

抄録 Abstract

シンポジウム・セミナー・サテライトセミナーの趣旨一覧

Introduction for the symposium, seminar and satellite seminar

シンポジウム Symposium

セミナー Seminar

学会賞受賞講演 Awardees' lecture

一般演題（ポスター） Poster presentation

シンポジウム・セミナー・サテライトセミナーの趣旨一覧

●シンポジウム 1 (English)

座長：Kiyoshi Kita

(東京大学大学院 医学系研究科 生物医化学教室)

Juntra Laothavorn

(長崎大学 熱帯医学研究所 臨床開発学分野)

Addressing equity in health: developing products in need

The three invited speakers will talk on different approaches with regard to innovation of reactivities required for the improvement of global health.

Howard Engers has been working on the development at WHO/TDR for many years. He will summarize the history of research on malaria vaccines and will show us the scenario expected for the coming decade.

Kesara Na-Bangchang will show a novel and innovative strategy concerning progress in the use of traditional medicine. She is now developing an anti-cholangiocarcinoma using Thai traditional herbs.

Hermann Feldmeier works on parasitic skin diseases and has discovered that the respiratory system of many ectoparasites represent an Achilles heel which can be targeted by topically applying silicone oils of low viscosity. This has resulted in the development of a family of compounds with a pure physical mode of action.

●シンポジウム2 (English)

座長：Akira Kaneko (大阪市立大学大学院 医学研究科 寄生虫学分野)

Shinjiro Hamano (長崎大学 熱帯医学研究所 寄生虫学分野)

Mass drug administration (MDA) in the present status

Recent advocacy of the neglected tropical diseases (NTDs) and increased interest from major pharmaceutical companies enhanced the discussion on the practical application of Mass Drug Administration (MDA) for the global control of NTDs. Based on the long history of advanced MDA for filariasis and schistosomiasis, it has been developed a basic methodology including necessary epidemiological and public health condition, socio-economical investigations, regional compliance, drug efficacy and possible resistance, and post MDA surveillance.

In this 90 min symposium, we invited speakers from WHO Geneva, Bill Gates Foundation Project of Univ Georgia, and Research Center for Qin hao of Guangzhou University of Chinese Medicine in China who are actively working in this area to show us the past success and failure, present status, and the future perspectives of the 3 major global infectious diseases, schistosomiasis, lymphatic filariasis, and malaria.

顧みられない熱帯感染症への世界的な関心の高まりと製薬企業大手の社会貢献事業の拡大を受けて、途上国におけるこれらの疾患に対する、より具体的な制圧あるいは制御対策の開発が求められている。その中でも、すでにフィラリア症や住血吸虫症で、ある程度の実績のある Mass Drug Administration (MDA) は、ワクチンによる制御などと並行して進められるべき重要な方法論である。本シンポジウムでは、3つの主要グローバル感染症である、フィラリア症、住血吸虫症、マラリアのコントロールにおけるMDAの意義、現状、今後の展望につ

いて、第一線で活躍されている WHO、ビルゲイツ財団によるプロジェクト SCORE、中国広州中医科大学チンハオス研究センターの先生方に講演をお願いした。

●シンポジウム3 (English)

座長：Koya Ariyoshi（長崎大学 熱帯医学研究所 臨床感染症学分野）

Tetsu Yamashiro（長崎大学 熱帯医学研究所 ベトナム拠点）

熱帯地における臨床疫学研究の課題

Struggles toward better clinical epidemiology studies in the tropical countries

While Japan has had a high reputation in the field of laboratory-based science and advanced technology development, it's been long, struggling to accomplish a substantial achievement in clinical epidemiology research, especially on infectious diseases in the tropical countries. This was partly because there was no funding mechanism to support long-term overseas projects with a sufficient scale of budget, except for some ODA-funded projects, which is not often suited to dynamic scientific research. The Japan Initiative for Global Research Network on Infectious Diseases (J-GRID) launched in 2005 as the first government-funded program with the objective of initiating and supporting infectious disease research in tropical countries where people are still at a much higher risk of contracting emerging and re-emerging infectious diseases. The aim of this symposium is to understand the essences and difficulties of conducting productive clinical epidemiology studies in the tropics. In the symposium, four speakers will present their projects: two from the Japanese leading groups in clinical epidemiology, both funded by the J-GRID, and two from two U.K. groups with a high-reputation in clinical epidemiology in the tropics. Besides a good study design with an important and relevant research objective, clinicians and epidemiologists have to tackle unique problems with defining a target population in areas where people often move, and getting reliable diagnosis in busy hospitals with limited resources. The symposium also aims to clarify the critical points, when starting a clinical epidemiology study and highlight the potential outcome of a good clinical epidemiology field in the tropics.

●シンポジウム4 (English)

座長：Kouichi Morita（長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野）

Noboru Minakawa（長崎大学 熱帯医学研究所 病害動物学分野）

Dengue Control: Where do we go now?

An estimated 50–100 million dengue fever and 250,000–500,000 dengue hemorrhagic fever cases occur every year, with approximately 2.5 billion people at risk of infection throughout tropical and subtropical areas. In the absence of a vaccine or an effective drug, control of dengue relies entirely on attacking the mosquito vectors. Since the threat is mounting as evidenced by frequent outbreaks and recent expansion of transmission area, a new control tool is urgently needed. For this symposium, we invited two active researchers in the fields of dengue vaccine and vector control. Dr. Konishi of Mahidol University will review the development history of vaccine and its potentiality. Dr. Koenraadt of Wageningen University will introduce the latest vector control tools and alternative tools. After their presentations, we hope to have a fruitful discussion which may lead to innovative dengue control studies in the future.

●シンポジウム5 (English)

座長：Shigeru Morikawa (国立感染症研究所 獣医科学部)
Jiro Yasuda (長崎大学 熱帯医学研究所 新興感染症学分野)

Recent progress on viral zoonosis research

Zoonoses are diseases that are naturally transmitted between vertebrate animals and humans. At least 61% of all human pathogens are zoonotic, and 75% of emerging pathogens in the last decade are zoonoses. Majority of the zoonotic pathogens never show any clinical sign in natural reservoirs, while they cause severe diseases in human, such as Ebola hemorrhagic fever, Lassa fever, Rabies, and Crimean-Congo hemorrhagic fever. It is one of the causes making responses and preparedness for zoonoses difficult.

In this symposium, we will invite three young researchers who will introduce some recent achievements on viral zoonosis research.

人獣共通感染症は自然環境下で脊椎動物とヒトの間で病気の伝播が成立する感染症である。ヒトの感染症の少なくとも61%は人獣共通感染症であり、また過去十年間に出現した新興感染症の75%は人獣共通感染症である。ほとんどの人獣共通感染症の病原体は自然宿主では不顕性感染しているが、エボラ出血熱、ラッサ熱、狂犬病、クリミア・コンゴ出血熱に代表されるように、それらはヒトでは極めて重篤な疾患を引き起こす。人獣共通感染症のこの特性は自然宿主の同定を困難にしており、摘発淘汰を事実上不可能にしている。そのため、人獣共通感染症対策は人類にとって極めて困難な課題である。

本シンポジウムでは人獣共通感染症の分野で活躍する国内外の若手研究者3名を招聘し、人獣共通感染症研究分野の最新の知見を紹介していただく。

●シンポジウム6 (Japanese)

座長：泉川 公一 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座)
狩野 繁之 (独立行政法人国立国際医療研究センター研究所
熱帯医学マラリア研究部)

ワクチンによるグローバル感染症制御への試み

グローバルな感染症の制御法として、ワクチン戦略は古くて新しい重要課題である。近年の科学技術の格段の進歩によって、かつては開発が困難であると考えられてきた感染症に対するワクチン開発も漸く試みられている。さらには、開発されたワクチンのインパクト評価も大切であり、個別感染症の疫学特性や対象集団の特異性により、ワクチンの有用性も制限されることもある。本シンポジウムでは、グローバルな視点で重要な3つの感染症“HIV感染症”“新型インフルエンザ”“肺炎球菌感染症”のワクチン開発の現状、その有用性、そして限界について、それぞれのシンポジストに紹介いただき、熱帯医学領域での議論の展開を期待している。さらに広く、世界の感染症制御のために必要なワクチン開発の展望についても触れたい。

Global Infectious diseases control through vaccination is a traditional but still a quite urgent challenge. Thanks to the recent development of biomedical technology, some important infectious diseases are envisaged to be controlled through vaccination. However, limitations of the strategy by its coverage of the people living in the

endemic areas are also noticed. The prospects for the successful vaccines production and their useful application in the context of tropical medicine are to be discussed in this symposium.

●シンポジウム7 (Japanese)

座長 高村 昇 (長崎大学 原爆後障害医療研究所)

山本 太郎 (長崎大学 熱帯医学研究所 国際保健学分野)

地球規模課題と危機管理

本シンポジウムでは、「地球規模課題と危機管理」と題して、2人のシンポジストに、放射線被ばくと感染症に関し、その危機管理について講演いただきます。長崎は、68年前の夏に人類史上、二番目の原子爆弾による被ばくを経験しました。また、2011年3月11日の東日本大震災とそれに引き続く津波では、福島第一原発の事故が起これ、危機管理の重要性が改めて、認識されました。今回のシンポジウムでは、その当時現場での対策に当たった第一人者の山下俊一先生に、ご講演いただきます。

また、第二の地球規模課題として、今回は、感染症を取り上げました。救命救急九州研修所の郡山一明先生に、感染症疫学の視点から、感染症の危機管理についてご講演いただく予定です。

In this symposium, "Symposium on Global Issues and Risk Management," we have two invited speakers, one of among whom is Professor Shunichi Yamashita, the other Professor Kazuaki Koriyama. Professor Yamashita is one of the most distinguished scientist in radiation health sciences and its risk management, with the global and domestic experiences having worked in Nagasaki, Chernobyl and Fukushima.

Professor Koriyama is a person who has broad perspectives on risk management from public health view point. This time, he will lecture us about infectious diseases and its risk management.

We highly expected to have those two lectures in this conference.

●セミナー (Japanese)

座長：水野 泰孝 (東京医科大学病院 感染制御部・渡航者医療センター)

臨床症例検討(臨床熱帯感染症研究会共催)

臨床症例の検討は本学会のワークショップの一つとして2006年より毎年行われている。本セッションの趣旨は、実際の症例を提示した発表者が、参加者と共に必要な問診内容、鑑別疾患、検査などを挙げながら、最終診断へたどり着くまでの過程をカンファレンス形式で進めていくことで、熱帯感染症の実践的臨床を学んでいただくことにある。国内の感染症関連学会では、熱帯感染症は「マイナー領域」であり討論の時間が少ない傾向にあるが、本学会では十分な時間を取り、活発で充実した討論が実現できるように配慮したい。さらに臨床医だけではなく、本学会ならではの基礎的、疫学的な観点からの貴重なご意見も賜りたいと考えている。

Japanese Society of Tropical Medicine (JSTM) has developed this workshop as a practice and update in the essential components of clinical tropical medicine and travelers' health. This is designed for not only clinicians but also for all other health care providers especially in JSTM member working in tropical medicine field.

