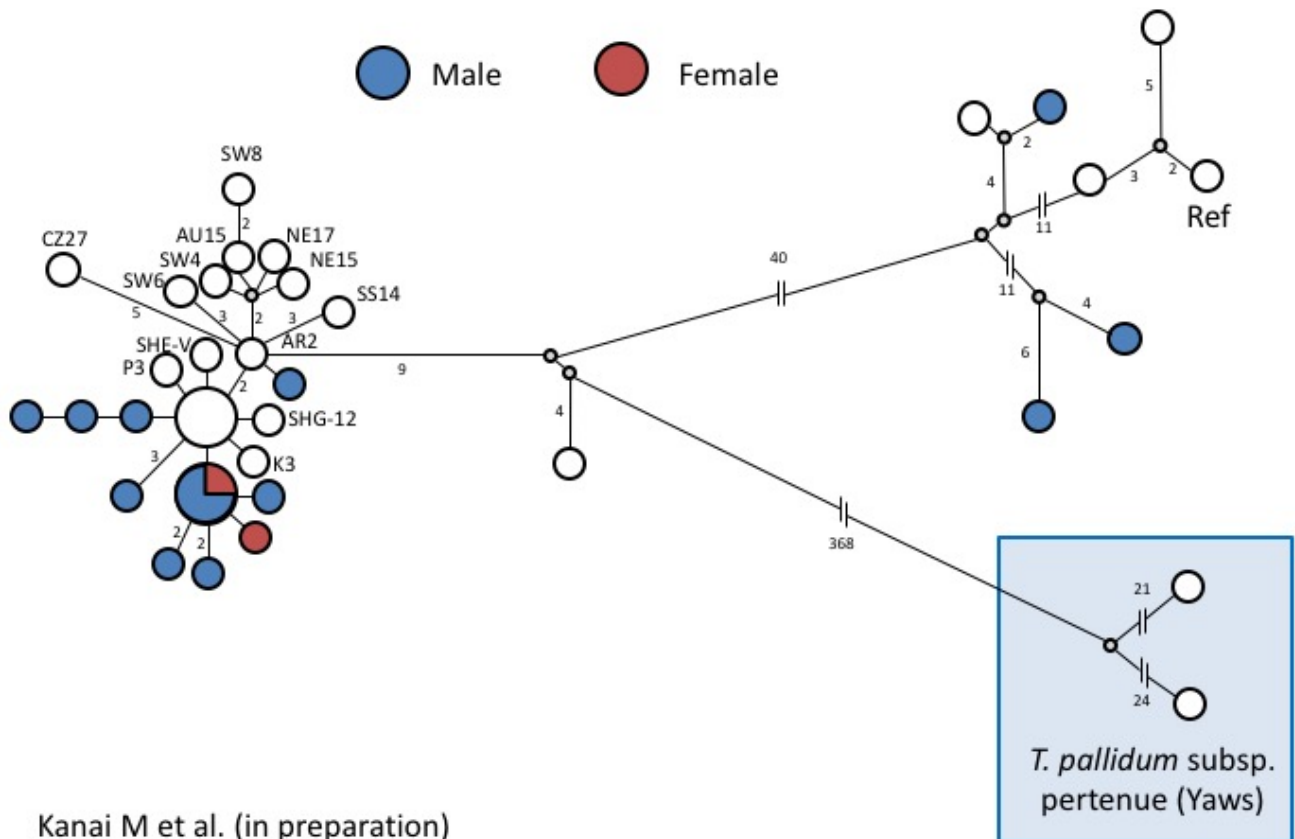


図 1B. 国内検体から得られら 16 株の由来別（性別）
国内検体から得られたデータの患者の性別を下の図に示した。

Treponema pallidum ゲノム解析



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. Kata no, S. Nakayama, H. Kurai.	Gastric syphilis	Internal Med icine	56	1753	2017
Koizumi, Y., Wa tabe, T., Ota, Y., Nakayama, S., Asai, N., Ya agihara, M., Ya magishi, Y., Su ematsu, H., Tsu zuki, T., Takay asu M., Ohnishi i, M., and Mika mo, H.	Cerebral Syphilitic Gumma can arise with in months of reinfec tion: a case of hist ologically proven <i>Tr eponema pallidum</i> Str ain Type 14b/f infec tion with Human Immu nodeficiency Virus p ositivity.	Sex Transm. Dis.	Accepted		2018
Takahashi, Taku ri; Arima, Yuz o; Yamagishi, T akuya; Nishiki, Shingo; Kanai, Mizue; Ishikan e, Masahiro; Ma tsui, Tamano; S unagawa, Tomima sa; Ohnishi, Ma koto; Oishi, Ka zunori.	Rapid increase in re ports of syphilis as sociated with men wh o have sex with wome n and women who have sex with men, Japa n, 2012-2016.	Sex Transm D	45(3)	139-143	2018 Mar
川名 敬	妊婦と感染症	感染症フォー カス	39	8-10	2017