●公開シンポジウム (Japanese)

座長：西山 利政 (関西医科大学 医学部 公衆衛生学講座)

濱田 篤郎 (東京医科大学病院 渡航者医療センター)

市民公開講座「海外旅行と病気～どのように予防するか」

日本からの海外旅行者数は年々増加しており、2102年は1800万人を越えました。海外滞在中は環境の変化により、感染症や高山病など様々な健康問題がおきる可能性があります。このような健康問題を予防するためには、旅行前に十分な健康面での準備をしておくことが必要です。また旅先で健康問題がおきた場合には、すぐに医療機関を受診できるような対策をたてておくことも大切です。こうした海外旅行者の健康支援を行う医療機関として、最近では、トラベルクリニックと呼ばれる施設が各地に設置されています。トラベルクリニックでは、旅先での健康情報の提供や予防接種などの医療サービスを受けることができます。

今回の公開市民講座では、海外経験が豊富なドクターに講師を務めていただき、海外旅行中におきる健康問題とその予防方法について紹介いたします。

●サテライトセミナー 1 (Japanese)

座長：狩野 繁之 (国立国際医療研究センター研究所 熱帯医学・マラリア研究部)

神馬 征峰 (東京大学大学院医学系研究科 国際地域保健学教室)

日本国際保健医療学会との joint seminar—熱帯医学とユニバーサル・ヘルス・カバレッジ

疾病の予防・治療に必要な保健医療サービスを全ての人びとが享受できる状態を示す概念として、ユニバーサル・カバレッジ (UC) またはユニバーサル・ヘルス・カバレッジ (UHC) がある。ミレニアム開発目標 (MDG) に次いで、2015年以降に目指すべき目標 (post MDG) 概念として、一部の国際保健医療分野の専門家はUHC フィーバー状態にある。しかしその実現のためには、貧富の差や深刻な医療格差の克服と言った財政戦略やヘルスシステム強化 (HSS) といった健康政策が必要となる。またマラリアやHIVが未だに蔓延している途上国においてそれらの対策を含めたUHCとは何を意味するのか、再考する必要がある。熱帯医学者や特に寄生虫学者は、とうの昔から、罹患リスクのある全ての人々を対象とした疾病予防・治療対策を行ってきた。個々の途上国における代表的感染症対策をくまなく実施するという活動は当然のごとく認識してきたことである。その点UHCは必ずしも新しい概念ではない。熱帯医学者と国際保健医療学者が、UHCフィーバーの中で、何を具現化していくべきなのか？大いに議論すべきである。

●サテライトセミナー 2 (Japanese)

座長：武井 弥生 (上智大学 総合人間科学部)

門司 和彦 (総合地球環境学研究所 研究部)

東アフリカの「うなづき症候群」に関する学術的集会

北ウガンダのアチョリランドと南スーダン南部で5-15歳の子どもを中心に「うなづき症候群 Nodding Syndrome: NS」と呼ばれる神経疾患の流行が報告され、新しいてんかんの一つと認められた。1960年代に同様の症状が Louise Jilek-Aall によってタンザニアで報告されているが、今回の流行は患者数が1万人を超え、その

規模が大きい。NS は、タンザニアの Nakalanga Syndrome や、Narcolepsy、Autism との類似性も指摘されている。NS は回旋糸状虫症の流行地に多いが、因果関係は特定されていない。これまで原因究明の研究は単発的に実施されたが、患者、患者家族に対する支援体制は不十分である。今年、日本ではアフリカ研究者、熱帯医学研究者、てんかん・神経疾患研究者、福祉専門家、環境研究者が集まり、学際的な「うなづき症候群対策ネットワーク」を設立し、患者家族の救済に向けた活動と研究を展開し始めた。現地からの報告を交え、多くの方の参加を期待したい。

Trans-disciplinary Meeting for Nodding Syndrome in East Africa:

Nodding Syndrome, a disease of unknown origin, has spread among children of 5-15 years old in northern Uganda and southern South Sudan. Effective case management does not exist and specialized medical facilities are lacking. In order to overcome the unacceptable situation, scholars on African studies, medical/health sciences, and other fields have launched a network. In this meeting we shall 1) describe the current status of patients and their families, 2) construct a framework to understand and support the medical and social problems of patients with nodding syndrome, and 3) investigate into the cause of Nodding Syndrome.

●サテライトセミナー 3 (Japanese)

座長：山城 哲（長崎大学熱帯医学研究所・ベトナム拠点）

大学生のためのグローバルセミナー in 長崎 —熱帯医学の視点を通じて-

全国には多くの熱帯医学・国際保健系学生サークルがあるが、特に九州・山口地区の大学を中心としたサークルは活発に活動を行っており、年に1度合宿形式の集会を持つ中で様々な情報を交換している。2013年は5月に大分県九重で合宿が持たれ、9大学から76人が参加した。その内容を見ると、熱帯地や震災被災地での活動の様子、学生の視点から見た国際保健や熱帯医学など様々な内容が話題となった。今回のサテライトセミナーでは、まず熱帯医学研究所山城がベトナムで実施中の下痢症サーベイランスの紹介をした後、学生諸君に日頃の活動の一環を発表してもらう事とした。熱帯地での活動やボランティア活動の様子などテーマは様々となるはずである。本セミナーを通じて彼らの中で熱帯医学や国際保健に対する議論が深まる契機となれば良いと思っている。熱帯医学会会員の皆様にはぜひ会場にお越しいただけますようお願い申し上げます。

A seminar on students' activities in the field of Tropical Medicine and International Health - Why don't you join us! -

There are several students' groups in Kyushu-Yamaguchi area, aiming at building their experiences thorough activities in developing countries. In order to exchange their own experiences for references of other groups, they have been organizing an overnight-meeting-camp in Kyushu area. This year, the meeting was held in a lodge in Kujyu Mountain, and 76 students from 9 universities were joined. As a satellite event for the annual meeting of Tropical Medicine, a seminar will be organized, where a field research on diarrhea in Vietnam is first presented as a facilitating topic, followed by several presentations from several students' groups.

シンポジウム 1日目

Symposium Day 1

October 4 9:00 – 18:20

長崎ブリックホール・3階国際会議場

International Ball Room at 3rd floor, Nagasaki Brick Hall

● シンポジウム

S1-01 Forty years of malaria vaccine development: advances and challenges!

Howard Engers
Armauer Hansen Research Institute

Malaria remains among the top ten unmet medical needs with respect to infectious diseases worldwide. Globally, the overwhelming majority of individuals at risk of dying from infection with *Plasmodium falciparum* malaria are children under five living in Africa. It is estimated that over 1,000 African children die each day from malaria! Over the past four decades, considerable progress has been made in basic and clinical research related to the development of a malaria vaccine. This research was driven by the early observations that experimental infection of animals or humans with irradiated sporozoites resulted in high levels of protection against challenge with malaria-infected mosquitoes. Subsequently, many new and promising immunological approaches were attempted, ranging from use of synthetic peptides to recombinant proteins to DNA vaccines to whole parasite vaccines. Several novel adjuvants have been tested for the first time in humans paired with candidate malaria antigens. Unfortunately, candidate vaccines tested in clinical trials to date have not provided the desired levels of sustainable protection against natural infection in African children. Indeed, the actual mechanism(s) of immunity required for development of protection in naturally immune individuals remain to be elucidated. Conducting clinical research and malaria vaccine trials in vulnerable populations of healthy volunteers such as infants, children and pregnant women presents considerable ethical as well as scientific and logistical challenges for the scientists, sponsors and stakeholders in question. It will take more basic research, improved global collaboration and a better defined overall strategy in order to produce an effective, affordable malaria vaccine.

S1-02 Traditional Herbal Medicine for the Control of Tropical Diseases

Kesara Na-Bangchang¹⁾, Juntra Karbwang²⁾

¹⁾Chulabhorn International College of Medicine, Thammasat University, Thailand, ²⁾Department of Clinical Product Development, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University

Throughout history, traditional herbal medicine has afforded a rich repository of remedies with diverse chemical structures and bioactivities against several health disorders. A common issue of herbal medicine is the limitation of information on their pharmacological activities and their active constituents. Traditionally, the use of herbal medicine has been based on empirical treatment and passed on from generation to generation with information available only in local journals. This prevents several herbal medicines from being developed to their full potential. The presentation will focus on research and development of *Atractylodes lancea* (Thunb) DC. (AL: family Compositae) as a potential chemotherapeutic for cholangiocarcinoma (CCA), the bile duct cancer commonly found in Southeast Asia. The dried rhizome of AL is a medicinal plant used in Chinese ("Cang Zhu"), Japan ("So-jutsu") and Thai ("Khod-Kha-Mao") traditional medicine for its various pharmacological properties including anticancer, anti-inflammation and antimicrobial activities, activities on central nervous, cardiovascular, and gastrointestinal systems. The major constituents in the essential oils from AL rhizome are β -eudesmol, hinesol and atractylon. Preliminary investigation has demonstrated its promising anti-CCA activity both in vitro and animal (Opisthorchis

viverrini/dimethylnitrosamine-induced CCA in hamsters and CCA-xenografted nude mice) models with high selectivity index comparing with the standard drug, 5-fluorouracil. It also showed virtually no toxicity with only minimal CNS effects on locomotor activity at the maximum dose of 5, 000 mg/kg body weight. Studies are underway to identify active constituent(s) which contribute to anti-CCA activity as well as its pharmacokinetic and pharmacodynamic properties.

S1-03 Treatment of parasitic skin diseases with dimeticones – a new family of compounds with a purely physical mode of action

Feldmeier Hermann

Institute of Microbiology and Hygiene, Campus Benjamin Franklin, Charité University Medicine, Berlin, Germany

Epidermal parasitic skin diseases (EPSD) are common in the tropics and sub-tropics. They are caused by mites, lice and other blood-sucking insects. In resource-poor countries they are associated with considerable morbidity. Hitherto, EPSD are treated with insecticides with a neurotoxic mode of action. The efficacy of this treatment is variable, and the development and spread of resistant mites and lice is alarming.

A new concept for treating EPSD is presented which is based on the topical application of dimeticones, silicone oils of low viscosity which rapidly kill insects and mites by a physical mode of action. They creep into the respiratory system and block oxygen supply. The physical mode of action makes the development of resistant parasite strains very unlikely. Due to their safety and efficacy, dimeticones are promising candidates for population-based intervention programmes targeted against EPSD in resource-poor settings.

S2-01 “MDA - Lymphatic Filariasis”

Kazuyo Ichimori

Lymphatic Filariasis Elimination, Department of Control of Neglected Tropical Diseases, World Health Organization

Lymphatic filariasis is one of the neglected tropical diseases. It is estimated that 120 million people are currently infected and that 1.403 billion live in areas where filariasis is endemic. Lymphatic filariasis is a leading cause of chronic disability worldwide, including of 15 million people who have lymphoedema (elephantiasis) and 25 million men who have hydrocoele.

The Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis (GPELF) has been one of the most rapidly expanding global health programmes in the history of public health. The programme was launched in 2000 in response to resolution WHA50.29, with the goal to eliminate lymphatic filariasis as a public-health problem by 2020. The GPELF has two strategic aims: (i) interruption of transmission, using combinations of two medicines delivered to entire populations at risk, a strategy known as mass drug administration (MDA); and (ii) morbidity management and disability prevention (MMDP), by providing access to basic care to every affected person in endemic areas. The World Health Organization has developed a policy framework and guidelines for Member States to accelerate their efforts towards elimination of lymphatic filariasis by 2020.

Of the 73 endemic countries, 56 have started implementing MDA, of which 12 countries have moved to the post-MDA surveillance phase. During 2000-2012, more than 4.2 billion doses of medicine were delivered to a cumulative targeted population of 979 million people. The achievements made in MDA will be summarized.

S2-02 集団治療による住血吸虫症病害対策の試み –最良の方法の模索と撲滅への道すじ
Morbidity control of schistosomiasis by mass drug administration: How can we do it best and what will it take to move on to elimination?

Daniel G. Colley
University of Georgia, USA

The World Health Organization (WHO) has, for some time, encouraged countries endemic for schistosomiasis to control morbidity from this disease through mass drug administration (MDA) of the well-tolerated drug, praziquantel (PZQ). With the London Declaration in January 2012 and the promise by Merck Serono to eventually donate 250 million PZQ tablets per year, most endemic countries in sub-Saharan Africa have now developed national plans to do MDA for schistosomiasis morbidity control. More recently, based on two World Health Assembly (WHA) resolutions (WHA 54.19 & WHA 65.21) on schistosomiasis, countries are further encouraged to eliminate schistosomiasis, where feasible. The fight against schistosomiasis is therefore in a critical period of tremendous opportunities and equal challenges. How do we do the most effective job of MDA? What tools do we need to do this job better? How will we know when to move from morbidity control to elimination? What combinations of interventions, beyond MDA, are needed to eliminate transmission? The Schistosomiasis Consortium for Operational Research and Evaluation (SCORE) has its Secretariat at the University of Georgia and with programs in more than 24 institutions in 17 countries it is trying to answer these very practical questions through multiple large field-based studies and the evaluation or development of better diagnostics for schistosomiasis. This presentation will summarize the current status of morbidity control and elimination programs and the operational research by SCORE that we hope will provide much-needed answers for national program managers so they can most effectively pursue these critical public health programs.

S2-03 中国におけるアルテミシニン開発, ACTによるマラリア撲滅研究
The research experience of Artemisinin and ACTS in China, the study of how to elimination malaria by ACTS

Jianping Song, Changsheng Deng
Guangzhou University of Chinese Medicine

Malaria is the one of major diseases which threatens people's life in Africa. Out of humanitarianism, Chinese scientists has contributed to research of Artemisinin and ACTS more than 30 years, China provides long-term antimalaria assistance to Africa and gain great achievements. In Moheli, the island of Comoros, the antimalaria group used a new strategy which universal medication and proactive intervention. They established not only an effective antimalaria system and reporting system but also a local antimalaria team. Furthermore, they enhanced publicity and put mass protection and treatment into effect. Finally, they achieved significant result. In order to

apply those successful experience to other countries in Africa, this paper summed up those experience and inspirations.

S3-01 感染症研究国際ネットワーク推進プログラムについて

About J-GRID (the Japan Initiative for Global Research Network on Infectious Diseases)

Yoshiyuki Nagai

Center of Research Network for Infectious Diseases, RIKEN, Tokyo, Japan

Since infectious diseases heed no national borders, international research collaboration across borders must be enhanced. The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT) of Japan launched the J-GRID program in 2005, which consists of the two elements; (1) construction of collaboration centers in Asian and African countries on a reciprocal basis between a Japanese university/institution and a counterpart in the host country and (2) connecting those collaboration centers into a network and setting up its headquarters, CRNID. J-GRID initiated with 5 collaboration centers in 3 Asian countries has expanded to include 13 centers in 8 countries (6 in Asia and 2 in Africa). The aims of J-GRID include conducting high quality research on infectious diseases of regional and global importance, and advancing technologies and developing human resources in the field. In this way, J-GRID is expected to contribute to the public health of the host countries, our own country and the world. After the completion of the first start-up phase (2005-2009), J-GRID has stepped up its activity for the second phase (2010-2014). While the first phase was just like an incubation period, the second phase should be the exponential growth phase, maximizing its research activities. Indeed, J-GRID is now generating remarkable research outcomes with an increasing number of publications. The mid-term evaluation made by the MEXT in FY2012 commended J-GRID as an ideal model led by Japan, a world leader of science and technology, and highly recommended that the program be continued for years to come after 2014.

S3-02 途上国の地方におけるフィールドリサーチの課題：フィリピンにおける小児肺炎に関する研究の経験から

Challenges to conduct a field research in rural setting of developing countries: Our experience on pediatric pneumonia study in the Philippines

Hitoshi Oshitani

Department of Virology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

Acute respiratory infection is still a major cause of deaths in infants and young children in developing countries. We have been conducting a research project on pediatric pneumonia in the Philippines. We have been conducting a hospital based etiology study in a referral hospital in Leyte Island. We identified several important findings thorough this hospital based study including an importance of viral etiologies in hospitalized cases with a diagnosis of severe pneumonia. However, a hospital based study has some critical limitations. First, many cases even with severe pneumonia may not be hospitalized. Second, it is difficult to identify risk factors for developing severe illness by analyzing the data only from severe cases. Third, it is impossible to establish more effective and feasible interventions without knowing a real situation in the communities. Therefore we have initiated a community based

study in a remote island of the Philippines. In this study, we follow up all under 5 children with following objectives; 1) to identify a real incidence of severe pneumonia; 2) to reveal etiologies of severe pneumonia; 3) to analyze risk factors for developing severe illness; 4) to establish more effective and feasible interventions. There are a number of difficulties and challenges to conduct a community based field research in resource limited settings, including managing many project staff, obtaining approvals from different levels, maintaining high quality data, solving many logistic issues and so on. Despite all these difficulties and challenges, such field researches are needed to establish more effective and feasible interventions.

S3-03 ベトナムの住民コホートを利用した小児感染症の研究 Population based cohort study for Pediatric Infectious Diseases Research in Vietnam

Laymyint Yoshida

Department of Pediatric Infectious Diseases, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki,

A population based cohort study on Pediatric Infectious Diseases was established at Khanh Hoa Province, central Vietnam in 2006, to determine the etiology and risk factors for severe pediatric infectious diseases (SPID) such as acute respiratory infection (ARI), diarrhea and dengue which are the major causes of under 5 mortality. A population census survey was conducted to collect demographic, social-behavioral data and disease burden on SPID. The study site covered a population of 353, 525 residing in 75, 826 households with 24, 781 children less than 5 years. Hospital databases from two hospitals covering the region were obtained. Linking the census survey and hospital databases, we were able to investigate on a variety of SPID such as environmental tobacco smoking exposure and increased risk of pediatric pneumonia hospitalization, population density, water supply and risk of dengue fever and animal livestock and risk of hospitalized diarrhea. To determine incidence, viral etiology and risk factors for pediatric ARI/pneumonia, we setup a population based prospective hospitalized Pediatric ARI surveillance at Khanh Hoa General Hospital, Nha-Trang in February 2007. The study has revealed RSV, rhinovirus and influenza A as major viral pathogens, role of multiple viral infection and its interaction with bacteria in the development of pneumonia. In addition, we are also conducting a birth cohort study to investigate the incidence of congenital infection and its impact on physical-neurological development, and role of host genetic polymorphism on SPID hospitalization in Vietnam. Population mobility, high cost of regular census update and low mortality are the challenges.

S3-04 西アフリカ・ガンビア共和国におけるB型肝炎の制圧：ワクチンと核酸アナログ製剤による2つのPopulation-based interventions to reduce the public health burden related with hepatitis B virus infection in The Gambia, West Africa

Yusuke Shimakawa^{1,2)}

¹⁾Faculty of Epidemiology and Population Health, London School of Hygiene and Tropical Medicine,

²⁾PROLIFICA Project, MRC Unit

Hepatitis B virus (HBV) infection is highly endemic and hepatocellular carcinoma (HCC) has been the

commonest type of malignancy in The Gambia. In 1986, a nation-wide trial of the HBV vaccine was initiated to evaluate the effectiveness of infant HBV vaccinations in preventing HCC in adulthood. As instantaneous universal vaccination was impossible for logistic/financial reasons, the vaccine was introduced into the Expanded Programme of Immunisation (EPI) of The Gambia in a phased manner, called the “stepped-wedge” design. There were 17 EPI teams, and each covered a defined area of the country. Initially only one EPI team administered the HBV vaccine to all newborns in the catchment area, while newborns registered in other areas during this period constituted the unvaccinated control group. Three months later, the second EPI team provided the HBV vaccine and by 1990 countrywide coverage was achieved. To assess the outcome, a national cancer registry was founded and all HCC patients in this birth cohort will be linked with the vaccine trial database. Although the universal vaccination has been successful in reducing the prevalence of chronic HBV infection in young Gambians, the incidence of HCC will not decline over the next three decades as people infected prior to the immunisation programme will continue to develop the diseases. To reduce the HCC incidence through community-based screening of HBV infection and provision of antiviral therapy, the PROLIFICA (Prevention of Liver Fibrosis and Cancer in Africa) Project started in 2011. Study hypothesis as well as design will be further discussed.

S3-05 アフリカのへき地病院における臨床研究：タンザニアでの経験から
Challenges to Clinical Research in a Rural African Hospital; a perspective from Tanzania

Nadjm Behzad

National Hospital of Tropical Diseases, Oxford University Clinical Research Unit, Hanoi, Vietnam

The severe febrile illness study was established in 2005 through EU funding. The aim of the project was to define the aetiology of febrile disease in children admitted to a hospital in Tanzania. Challenges arose in many areas: Study design: An initial plan to recruit only the severely ill was revised to enroll all febrile admissions leading to a more comprehensive dataset but much increased costs. Operationally a decision was made to set up a paediatric acute admissions unit (PAAU) in the hospital to facilitate recruitment and to provide appropriate initial care in line with perceived ethical obligations. This had knock on effects relating to the responsibilities that were taken on but also some unexpected positive outcomes. Study personnel: Recruitment of an overseas coordinator was hampered by lack of funds, whilst local research staff were sometimes called upon to make up deficiencies in the hospital staffing. Lack of staff made it impossible to recruit patients around the clock, seven days a week creating the challenge of ensuring representative sampling. Quality control: Studies based on clinical examination create unique quality control challenges; how to ensure that clinical staff are examining in a systematic and reproducible way. We designed a sub-study to both explore this and improve quality. Summary: Setting up clinical research projects in severely resource poor settings creates many challenges including those of an operational, technical and ethical nature. Whilst there are no ‘right answers’ an awareness of these problems can help overcome them.

シンポジウム 2日目

Symposium Day 2

October 5 9:00 – 17:10

長崎ブリックホール・3階国際会議場

International Ball Room at 3rd floor, Nagasaki Brick Hall

● シンポジウム

S4-01 Dengue vaccine development: current status and future challengesEiji Konishi^{1, 2, 3)}¹⁾BIKEN Endowed Department of Dengue Vaccine Development, ²⁾Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand, ³⁾Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka, Japan

Dengue fever (DF) and its more severe form, dengue hemorrhagic fever (DHF), are major global concerns. An estimated 50-100 million DF and 250, 000-500, 000 DHF cases occur every year, with approximately 2.5 billion people at risk of infection throughout tropical and subtropical areas of the world. Even in the temperate region, imported cases are a problem. DF and DHF are thus the most important mosquito-borne viral diseases in the world. Unfortunately, no licensed vaccines or antivirals are available. The causative agents are four serotypes of dengue virus, members of the genus *Flavivirus* in the family of *Flaviviridae*. Infection with any of these serotypes can cause DF and DHF. The dengue vaccine development started since the first isolation of DENV in 1943. Because one of the possible mechanisms to cause DHF upon infection with one serotype is the presence of non-neutralizing cross-reactive antibodies against other serotypes, combination of vaccines against each of four serotypes (tetravalent vaccine) is desired for developing an effective and safe dengue vaccine. To date, several vaccine strategies have been used for dengue tetravalent vaccine development. However, a recent report of the world's first clinical trial to evaluate the protective efficacy of a dengue tetravalent vaccine candidate described low protection against dengue virus type 2 infection. Therefore, dengue vaccine development still remains a big challenge.

**S4-02 デング熱媒介蚊のコントロール：将来への展望
Dengue vector control: new insights leading to novel tools?**

Constantianus Koenraadt

ワーニンゲン大学, 昆虫学教室

In the absence of a vaccine or an effective drug, control of dengue focuses on attacking the mosquito vector in its aquatic or terrestrial life stages. The investigation into the ecology of the mosquito and its requirements for reproduction, have led to the development of a series of classical tools such as source reduction, the use of natural enemies for population reduction and insecticides. Despite local successes, dengue has not been eliminated and is on its return in some areas. Therefore, alternative approaches, consisting of the use of *Wolbachia* and the release of transgenic mosquitoes, are developed and advocated. In parallel, more fundamental research has emerged recently about the role of the environment in mosquito and virus development as well as about the mating behaviour of the mosquito. An important question remains whether these new insights will actually lead to novel and practical tools for dengue vector control.

S5-01 Analyses of entry mechanisms of novel emerging viruses using pseudotype VSV system

Hideki Tani

Department of Virology No1, National Institute of Infectious Diseases

Emerging infectious diseases include newly identified diseases caused by previously unknown organisms or diseases found in new and expanding geographic areas. Viruses capable of causing clinical disease associated with fever and bleeding are referred to as viral hemorrhagic fevers (VHFs). Arenaviruses and Bunyaviruses, both belonging to families classified as VHFs are considered major etiologies of hemorrhagic fevers caused by emerging viruses; having significant clinical and public health impact. Because these viruses are categorized as Biosafety Level (BSL) 3 and 4 pathogens, restricting their use, biological studies including therapeutic drug and vaccine development have been impeded. Due to these restrictions and the difficulties in handling such live viruses, pseudotype viruses bearing envelope proteins of VHF viruses have been developed using vesicular stomatitis virus (VSV) as a surrogate system. Here, we report the successful developments of two pseudotype VSV systems; bearing the envelope proteins of Lujo virus and severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus, both recently identified viruses of the family *Arenaviridae* and *Bunyaviridae*, respectively. My presentation will summarize the characterization of the envelope proteins of Lujo virus including its cellular receptor use and cell entry mechanisms. In addition, I will also present a brief introduction of SFTS reported in Japan and the diagnostic studies in progress using these newly pseudotype VSV system.

S5-02 NおよびG蛋白質への弱毒化変異の導入による安全な新規狂犬病生ワクチン株の作出 Generation of a novel live rabies vaccine strain with a high level of safety by introducing attenuating mutations in the nucleoprotein and glycoprotein

Naoto Ito

Gifu University 応用生物科学部 人獣共通感染症学研究室

Rabies is a viral zoonotic disease characterized by severe neurological symptoms and a high mortality rate (almost 100%). The current live rabies vaccine strain is attenuated by only one mutation (Arg-to-Glu) at position 333 in the glycoprotein (G333). This fact generates a potential risk of the emergence of a pathogenic revertant by a back mutation at this position during viral propagation in the body. To circumvent this risk, it is desirable to generate a live vaccine strain stably attenuated by multiple mutations. However, little is known about attenuating mutations other than that at G333. In this study, we found that amino acid substitutions at positions 273 and 394 in the nucleoprotein (N273/394) (Phe-to-Leu and Tyr-to-His, respectively) attenuated the pathogenicity of the oral live vaccine strain ERA, which has a virulent-type Arg at G333. Then we generated ERA-N273/394-G333 strain attenuated by the combination of the above mutations at G333 and N273/394, and we checked its safety and immunogenicity. ERA-N273/394-G333 strain did not cause any symptoms in adult mice after intracerebral inoculation, indicating a low level of residual pathogenicity of this strain. Also, we found that the risk of the emergence of a pathogenic revertant of ERA-N273/394-G333 strain was lower than that of the ERA-G333 strain, which has a single attenuating mutation at G333. Furthermore, intramuscular inoculation of this strain induced protective immunity in adult mice against lethal rabies infection. These results indicate that ERA-N273/394-G333 strain is a promising candidate for a live rabies vaccine strain with a high level of safety.

S5-03 南アフリカ共和国におけるリフトバレー熱ウイルスの疫学及び病原性 Epidemiology and pathogenesis of Rift Valley fever virus in South Africa

Petrus Jansen Van Vuren, Antoinette A.Grobbelaar, Shalekof Sharon, Archer Brett, Janusz T. Paweska
National Institute for Communicable Diseases, Johannesburg, South Africa

Rift Valley fever (RVF) is a mosquito borne viral zoonosis endemic to Africa and the Arabian Peninsula causing high mortality and abortion rates in young and pregnant domesticated ungulates respectively. Humans develop disease ranging from a mild flu-like illness to more severe complications including hemorrhagic manifestations, encephalitis or death. During outbreaks in South Africa between 2008 and 2011, 302 human cases were laboratory confirmed including 25 deaths, with the major risk factor being direct contact with animal tissues, blood or other bodily fluids. The pathogenesis of RVFV infection on a molecular level is not completely understood. We present here some efforts to better understand the pathogenesis of RVFV during the recent South African outbreak by investigating the possible role of host immune response, virus replication and virus diversity. Analysis of serum cytokines indicates a dysregulation of inflammatory responses in RVFV infected individuals. Above or below normal serum levels of certain cytokines respectively clearly indicates a fatal outcome from RVFV infection. There was no significant difference between viremia levels in serum from fatal and non-fatal cases and also not between the genomes of viruses isolated from fatal or non-fatal cases. These results, combined with our previous results in a mouse model, seem to indicate that variation in disease progression between fatal and non-fatal cases is more likely a result of modulation of individual host-driven responses including inflammation, apoptosis, T- and B-cell immunity. Some of the cytokines identified in this study could be used as markers for fatal outcome in RVF patients.

S6-01 肺炎球菌ワクチンによるグローバルな肺炎球菌感染症の制御

大石 和徳

国立感染症研究所 感染症疫学研究所

世界で160万人の肺炎球菌による死亡数のうち、5歳未満の小児の死はその約半数を占めている。小児死亡の直接死因は肺炎、敗血症、髄膜炎であり、主に途上国で発生している。2000年に米国で7価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV7)が小児に対する定期接種として導入され、5歳未満の小児における侵襲性感染症の罹患率は激減した。その後、WHOは5歳以下の肺炎死亡が多いすべての国にPCVの使用を推奨し、2009年にはさらに途上国で重要な血清型1, 5, 7Fを含むPCV10が、さらに2010年には血清型3, 6Aや19Aを含むPCV13が導入されている。一方、GAVIの支援により、とりわけ低～中所得の国々におけるPCVの定期接種ワクチンとしての導入が進んでいる。米国ではPCVの定期接種化により10万人あたり6人の死亡を減らすのに対し、アフリカのガンビアでは10万人あたり700人の死亡を減らすことが期待される。また、総年収US\$1,000以下のGAVI支援該当72ヶ国を対象とした乳幼児に対するPCV接種した場合、その生後3-29ヶ月の小児の死亡379万人の7%にあたる約26万人の死亡を予防できるとされている。これらの予測から、アジア、アフリカの途上国の乳幼児に対するPCVの定期接種化が期待されている。わが国では2010年11月にPCV7は2009年10月にわが国で承認され、2010年11月に「子宮頸がん等ワクチン接種促進事業」が始まり、5歳未満の小児に対するPCV7接種の公費助成が開始された。2013年4月の予防接種法の改正に伴い、PCV7が定期接種ワクチンとなり、2013年11月にはPCV13への切り替えが予定されている。また、現在、高齢者に対する23価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチンの定期接種化に関する議論が進行中である。

S6-02 新型インフルエンザパンデミックの出現を見据えたワクチン開発に何を望むか

小林 治

杏林大学保健学部看護学科医療科学2

スペインかぜ以降、香港カゼ、A(H1N1)pdm09などの例をみると、新規インフルエンザ株のパンデミック後にそのまま季節性株となる事が少なくない。このような新規インフルエンザのパンデミック終息後の季節性への移行は、ワクチン開発にとって大きな意味をもつ。季節性インフルエンザワクチンは生体に十分な抗体産生を誘導しかつ毎年接種しても長期的な安全性が確保されしかも安価である事が望まれるが、一方の新型インフルエンザに対するワクチンは、十分なプライミング効果を有しかつ高い安全性をもつワクチンを迅速に生産しなくてはならないという性質が要求される。現在、ワクチン開発を巡っては、様々なテクノロジーが導入されている。従来が発育鶏卵を用いた方法は鶏卵の準備段階から半年以上の時間を有し、汚染リスクを伴い、鶏卵アレルギーなど特定集団への安全性が懸念されるなどの問題があった。これに対してMDCKやVeroなどのインフルエンザに感受性が高い細胞培養系を用いるとワクチンの大量生産に好適とされている。A(H5N1)についてはBaxter社、Solvay社、Novartis社が治験段階であり、日本ではデンカ生研、阪大微研などが研究段階である。また、共通抗原を用いるユニバーサルワクチンではインフルエンザウイルスのM2やHA/NP/M1の保存性が高い部位をリニア連結する方法が試みられているが、実際の効果についての検証は十分とは言えない。また、マイクロニードルによる皮内、経鼻といった投与経路の変更によってより高い免疫効果が期待されるという報告も相次いでいる。本講演では新型インフルエンザパンデミックの出現を見据え、ワクチン開発にあたって何を期待するのかについて、臨床家の視点から述べたい。

S6-03 HIV予防のグローバル戦略とワクチン開発への期待

田沼 順子

独立行政法人国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター

抗レトロウイルス療法(antiretroviral therapy: ART)で予後が改善されたとはいえ、世界では毎年250万人の新規HIV感染者が発生し、HIVが人類にとって脅威であることに変わりはない。しかしHIV-1発見からの30年間、多くの研究者により絶え間ない努力が続けられてきたが、未だ実用化に至ったHIV予防ワクチンは存在しない。HIVが宿主の免疫応答そのものを利用して増殖することや、様々な防御免疫へのエスケープ変異を獲得しやすいことがワクチン開発の大きな壁となっている。他にも、多くの地域特有の流行株、動物モデルの限界、資源の限られた国でも使用可能な安価なワクチンが求められること、大規模な臨床試験が必要なこと等、様々な課題が挙げられる。

一方で2011年にHIV診断後すぐにARTを開始することで男女間感染を約95%阻止できたとする臨床試験HPTN052の結果が発表された。その画期的成果に対する世界の反応は早く、現在すでに感染者に対する早期治療(Treatment as Prevention)は世界のHIV予防戦略の中心となっている。また、最近暴露前予防(Preexposure Prophylaxis: PrEP)の有効性も明らかとなってきた。これらARTを効果的に使う手法は、実用化が進まない予防ワクチンにかわって、有望な感染拡大阻止策として重要視されている。

しかし、予防ワクチン開発への期待が途切れた訳では決してない。これまでに臨床的に有効性が証明された唯一の予防ワクチンであるRV144は、タイでの臨床試験で31.2%の感染阻止効果があったという。RV144の効果はまだ実用化に十分とはいえませんが、この研究で今後の開発に寄与する様々な知見が得られている。日本発のものを含めワクチン候補はまだ多数あることから、今後の臨床研究の成果に大いに注目したい。

S7-01 福島原発事故と県民健康管理調査

山下 俊一

長崎大学 原爆後障害医療研究所

東京電力（株）福島第一原発事故では、複合災害の上に情報災害の様相までも呈しましたが、医学系学術専門団体の多くが、迅速かつ的確な被ばく医療情報を社会に発信しています。その結果、風評被害に惑わされる事無く、福島県においては、妊産婦の健康が守られた事は感謝の念に耐えません。また内部被ばくも最小限に抑えられています。その反面、避難などに伴う震災関連死の報告は痛恨の極みです。事故から2年半が経過しましたが、事故直後の放射性降下物、とりわけ放射性ヨウ素の甲状腺内部被ばくの影響、それに引き続き放射性セシウムによる環境・食の汚染と健康影響への問題をどのように論理的に理解し、県民の健康を長期に渡り見守るのが、多くの困難の中で問われています。すでに、国際社会では原発事故への対応が多角的に議論され、その準備や対応策がガイドラインとしても認識されてきましたが、日本では原発安全神話の中で放射線教育が全く不十分であり、医療関係者も放射線防護と健康リスクの考え方に習熟していませんでした。その反省も踏まえて、福島県内では放射線リスクコミュニケーションと地域医療の改善に向けた努力が幅広く展開されています。平成23年5月から福島県においては、全県民の健康見守り、すなわち健康管理調査事業が、県と医大を中心とし国の復興支援の中でいち早く立ち上がりました。全県民を対象とした基本調査（初期4ヶ月間の外部被ばく線量推計）と、避難住民を中心とする詳細調査をその骨子として実施されています。甲状腺など身体的影響への不安のみならず精神・社会心理的影響が大きいものがあります。特に、チェルノブイリの経験から、乳幼児期～思春期にかけた放射性ヨウ素内部被ばくによる甲状腺発がんリスクが懸念されています。これらの解決策には、長期にわたる放射能環境汚染に対する防護の課題と、実際の健康リスク問題の理解を推進する包括的な取り組みが必要です。

S7-02 感染症の危機管理

郡山 一明

Emergency Life-Saving Technique Academy of KYUSHU

医療機関における感染症対応の目的は、感染症に罹患した個人を治癒することにある。一方、経済を含めた社会活動維持の観点から見た場合、感染症対応の目的は、感染症に罹患していない集団を如何に護るか、すなわち感染症流行の発生阻止と拡大防止にある。両者は個人と集団、罹患後と罹患前という対極の関係なのだ。近代社会は公衆衛生の向上とワクチン接種によって感染症発生阻止と拡大防止を図ってきた。逆に言えば、ワクチンが存在しない新興感染症に対して近代社会は未だ無防備である。そればかりか、近代社会の特徴である「都市化」と「人間の移動」は感染症拡大に対して構造的脆弱性を提供している。事実、この数年でもSARS、新型インフルエンザは世界にとって大きな脅威となった。これからは、感染症の社会影響を最小限に抑え込む「感染症の危機管理」の概念・方法論を構築するとともに、関係する人々に普及していくことが極めて重要である。The control of infections in medical institutions is the act of curing individuals with infections. On the contrary, "risk management of infections," aimed at maintaining social activities, lies in the protection of the population of individuals without infections. They are the opposite of each other in terms of individuals versus the population, and pre-infection versus post-infection. In the future, it will be very important to establish the concept and methodology of "risk management of infections" to minimize the social impact of infections, as well as to disseminate them to the individuals concerned.

セミナー 1日目

Seminar Day 1

October 4 17:10 – 18:20

長崎ブリックホール・3階国際会議場

International Ball Room at 3rd floor, Nagasaki Brick Hall

●セミナー

Sem-1 発熱, 発疹, 意識障害を呈した80歳女性

佐藤 昭裕¹⁾, 水野 泰孝¹⁾, 池田 秀樹³⁾, 中村 造¹⁾, 松本 哲哉²⁾, 神田 哲郎³⁾

¹⁾東京医科大学病院 感染制御部, ²⁾東京医科大学 微生物学講座, ³⁾長崎県五島中央病院 内科

【症例】 80歳女性

【主訴】 発熱 腰痛

【現病歴】 来院5日前から腰痛が出現し, 起床困難となり自宅で臥床していた。来院前日に近医を受診し採血を施行された。受診時38℃の発熱があり, NSAIDs処方され帰宅となった。来院当日, 近医で施行された採血で肝機能障害が指摘され, 発熱も持続していたため当院へ紹介受診となった。

【既往歴】 高血圧症(内服加療中)

【入院時現症】 意識JCS2-20, 体温39.6℃, 血圧144/89mmHg, 脈拍85/分, SpO₂ 93% R.A。頭頸部: 眼瞼結膜貧血なし, 眼球結膜黄染なし, 咽頭軽度発赤あり, 頸部リンパ節触知せず, 項部硬直なし 胸部: 心音純 雑音なし, 呼吸音清 腹部: 腸蠕動音正常, 腹部膨隆なし, 圧痛なし 背部: CVA叩打痛なし 皮膚所見: 四肢・体幹に発疹が多発

【検査所見】 WBC 10610 / μ l, RBC 388 $\times 10^4$ / μ l, Hb 11.5/dl, Plt 10.0 $\times 10^4$ / μ l, BUN 25.6mg/dl, Cr 0.75mg/dl, T-Bil 0.46mg/dl, AST 136IU/L, ALT 88IU/L, LDH 484IU/L, CK 210IU/L, Na 135.8mEq/L, K 3.21mEq/L, Cl 99.3mEq/L, CRP 15.08mg/dl.

Sem-2 発熱, 意識障害, DICを呈した海外渡航歴のない58歳, 男性

泉川 公一^{1,2)}, 栗原 慎太郎^{1,2)}, 高園 貴弘¹⁾, 森永 芳智³⁾, 中村 茂樹¹⁾, 今村 圭文¹⁾, 塚本 美鈴^{1,2)}, 柳原 克紀³⁾, 森田 公一⁴⁾, 河野 茂¹⁾

¹⁾長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 (第二内科),

²⁾長崎大学病院 感染制御教育センター, ³⁾長崎大学病院 検査部,

⁴⁾長崎大学熱帯医学研究所 ウイルス学分野

症例は58歳, 男性, 海外渡航歴なし。2005年11月30日から39℃を超える高熱, 全身倦怠感により近医受診。感冒様の咳嗽や咽頭痛などは認めず, インフルエンザ抗原も陰性であったが, オセルタミビルによる治療が開始された。同日夕になり, 全身倦怠感が増強するため近医を再受診し同院入院となった。血液検査上, 肝機能障害, 血小板減少, 白血球減少を認め, 腎機能障害は認めなかった。その後, 経時的に肝機能異常は増悪し, 2系統の血球減少に加えてFDP増加, PT延長とDIC兆候を認め加療された。12月2日早朝より, 幻覚, 不穏出現し, 全身倦怠感が強くなり, 意識障害の進行を認めたため, 12月3日当院紹介入院となった。当院入院時現症 体温39.9℃, 血圧100/60, 心拍96/分, JCS (I-3-R), 貧血なし, 黄疸なし。呼吸器, 心所見正常。腹部に肝, 脾触れず, 軟。浮腫なし。神経学的所見明らかな所見なし。リンパ節腫大なし。当院入院時検査所見 WBC 1120 / μ l, RBC 575万 / μ l, Hb 18.1g/dl, PLT 24000 / μ l, AST 1016 U/l, ALT 443 U/l, LDH 2384 U/l, CK 766 IU/l, CRP 0.36mg/dl

Sem-3 発熱, 咽頭痛, 咳で発症し低酸素血症を来したミャンマー人の5歳女児

鵜沼 直穂子^{1,10}, 中村 (内山) ふくみ^{2,10}, 関 雅文^{3,10}, 明田 幸宏^{4,10}, 本村 和嗣^{5,10},
大西 健児^{6,10}, Ekisariyaphorn Ratthakhet⁷, Ruenweerayut Ronnatrai⁸, 大石 和徳^{9,10}

¹自治医科大学 附属病院 感染症科, ²奈良県立医科大学・病原体/感染防御医学講座,

³大阪大学医学部附属病院・感染制御部, ⁴大阪大学微生物病研究所・臨床感染症学研究グループ,

⁵大阪大学微生物病研究所・日本・タイ感染症共同研究センター, ⁶都立墨東病院感染症科,

⁷Dept. Pediatrics, MaeSot General Hospital, Tak, Thailand, ⁸Dept. Intern Med, MaeSot General Hospital, Tak, Thailand, ⁹国立感染症研究所感染症疫学センター,

¹⁰第5回タイ・ミャンマー国境現地で学ぶ熱帯感染症医師研修メンバー

【症例】 ミャンマー人の5歳女児

【主訴】 発熱, 咽頭痛, 咳, 呼吸苦

【既往歴】 特記事項なし

【現病歴】 MaeSot General Hospital入院の4日前より発熱, 咽頭痛, 咳があり, 入院前日より呼吸苦が出現した。入院当日に呼吸苦が激しくなり前医を受診した。SpO₂ 64% (室内気) と低酸素血症が認められたため, 挿管され緊急に転送された。

【入院時身体所見】 意識レベル: 清明 血圧123/63mmHg 脈拍114回/分 呼吸回数30回/分 SpO₂ 100% (挿管/酸素投与下) 体温37.5℃ 体重13kg 頭頸部: 両側性の扁桃腫大と白苔付着

【入院時血液検査】 WBC 30, 300/ μ L (Neu 91.7%) Hb 10.4 g/dl Hct 31.8% Plat 427 K/ μ L Na 132 mEq/L K 3.3 mEq/L Cl 104 mEq/L BUN 11.1 mg/dL Cre 0.6 mg/dL TP 6.8g/L Alb 3.8g/dL T.Bil 0.45 mg/dL AST 20 U/L ALT 16U/L

血液塗抹標本 (ギムザ染色): マラリア原虫認めず

【CXR】 右上葉に浸潤影あり

学会受賞講演 1日目

Awardee's Lectures Day 1

October 4 14:10 – 15:00

長崎ブリックホール・3階国際会議場

International Ball Room at 3rd floor, Nagasaki Brick Hall

●学会賞受賞講演（日本熱帯医学会賞）

PL-01 東アジアにおける日本脳炎ウイルスの分子疫学解析

森田 公一（長崎大学熱帯医学研究所・ウイルス学分野）

熱帯医学領域では現在も蚊によって媒介されるウイルス性疾患は重要であるが、温帯に位置する国々に住む人々にとっても、これらのウイルスの移動や変異の状況を把握しておくことは疾病対策上重要な課題である。

日本脳炎ウイルスは熱帯アジアにその起源をもつと考えられる蚊媒介性ウイルスであり、現在でも東南アジアを中心に依然として多くの患者が発生している。世界保健機関はアジア地域で年間2万人～3万人の患者が発生していると見積もっている。我が国においても1960年代にワクチンが普及する前には年間数千名の患者発生が報告されていた。しかし現在では患者発生数は年間10名を切っており、このため一般の国民には感染リスクが無くなったと誤解している人々も多い。しかしながら、自然界においては毎夏（特に九州や関西、四国では）、ウイルスが確認されており感染リスクは依然として存在している。

従来、日本では冬に蚊がいなくなるため、ウイルスがどのように冬を越しているのかは長い間なぞであり、日本脳炎ウイルスは日本本土の何らかの動物、昆虫の体内で越冬するという「越冬説」と、毎年初夏に南方から鳥や蚊によってウイルスが日本に持ち込まれるとする「飛來說」が二者択一的に議論されてきた。

この問題を解決するため、長崎大学熱帯医学研究所のウイルス学分野では先代の五十嵐章名誉教授の時代から東南アジアと日本で日本脳炎ウイルス採取し、その時代で利用可能な分析手法を用いて解析を実施してきた。現在もJ-GRID(文部科学省の感染症研究国際ネットワーク推進プログラム)によりこのフィールド調査は継続されている。

そして最近、アジアと日本で分離された日本脳炎ウイルス600株以上のE蛋白遺伝子全塩基配列を用いた分子疫学解析から、日本脳炎ウイルスは熱帯アジアで日常的に遺伝子変異を起こしていること、そして東南アジアから中国を経由して、朝鮮半島や日本へ頻繁に飛来していることを明らかにした。しかし一方では、少数ではあるが一部のウイルス群は日本国内で冬を越し翌年の初夏にふたたび出現していることも明らかになった。先にふれた古い科学論争の結論としては「引き分け」ということだったが、公衆衛生的には飛來說が証明された事は特に重要である。つまり、アジアや中国で脳炎患者を発症させているグループのウイルスが頻繁に日本に持ち込まれている事実が明らかにされたのである。

この研究成果の示す教訓は日本脳炎ウイルスにとどまらない。熱帯地域は微生物を含めて生物の宝庫であり、未知のウイルスが現在も頻繁に発見されている。加えて既知の微生物も絶えず変異を起こしている。熱帯地域でのフィールド研究を通して我々はその実情を知ることが可能であり、熱帯地域の人々のためにも、また世界の他の地域で生活する人々の安全と健康のためにも、熱帯医学フィールド研究を継続してゆくことが重要である。

●学会賞受賞講演（研究奨励賞）

PL-02 フィールドからラボ、ラボからフィールドへ～ラオス・サバナケットにおける人獣共通寄生蠕虫感染症～

サトウ 恵（新潟大学大学院保健学研究科）

2004年以降現在まで年に数回ラオスにおいて蠕虫感染症のフィールド調査を行っている。現地で蔓延している蠕虫は主に食物由来性の寄生虫で、淡水魚を生食することで感染するタイ肝吸虫、異形吸虫類、棘口吸虫、汚染された野菜や水から感染する鉤虫、そして牛・豚肉から感染するテニア類などが見られ、地域によっては住民のほぼ100%が感染している。我々は現地においてKato-Katz法による検便、投薬治療・健康教育などを行い、必要に応じて濾便により成虫を集めている。現地で採取した便の一部を使用し分子生物学的解析により、顕微鏡検査のみでは把握出来ない蠕虫種の鑑別を行っている。それまでの調査では顕微鏡検査で診断が下されていたため、異形吸虫類の虫卵もタイ肝吸虫卵と報告され、タイ肝吸虫の感染率は真の感染率より多く報告され、またタイ肝吸虫の感染傾向なども正確なものではなかったと思われる。鉤虫に関しては種によってメインの感染経路や宿主が異なるが、種の鑑別を行わなければ適切な健康教育・対策を行えない。寄生虫学研究、感染症対策を行う上でフィールド、ラボでの両方の調査はそれぞれに大事であるが、また双方向性に結果を還元していくフィードバックも必要であり、そこから次の研究のシードも得られる。また寄生虫感染症はヒトと寄生虫のみの関係でなく、環境要因の影響も大きく受ける。タイ肝吸虫は2つの中間宿主（淡水貝・魚）を必要とし、生息地である水田、側溝の状態、また生育地の天候、降水量などに影響を受けるため、今後、温暖化やメコン川上流でのダム建設による感染症への影響も考えていく必要がある。そのためには多方向から感染症を考える必要があり、多彩な分野の協同での研究が必要である。今後とも現地の人々、共同研究者などのコミュニケーションを重視し調査・研究を行い、現地の人に還元していきたい。

●学会賞受賞講演（相川正道賞）

PL-03 Towards elimination of malaria in the Philippines

Pilarita Tongol-Rivera

Department of Parasitology, College of Public Health, University of the Philippines Manila

Malaria control program of the Philippines is succeeding, on the evidence of impressive decline of malaria cases and deaths over a considerable period, the exclusion of malaria in the top ten leading causes of morbidity and mortality.

The anti-malaria strategies that have been implemented include early diagnosis and prompt treatment, strengthening vector control, surveillance and epidemic management, ensuring the quality of these services, intensifying health promotion, building local capacity in management and sustainability of the malaria program, and stratification of malarious areas.

Recipients of local capability building such as barangay (village) microscopists and availability of logistics-supplies, reagents and antimalarial medicines, through external support (GFATM, AusAID, RBM, APMEN and ACT Malaria) ensure early diagnosis and proper treatment. However, the increasing local support for logistics has been noted. The role of the barangay microscopists as extension of the health centers' malaria diagnostic services in Palawan and the other project sites has been noteworthy.

The goal for the next 5 years is to accelerate the transition from malaria control to elimination by 2020-2025. This is planned to be achieved by ensuring universal access to reliable diagnosis, highly effective treatment and preventive measures, capacitating the local governments to own, manage and sustain the malaria program.

ポスターセッション 1日目

Poster Presentation Day 1

October 4 17:10 – 18:20

長崎ブリックホール・3階ラウンジ

Lounge at 3rd floor, Nagasaki Brick Hall

●ポスター

P1-01 ケニアで検出されたG12ヒトロタウイルス株ゲノムの全塩基配列の解析

河本 聡志¹⁾, Ernest Wandera²⁾, 富田 万祐子¹⁾, 前野 芳正¹⁾, 一瀬 休生²⁾, 谷口 孝喜¹⁾

¹⁾藤田保健衛生大学 医学部 ウイルス・寄生虫学講座, ²⁾長崎大学 熱帯医学研究所 ケニア拠点

【目的と意義】 ロタウイルス (RV) は, 様々な哺乳動物および鳥類に急性胃腸炎を起こすウイルスで, ゲノムは11本の分節二本鎖RNA (dsRNA) で構成される。近年, 新興遺伝子型ウイルスであるG12株の分布が世界的に拡大している。今回, ケニアでは初めて, G12を有するヒトRV KDH633, KDH651, KDH684株が小児下痢症例から検出された。G12はアフリカでは稀な遺伝子型であることから, これら3株のゲノムの全塩基配列を決定し, 既知のウイルス株との系統関係を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】 2010年にキアンブ県において小児急性胃腸炎例より得られた便材料を対象とした。G12株はMA104細胞を用いて分離した。ウイルスゲノムの全塩基配列は, dsRNAゲノムを抽出しRT-PCRにて増幅後, 決定した。3株と他株の11遺伝子の全塩基配列の系統樹解析はMEGA5により行った。

【結果】 11本の遺伝子分節に基づく遺伝子型は, KDH633, KDH684株がG12-P[6]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1, KDH651株がG12-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1であり, 多くの遺伝子がWa遺伝子群に属していた。KDH633, KDH684株のVP7遺伝子は, マラウィ, 南アフリカのG12株に近縁であったが, KDH651株のVP7遺伝子はインド, スリランカのG12株に近かった。KDH633とKDH684株の遺伝子はきわめて高い一致率 (99.6-100%) を示し, KDH651株の遺伝子とは, VP4とNSP4遺伝子を除き, やや低い一致率 (93.7-98.6%) を示したものの, ともにG1P[8]株と同一のクラスターを形成した。一方で, KDH633, KDH684株のNSP4遺伝子は, ブタRVに類似していた。

【考察】 今回, ケニアのG12株の全塩基配列が初めて決定された。KDH633, KDH684株とKDH651株は遺伝学的に異なっており, 由来の異なるG12株がケニアに伝播していると考えられた。さらに, KDH633とKDH684株は, ブタRVのNSP4遺伝子を有するリアソータント株であると考えられた。

P1-02 ミャンマーにおける胃腸炎小児患者由来ヒトロタウイルスのGタイプおよびPタイプの分布状況

富田 万祐子¹⁾, 守口 匡子²⁾, 河本 聡志²⁾, 辻 孝雄³⁾, ヌグエン ・バン ・サー⁴⁾, 梅田 浩二⁴⁾, ショフィカー ラーマン⁴⁾, 小熊 恵二⁵⁾, 松井 太衛¹⁾, 谷口 孝喜²⁾

¹⁾藤田保健衛生大学大学院保健学研究科臨床検査学領域, ²⁾藤田保健衛生大学医学部ウイルス寄生虫学,

³⁾藤田保健衛生大学医学部微生物学, ⁴⁾株式会社イーダブルニュートリションジャパン,

⁵⁾岡山大学・医学部・細菌学

【背景】 ロタウイルスは冬季乳幼児嘔吐下痢症の病原ウイルスであり, 本ウイルス感染症により, 開発途上国を中心に年間50万人の死亡が算定されている。一方, 開発国での死亡例はわずかであるが, 重症化による入院例が多く, 医療経済の面で重視されている。そこで, 2006年に2種類の経口生ワクチン: Rotarix と RotaTeqが開発され, 多くの国で定期接種されている。**【目的】** VP7とVP4により規定されるロタウイルスの血清型は多様であり, ワクチンの有効性やワクチン導入による分布への影響を把握するため, ワクチン導入前後の血清型分布の調査を行うことは有益である。そこで今回, ミャンマーのロタウイルス胃腸炎患児から収集した便由来ロタウイルスのGタイプとPタイプを決定した。**【材料と方法】** 2011年1月～3月に収集した, ミャンマーのDefense Services Obstetrics, Gynecology and Children Hospitalでの生後2ヵ月～3歳の胃腸炎小児患者便の中で, ロタウイルス陽

性の便54例を使用し、RT-PCRによりGタイプおよびPタイプを決定した。【結果】 Gタイピングでは、G2:24例、G12:17例、G1:1例、G2+G12:12例であった。一方、Pタイピングでは、P[4]:29例、P[8]:16例、P[6]:4例、P[9]:1例、P[4]+P[8]:4例であった。G、Pタイプの組み合わせでは、G2P[4]、G12P[6]、G12P[8]、G12P[9]がみられた。多様なPタイプとの組合せが示されたG12では、P[6]、P[8]、P[9]を有するウイルス株15例中13例が培養細胞での分離が可能であった。【考察】 わが国ではきわめて稀なG12株が、混合感染例も合わせて54例中29例と高頻度に得られたこと、また、多くの国で10%程度であるG2P[4]のロタウイルスが50%以上も検出されるなど、ミャンマーでのGタイプ、Pタイプの分布がかなり特異であった。こうした特異なGタイプ、Pタイプの分布の背景を調査すること、ワクチン導入後、Gタイプ、Pタイプの分布がどのように変化するかを調査することはきわめて興味深い。

P1-03 2009年から2011年にケニア・キアンブ地域において小児下痢症の症例から検出されたロタウイルスの分子生物学的解析について

Detection And Molecular Characterization Of Rotavirus Strains From Diarrhoeal Children In Kiambu, Kenya, Between 2009 And 2011

Apondi Ernest, Wandera^{1,2}, 谷口 孝喜³, 河本 聡志³, 前野 芳正³, 和久田 光毅³,
Shah Mohammad, Monir², 一瀬 休生²

¹Department of Virology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²長崎大学 熱帯医学研究所 ケニア拠点, ³藤田保健衛生大学 医学部 医学科

Background: Rotavirus infection is a major contributor towards childhood morbidity and mortality in Kenya. In this study, we report the detection and molecular characterization of rotavirus strains in Kiambu, Kenya, between 2009 and 2011.

Methodology: We collected faecal samples from 802 diarrhoeal children attending Kiambu District Hospital. Group A rotavirus was detected by ELISA. Rotavirus G and P genotypes were determined by multiplex nested RT-PCR.

Results: 239/802 (29.8%) samples were positive for group A rotavirus. The rate of detection increased steadily over the study period ($P=0.028$). Rotavirus was detected most frequently in children under 18 months with a peak at 7-12 months ($P=0.016$). Rotavirus infections occurred year-round with slight peaks. Seven G-genotypes were detected. G9 was predominant in 2009 (35.3%) while G1 in both 2010 (31.4%) and 2011 (23.7%). G8 and G12 (emerging strains) were detected at 5.4% and 2.1%, respectively. Of the three P-genotypes detected, P[4] predominated in 2009 (47.1%) whereas P[8] in both 2010 (58.6%) and 2011 (51.9%). Four usual and eleven unusual strains could be genotyped. G1P[8] predominated (15.1%), followed by G9P[8] (6.3%), G9P[4] (5.9%) and G8P[4] (4.2%). The G and P combinations were most diverse among G8 and G9 strains.

Conclusion: This study highlights the importance of rotavirus infections among under-fives in Kenya. Considerable genetic diversity of rotavirus strains was observed, including substantial unusual types, coupled with significant temporal strain variation and emergence. These results underscore the need for continued surveillance of rotavirus strains in Kenya to ensure that the anticipated vaccination program provides optimal protection.

P1-04 Emergence of G2P[4] rotavirus IN NON-VACCINATED POPULATION IN Northern VIETNAM in 2012-2013 SEASON

Nguyen Van Trang¹⁾, Nguyen Cong Khanh¹⁾, Vu Dinh Thiem¹⁾, Vu Thi Bich Hau¹⁾, Vu Van Chuyen²⁾,
Do Duc Luu³⁾, 時沢 亜佐子⁴⁾, 竹村 太地郎⁴⁾, Dang Duc Anh¹⁾, 山城 哲⁴⁾

¹⁾National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam, ²⁾Nam Dinh Children' s Hospital, Nam Dinh, Vietnam, ³⁾Nam Dinh Children' s Hospital, Nam Dinh, Nam Dinh, Vietnam, ⁴⁾Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

A hospital based study to detect a broad range of diarrheagenic etiologies was conducted in Nam Dinh province, northern Vietnam since December 2012. 353 fecal samples were collected from children hospitalized for diarrhea, and rotavirus was detected in 194 samples (55%), of those, G2P[4] rotavirus was identified in 58 cases at first time for 10 years since 2003, in Vietnam. G2P[4] strains were circulated together with the dominant G1 rotavirus (n=87) from December 2012 through March 2013 in the area. The first G2P[4] cases occurred at 2 districts of the province, and the number of the affected districts increased in the period. Children <24 months were the most affected group. Sequence analysis identified that these G2P[4] strains carried VP4, VP7, VP6, VP3, NSP2, NSP4, and NSP5 genes of P[4], G2, I2, M2, N2, E2 and H2 genotype, respectively. When these strains were compared with 1998-1999 and 2010-2011 strains in Vietnam, VP7, VP6, VP3, NSP1 and NSP5 genes were highly conserved across the 14 years (variation of 0.3-1.8%), however, VP4 and NSP4 genes were different in nucleotide sequences from 2010-2011 and 1998-1999 strains by more than 3.7-3.9% and 10-11%, respectively. Several amino acid substitutions in the variable regions were identified in NSP4 and VP4 sequences suggesting the role of these proteins in emergence of G2P[4] in this region. With controversy of the emergence of rare rotavirus genotypes after vaccine usage, our finding suggested that the periodic pattern for RV genotypes in the pre-vaccination era is relatively common.

P1-05 ネパールにおけるG2ロタウイルスの分子疫学

Continued circulation of multiple G2 strains with virtually identical VP7 genes before vaccine introduction in Nepal

Doan Yen Hai, Gauchan Punita, 中込 とよ子, 中込 治

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 分子疫学分野

Genotype G2 rotaviruses, which are fully heterotypic to the monovalent rotavirus vaccine, have captured attention as to whether their increase in detection rates is related to the vaccine use. We conducted rotavirus surveillance in Nepal between 2004 and 2011, and observed fluctuating detection rate of G2 strains. This study was therefore undertaken to reveal how G2 rotavirus strains changed over the study period in their VP7 gene sequences and electropherotypes. The VP7 genes of 10 G2 strains between 2008 and 2011 were sequenced. They clustered together with 45 strains detected in 2004-2005 into sublineage IVa-3 to which contemporary, globally dominant G2 strains belonged. When amino-acid sequences of the antigenic regions of the VP7 protein were examined and compared with those of the 45 strains detected earlier in 2004-2005, an amino-acid constellation of A(87)-N(96)-D(213)-N(242) was completely conserved and there was no amino acid substitutions except two strains detected in 2004 that had changes only in antigenic region B. Upon polyacrylamide gel electrophoresis there were 11 electropherotypes among 2004-2005 specimens, whereas 19 electropherotypes among 2008-2011 specimens. Thus, different G2 strains carrying the virtually the same VP7 gene circulated over the 7 year period with fluctuating

detection rates. From the perspective of the global evolutionary pattern of the G2 VP7 genes over time, Nepalese G2 strains were at the top of evolution in that they belonged to sublineage IVa-3, the most contemporary lineage. How these G2 strains are maintained requires further monitoring and a whole-genome scale understanding of these strains.

P1-06 ブータン小児におけるアストロウイルス下痢症 Diversity of astroviruses in Bhutanese children with diarrhea

松本 昂¹⁾, ワンチュク ソナム²⁾, ツエリン キンレイ³⁾, 八尋 隆明¹⁾, ジャンモ サンゲイ²⁾,
ドルジ ツエリン²⁾, 三井 孝広¹⁾, 西園 晃^{1,4)}, カムルディン アハメト^{1,4)}

¹⁾大分大学 医学部 微生物学講座, ²⁾ブータン保健省, ³⁾ジグミ・ドルジ・ワンチュク国立病院,
⁴⁾大分大学全学研究推進機構

Viral diarrhea is responsible for high mortality and morbidity of children mainly in developing countries. Among the viruses responsible for diarrhea, astroviruses are responsible for 20% of diarrhea and have the potential for zoonosis because these highly diverse viruses infect wide ranges of animals. Since studies on this virus from developing countries are scarce, thus there is gap in our understanding of the epidemiology of this virus. Therefore to understand more about the distribution of different astroviruses and epidemiology this study was done in Bhutanese children with diarrhea. From 2009 to 2010, a total of 138 stool samples were collected from under 5 years old children with diarrhea attending at two hospitals, Jigme Dorji Wangchuk National Referral Hospital situated in the capital Thimphu and Gelephu Regional Referral Hospital situated in Gelephu. There are three clades of astroviruses classical human astrovirus (HAstV) MLB and VA. Six cases were found positive for astrovirus by using PCR (4.3%). Phylogenetic analysis of ORF2 gene showed that two strains belonged to HAstV1 (1.4%), one to HAstV2 (0.7%), one to HAstV3 (0.7%), and two strains to MLB1 (1.4%), respectively. The entire genome sequences of the Bhutanese MLB1 strains shared 99% identity among themselves and 98%, 96%, 95%, and 92% identity with MLB1 strains from Hong Kong, China, Australia, and the USA, respectively. We conclude that different clades of astroviruses are circulating in Bhutanese children with diarrhea, new and easy to perform diagnostic test is necessary for the early detection of astroviruses in children in developing countries.

P1-07 ベトナムにおける乳児腸重積症の罹患頻度 A high incidence of intussusception revealed by a retrospective hospital-based study in Nha Trang, Vietnam between 2009 and 2011

Tran Anh Thi Lan^{1,2)}, 吉田 レイミント³⁾, 中込 とよ子¹⁾, Gauchan Punita¹⁾, 有吉 紅也⁴⁾,
Dang Anh Duc⁵⁾, 中込 治¹⁾, Vu Thiem Dinh²⁾

¹⁾長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 分子疫学分野,

²⁾Department of Epidemiology, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam,

³⁾長崎大学 熱帯医学研究所 小児感染症学分野, ⁴⁾長崎大学 熱帯医学研究所 臨床医学分野,

⁵⁾National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam

Rotavirus is a leading cause of severe diarrhea among children worldwide. Thus, the World Health Organization recommended including rotavirus vaccines in national immunization programs. One concern about rotavirus vaccine, however, is a possible association with intussusception. Thus, it is crucial to know the baseline incidence of intussusception in the first year of life. A study conducted in Hanoi, Vietnam showed that the incidence of intussusception was the highest in the world. This retrospective cross-sectional study was undertaken to determine the incidence of intussusception among children <5 years of age in Nha Trang, Vietnam. Hospital charts between 2009 and 2011 were reviewed in Khanh Hoa Provincial General Hospital where virtually all cases of intussusception occurring in the city were assumed to have been encountered. The incidence of intussusception among children <1 year of age was 296 per 100,000 person-years (95% confidence interval [CI]: 225-382), and that among children <5 years of age was 196 per 100,000 person-years (95% CI: 169-226), confirming the high incidence of intussusception in Vietnam. Nevertheless, there was no intussusception in the first three months of life. We therefore recommend that the first dose of any rotavirus vaccine be administered to infants between 6 and 12 weeks of age.

P1-08 ベトナムの小児におけるヒトボカウイルスの臨床疫学研究 Clinical and Epidemiological Characteristic of Human Bocavirus in Vietnamese Children

Le Minh Nhat¹⁾, 吉田 レイミント¹⁾, 鈴木 基¹⁾, ヌエン ヒエンアン²⁾, リ フー ト³⁾,
デン ヅク アン²⁾, 有吉 紅也¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 臨床感染症学分野, ²⁾国立衛生疫学研究所, ハノイ, ベトナム,

³⁾カンホア保険局, ナーチャン, ベトナム

Background: Human Bocavirus (HBoV) was discovered in 2005. Although several studies reported that HBoV was commonly detected from respiratory samples, the role of HBoV on human disease has not been firmly established. Methods: A population based hospitalized acute respiratory infection (ARI) surveillance has been carried out at Khanh Hoa General Hospital (KHGH), Nha Trang since February 2007. Clinical-epidemiological data and nasopharyngeal samples were collected from all ARI cases. Samples from 350 healthy children from the study population were also collected. Multiplex polymerase chain reaction (PCR) assays were established and performed to detect HBoV and 12 other respiratory viruses. Result: From February 2007 to March 2011, a total of 2,736 pediatric ARI cases were enrolled. Respiratory viruses were detected in 64% the cases of which HBoV was found in 2%. Clinical-epidemiological analyses showed, HBoV positive cases were more commonly seen in boys, younger age group (<23mth) (p=0.001), less associated with wheezing (p=0.003) and associated with other viruses co-infection (p=0.003). HBoV was detected from 1.1% (4/350) of healthy children. Thus detection of HBoV from clinical sample did not increase the risk of pneumonia. Conclusion: HBoV prevalence was low and its infection alone was not significantly associated with severe respiratory infection. Further studies are required to clarify the role of HBoV and its co-infection with other virus or bacteria on childhood ARI/pneumonia in tropical countries.

P1-09 Phylogenetic Analysis of the Envelop Gene of Dengue-3 Virus from the Philippines

Corazon C. Buerano^{1,2,3)}, 鍋島 武¹⁾, G. Alonzo Maria Terrese^{1,3)}, C. Suarez Lady-Anne³⁾,
Ngwe Tun Mya Myat¹⁾, 井上 真吾¹⁾, R. Matias Ronald³⁾, F. Natividad Filipinas³⁾, 森田 公一¹⁾

¹⁾Department of Virology, NEKKEN, Nagasaki University, ²⁾長崎大学熱帯医学研究所分子疫学分野,

³Research and Biotechnology Division, St. Luke's Medical Center, Quezon City 1102, Philippines

Dengue is a major health problem that poses a great socioeconomic burden in the Philippines. Its severe form, dengue hemorrhagic fever (DHF)/dengue shock syndrome, when not properly managed, can lead to death. Dengue is the result of infection with any one of four dengue virus serotypes (DENV-1, -2, -3, and -4). DENV-3, which is the first serotype reported to have been associated with the early occurrence of DHF in the Philippines, is further classified into 5 genotypes: I, II, III, IV, and V. This study involves sequencing of the coding region of the envelop (E) gene of 52 DENV-3 strains isolated from Filipino patients in 1983 and 1995-2010. These sequences were compared with global sequences from the Genbank database. Twenty nine of the 1368 sequences of the E-gene retrieved from GenBank were of DENV strains from the Philippines isolated by foreign laboratories in 1956, 1983, and recent years. Phylogenetic analysis of all sequences identified DENV-3 genotypes I, II and V, as occurring in the Philippines. Genotype V was a 1956 isolate from the Philippines. The only genotype II isolate was from a traveller from Taiwan who visited the Philippines in 2010. From our data on current isolates, all are genotype I. The current major clade of this genotype has been present in the Philippines since the mid-1990' s, with sporadic introductions to neighboring countries, such as Taiwan, Singapore, Malaysia and Australia.

P1-10 デング熱の重症化: システマティックレビューとメタアナリシスによる検討

Associated factors and biomarkers with dengue shock syndrome: A systematic review and meta-analysis

Nguyen Tien Huy^{1,5}, Tran Van Giang¹, Dinh Ha Duy Thuy², 菊池三穂子⁵, Tran Tinh Hien³,
Javier Zamora⁴, Kenji Hirayama⁵

¹Department of Clinical Product Development, NEKKEN, Nagasaki University,

²京都大学医学研究科附属 脳機能総合研究センター, ³Wellcome Trust Major Overseas Programme, Oxford University Clinical Research Unit, Ho Chi Minh City, Vietnam, ⁴Clinical Biostatistics Unit, Ramón y Cajal Hospital and CIBER Epidemiologia y Salud Publica (CIBERESP), Spain, ⁵Department of Immunogenetics, NEKKEN, Nagasaki University

Several risk factors and biomarkers are reportedly associated with dengue shock syndrome (DSS), but the results from these reports remain inconclusive. To estimate the overall association of risk factors and DSS over dengue hemorrhagic fever (DHF), we systematically reviewed and performed a meta-analysis of relevant studies that reported factors in both DSS and DHF patients. PubMed, EMBASE, Scopus, Google Scholar, Dengue Bulletin, Cochrane Library, Virtual Health Library, and a manual search of reference lists of articles published before September 2010 were used to retrieve relevant studies. A meta-analysis using fixed- or random-effects models was used to calculate pooled odds ratios (OR) or event rate with corresponding 95% confidence intervals. Assessment of heterogeneity and publication bias, meta-regression analysis, sensitivity analysis, and analysis of factor-specific relationships were further performed. We selected 198 studies constituting 203 data sets that met our eligibility criteria. Our meta-analysis showed that younger age, female, neurological signs, respiratory failure, nausea/vomiting, abdominal pain, gastrointestinal bleeding, hepatomegaly, ascites, pleural effusion, gallbladder wall swelling, hypoalbuminemia, hypoproteinemia, hyponatremia, increased level of blood lactate, acidosis, increased ALT or AST, thrombocytopenia, leukocytosis, increased hematocrit, coagulation dysregulation, complement activation, increased prostacyclin, decreased total cholesterol, decreased LDL, DENV-2, secondary infection, increased TNF- α and increased IL-6 were positively associated with DSS. The results improve our knowledge of the

pathogenesis of DSS by identifying the association between the epidemiology, clinical signs, and biomarkers involved in DSS.

P1-11 デングショック症候群患者の反復性ショックを初回のショック時の臨床データにより予測する方法の病院記録からの検討

Development of clinical decision rules to predict recurrent shock during a patient' s first dengue shock episode

Nguyen Tien Huy^{1,2)}, Nguyen Thanh Hong Thao³⁾, Tran Thi Ngoc Ha⁴⁾, Nguyen Thi Phuong Lan⁵⁾, Phan Thi Thanh Nga⁶⁾, Tran Thi Thuy³⁾, Ha Manh Tuan³⁾, Cao Thi Phi Nga⁷⁾, Vo Van Tuong⁷⁾, Tran Van Dat⁷⁾, Vu Thi Que Huong⁴⁾, Juntra Karbwang²⁾, Kenji Hirayama¹⁾

¹⁾ Department of Immunogenetics, NEKKEN, Nagasaki University,

²⁾ Department of Clinical Product Development, NEKKEN, Nagasaki University,

³⁾ Children' s Hospital No. 2, 14 Ly Tu Trong Street, Ho Chi Minh City 70000, Vietnam,

⁴⁾ Laboratory of Arbovirus, Pasteur Institute in Ho Chi Minh City, 167 Pasteur Street, Ho Chi Minh City 70000, Vietnam,

⁵⁾ Department of Immunology & Microbiology, Pasteur Institute in Ho Chi Minh City, 167 Pasteur Street, Ho Chi Minh City 70000, Vietnam,

⁶⁾ University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, 217 Hong Bang, District 5, Ho Chi Minh City 70000, Vietnam,

⁷⁾ Center for Preventive Medicine, 24 Hung Vuong Street, Vinh Long 91000, Vietnam

Approximately 30% of dengue shock patients have recurrent shock that requires a treatment change. Here, we report development of a clinical rule for use during a patient' s first shock episode to predict a recurrent shock episode. We included 444 dengue patients with shock, 126 of whom had recurrent shock (28%) from Center for Preventive Medicine in Vinh Long province and the Children' s Hospital No. 2 in Ho Chi Minh City, Vietnam. Univariate analysis and a preprocessing method were used to evaluate and select 14 clinical and laboratory signs available at the shock onset, and then 11 prediction models were trained and validated by a 10-fold validation strategy with 10 times of repetition, using the WEKA 3.7.7 to find the optimal model. Results showed that shorter admission day (fever days prior to admission), purpura/ecchymosis, gastrointestinal bleeding, ascites/pleural effusion, low platelet count, and narrow pulse pressure were associated with recurrent shock. All 11 prediction models were capable of predicting recurrent shock with relatively good accuracy (area under receiver operating characteristic curves; AUCs > 0.5, p < 0.05) when compared to the null method. The simple traditional logistic model was chosen because it was not outperformed by other models and is easy to apply in clinical practice. Our simple rule provided relatively good accuracy (AUC, 0.73; sensitivity and specificity, 68%). We derived a clinical rule to predict recurrent shock during a patient' s first dengue shock episode.

P1-12 Mechanism of Increased Vascular Permeability among Patients with Severe Secondary Dengue Virus Infection

Alonzo Maria Terrese¹⁾, Natividad Filipinas²⁾, Kouichi Morita¹⁾

¹⁾ Department of Virology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ Research and Biotechnology Division, St. Luke's Medical Center

A number of immune mediators that regulate vascular permeability in severe dengue virus infection have been reported such as IL-4, -8, -12 and TGF-beta. Majority of these mediators have anti-inflammatory properties, and thus limiting tissue inflammation and destruction. Therefore, the overall lack of tissue damage and the transient nature of plasma leakage in patients with dengue hemorrhagic fever suggest that permeability mediators with minimal pro-inflammatory effects may play an important role in the mechanism of increased vascular permeability in severe dengue infection. Our in vitro study using human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) showed a significant increase in vascular permeability during the critical phase of infection, which evidently constitutes to the clinical manifestation of dengue hemorrhagic cases in humans. Cell staining after the permeability assay also revealed a broken HUVEC monolayer integrity on dengue patient serum-treated cells compared to mock-treated HUVEC and HUVEC treated with serum from healthy controls, as shown by the increase in spaces between cells. Furthermore, the vascular endothelial growth factor (VEGF) was also found to be at the highest level in the DHF patient serum during the critical phase compared to acute and convalescence phases, as well as healthy controls. And interestingly, the kinetics of transforming growth factor beta (TGF-beta) showed a significantly decreased level during the acute phase and gradually increased to normal levels during critical and convalescence phases. The precise roles of these cytokines in the mechanism of increased vascular permeability during dengue virus infection are being warranted.

**P1-13 デング熱の重症化は急性期の末梢血ヘルパー T細胞分画比 (Th1/Th2) に影響される
Proportion of T helper 1 / T helper 2 may determine the clinical course in the acute dengue infection**

Nguyen Van Thuong¹⁾, Nguyen Thi Phuong Lan¹⁾, Le Chi Thanh²⁾, Cao Minh Thang¹⁾, Cao Thi My Nhon³⁾, Cao Thi Hong Nhung¹⁾, Nguyen Thi Mai¹⁾, Nguyen Quang Truong¹⁾, Vu Thien Thu Ngu¹⁾, Do Kien Quoc⁴⁾, Tran Thi Ngoc Ha¹⁾, Nguyen Tien Huy⁵⁾⁶⁾, Tran Ton²⁾, Mihoko Kikuchi⁶⁾, Luong Chan Quang⁴⁾, Tran Van An³⁾, Vu Thi Que Huong¹⁾, Kenji Hirayama⁶⁾

¹⁾Department of Immunology and Microbiology, Pasteur Institute Ho Chi Minh City,

²⁾HIV Laboratory, Pasteur Institute Ho Chi Minh City, Vietnam,

³⁾Nguyen Dinh Chieu Hospital, Ben Tre Province, Vietnam,

⁴⁾National program for Dengue control, Pasteur Institute Ho Chi Minh City, Vietnam,

⁵⁾department of Clinical Product development, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

⁶⁾Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University

Lymphocyte activation is necessary to produce anti virus immunity, however, it also make so called cytokine storm that resulting in plasma leakage in dengue infection. The exact mechanism of how the lymphocytes do good or bad in this process remains unclear. This study aims to see the dynamic of different T cell subsets in the course of different severity of acute infection. A total of 64 dengue patients were enrolled at Nguyen Dinh Chieu hospital-Ben Tre province, from July 2011 to May 2013. WHO 2009 standard was used to classify dengue patients and fever days was calculated based on the day of defervescence, Day 0 (D0). Flow cytometry analysis between mild syndrome (DF + mild warning sign) group and severe group (severe warning sign + shock syndrome) showed, (1)

Th1-skew immune response over Th2 in the second fever phase in the mild group, (2) CD8 T effector deep reduction in the severe group at D(-1). Consistently, circulating B cells (CD19+) was tendency higher in the mild group from D(1) to D(3). HLA-A*24 allele that we previously reported to be susceptible to severe dengue influenced the dynamics of Th1/Th2 change. These findings would indicate the preventive function of Th1 against the severe form.

P1-14 デングウイルス感染ヒト培養細胞におけるI型インターフェロンの発現抑制

内田 玲麻, Espada-Murao Lyre Anni, 森田 公一
長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野

【背景・目的】 デングウイルス (DENV) 感染症は世界で年間5000万人に感染者が発生し社会的, 経済的に深刻な影響を及ぼしているが, ヒトにおけるウイルスの動態・自然免疫応答には不明な点が多い。DENVはヒトで高い増殖性を示しヒト-蚊間において感染環が成立する。一方, DENVと近縁の日本脳炎ウイルス (JEV) はブタを増幅動物として蚊との間で感染環が維持され, ヒトでは低いウイルス血症を示す。我々は, JEVがヒト培養細胞で早期にI型インターフェロン (IFN) を誘導し感染が収束するのに対し, ブタ由来細胞ではIFN誘導が遅延して高い増殖性を獲得しており, これがウイルス由来dsRNAの細胞内PRRsによる検出を回避する機構による事を明らかにした。本研究ではDENVがヒトで高い増殖性を示す原因を明らかにする為, DENV感染ヒト培養細胞におけるI型IFNの動向を検証し, その制御機構を解明する事を目的とした。**【材料・方法】** 2種類の霊長類由来細胞 (HeLa, LLC-MK2) を用いて, DENV (16681株), JEV (JaOArS982株) の増殖能を比較検証した。また, 感染細胞におけるウイルスRNAの増加とI型IFN発現をReal-time PCR法により経時的な定量解析を行った。さらに, DENVとJEVのキメラウイルスを用いてヒト培養細胞におけるI型IFN発現動向を検証した。**【結果・今後の目標】** MOI-1, 10でウイルスを感染させた実験ではDENV, JEVのいずれも感染24時間後に細胞内ウイルスRNA量は上限値に達しており, IFN β はJEVでは高い誘導性を示したが, DENVでは低いレベルであった。今後, DENVでのI型IFN低産生性・抑制機構の分子基盤を明らかにするとともに, 両ウイルスにおけるヒトでの増殖性の違いを, I型IFN誘導の観点から明らかにしていきたい。

P1-15 キメラデングウイルス様粒子抗原の中和及び感染増強試験における有用性評価

山中 敦史¹⁾, 鈴木 亮介²⁾, 小西 英二¹⁾

¹⁾大阪大学 微生物病研究所 デングワクチン (阪大微生物病研究会) 寄附研究部門,

²⁾国立感染症研究所ウイルス第二部

デング熱・デング出血熱は世界中の熱帯・亜熱帯地域に分布し, 約25億人がデングウイルスの感染リスク下にある。機序は未だ明らかではないが, 中和抗体は防御に, また感染増強抗体は発症及び重症化に関与すると言われており, これらの機能抗体の活性を測定する試験 (中和試験や増強試験) は, 病態の解明や予防・診断・治療法の開発に重要である。ところが, これらの試験には感染性ウイルスを使用するため, 安全性が問題となる。最近, 1回のみ細胞に感染し, それ以降の増殖を示さないように設計したキメラフラビウイルス様粒子が構築された (鈴木ら, 論文投稿中)。本研究では, キメラデングウイルス様粒子 (VLP) 抗原の, 抗体測定における有用性を評価した。VLPを作製するために, 日本脳炎ウイルスのカプシド及び非構造タンパク領域をコードしたレプリコンプラスミドとデング1型ウイルス望月株のprM/Eタンパク発現プラスミドを293T細胞にコトランスフェクション

した。培養3日後の上清を回収し、これをVLP抗原とした。機能抗体試験として、中和活性と増強活性のバランスを測定するための試験（中和・増強試験）を用いた。抗体材料としては、3種類の抗 Dengue 1 型ウイルスモノクローナル抗体を用いた。中和・増強試験により、これらの抗体が示す活性の違いを、望月株と望月株由来VLP抗原間で比較した。作製されたVLPは、K562およびVero細胞に1回しか感染性を示さないことを確認した。用いた3種のモノクローナル抗体は、1:濃度依存的に中和及び増強活性、2:中和のみ、3:増強活性のみを示す抗体であったが、中和・増強試験で得られた濃度依存的反応曲線は、いずれもウイルスとVLP間で類似した。本研究で用いられたVLP抗原は、中和及び感染増強試験において、Dengueウイルスの代替抗原として使用可能であることが示唆された。

P1-16 有効性及び安全性の高い Dengue ワクチンの開発へ：Fc γ レセプター (Fc γ R) 発現細胞を用いた新規中和アッセイにより Dengue ウイルス中和抗体価およびウイルスカ価の検討
Towards a safe and effective dengue vaccine: assessment of dengue neutralizing antibody and viremia titers using a novel assay by Fc γ R-expressing cells

Moi Meng Ling, 林 昌宏, 倉根 一郎, 西條 政幸, 高崎 智彦
Department of Virology No 1, National Institute of Infectious Diseases

【目的】 A major obstacle to dengue vaccine development is the potential infection-enhancement activity induced by vaccination. Infection-enhancement activity to dengue virus (DENV) is speculated to hamper antibody neutralizing activities and enhance DENV infection of Fc γ R-expressing cells, leading to severe and life-threatening illness, dengue hemorrhagic fever (DHF). **【方法】** Biological properties of antibodies in protection against DENV infection is based on the antibody neutralizing titers are generally determined by using Fc γ R-negative cells based-conventional neutralizing antibody assay. Thus, we developed a novel neutralizing antibody assay using Fc γ R-expressing cells and examined the infection-enhancement activity and neutralizing activity in serum samples from patients and experimentally-infected non-human primates (NHPs). **【成績】** Serum samples with low neutralizing activity demonstrated infection-enhancing activity. Those with high neutralizing activity demonstrated low or no infection-enhancement activity in Fc γ R-expressing cells. Additionally, neutralizing activity to the infecting DENV serotype detected by using Fc γ R-negative was absent in Fc γ R-expressing cells. Higher levels of viremia were detected using Fc γ R-expressing cells as compared to Fc γ R-negative cells in serum samples obtained from patients and NHPs during secondary dengue infection. Our results suggest that in comparison to conventional assays using Fc γ R-negative cells, Fc γ R-expressing cells may better reflect the biological properties of antibodies in vivo. **【結論】** In summary, we established an assay which possesses the ability to detect the sum of infection-enhancement and neutralizing activities. The novel assay provides a platform to define dengue virus infectivity and viremia titers in the presence of neutralizing and enhancing antibody activities.

P1-17 ベトナムに棲息するコウモリに潜むヘニパウイルス
Henipavirus infection among bats in Vietnam

Thi Thu Thuy¹⁾, Dang Thi Dinh²⁾, Pham Hoai Linh Ly²⁾, Nguyen Co Thach¹⁾, 鍋島 武³⁾, 余 福勳³⁾,
Le Thi Quynh Mai¹⁾, 森田 公一³⁾, 長谷部 太^{2,3,4)}

¹⁾Dept. of Virology, National Institute of Hygiene and Epidemiology,

- ²⁾ Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki Universityベトナム拠点,
³⁾ Department of Virology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,
⁴⁾ 長崎大学国際連携研究戦略本部

In recent years, microorganism surveillance has been conducted on bats which are potential reservoir hosts for viruses that can cross species barriers to infect humans and other mammals. Since 2007, we have been conducting bat surveillance in Vietnam to determine the prevalence of zoonotic viruses in bats; investigate the status of bat hunting, cooking and dietary habits among the residents; and assess risk of infection from bats to humans. Serum samples from bats were collected in Vietnam. Through indirect IgG ELISA, antibodies cross-reactive to Nipah virus of the genus Henipavirus were detected in 31 (41.9%) of 74 *Rousettus leschenaultia* and 3 (2.8%) of 109 *Cynopterus sphinx*. By neutralization test, 2 of *R. leschenaultia* were found positive. By RT-PCR, henipavirus gene was amplified from spleen specimens of 3 (2.0%) of 150 *Cynopterus sphinx* and 11 (17.5%) of 63 *Chaerophon plicata* (insectivorous bat). Phylogenetic analysis of the sequenced PCR amplicons showed that the henipaviruses detected in the present study belong to the different cluster of the henipavirus group. This suggests that many bats may be infected by different types of henipaviruses. Other studies indicated that frugivorous bats of the genus *Pteropus* are the main reservoir for Nipah virus in the Southeast Asian countries. However our study suggests that henipaviruses are maintained among nonpteropid bats in Central and Northern Vietnam. Thus, a long-term systematic surveillance of bats is needed to determine the ecological relationship between bats, humans, other animals and the environment.

P1-18 ベトナム北部の生鳥市場のアヒルから分離された鳥インフルエンザウイルス遺伝子解析

堀田 こずえ¹⁾, 曾田 公輔²⁾, 宇野 有紀子²⁾, 永井 泰子²⁾, リ マイ³⁾, 尾崎 弘一²⁾, 伊藤 啓史²⁾,
 伊藤 壽啓²⁾, 山城 哲¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 ベトナム拠点, ²⁾鳥取大学 農学部, ³⁾ベトナム国立衛生疫学研究所

【目的と意義】 2003年から現在まで、ベトナムでは高病原性鳥インフルエンザウイルス(HPAIV)が家禽の間で流行しており、HPAI制圧に向けて、ベトナム政府は家禽へのワクチン接種キャンペーンを行ってきた。加えて、大規模な生鳥市場の休止が2005年に始まり、2006年には完全に廃止され、一般の市場内でも生鳥を取り扱うことが禁止された。しかし、近年、一般の市場内で生鳥を取り扱うところが増えてきており、HPAI蔓延の温床となっている可能性が高いと考えられる。そこで、当該地域の今後の防疫に資する情報を得るために、2011年9月から市場のアヒルにおけるAIVサーベイランスを実施し、HPAIVの侵淫状況を把握すると共に、分離ウイルスの遺伝子を解析した。**【方法および結果】** 2011年9月から現在までにハノイ市とクアンニン省の生鳥市場において、外見上健康なアヒルの口腔および糞排泄腔の拭い液を採材し、HPAIVの分離を試みた。結果、539サンプル中から147株のAIVが分離され、うち27株がHPAIVであった。これらHPAIVのH5HA遺伝子は系統解析によりclade2.3.2.1に属し、さらにVN-A (10株)、VN-B (1株) およびVN-C (16株) の3亜系統に分類された。ハノイ市およびクアンニン省で2013年に分離されたウイルスは全てVN-C亜系統に含まれ、うち3株は同年に中国でヒトおよび家禽から分離されたH7N9ウイルスと同一のPB1遺伝子を有していた。**【考察】** H5N1 HPAIVが継続的にベトナム北部の生鳥市場のアヒルに不顕性感染を繰り返し、他の動物への感染源となっている可能性が示された。ハノイ市および中越国境に位置するクアンニン省で同一のH5HAを有するHPAIVが分離され、その一部が中国で分離されたH7N9ウイルスと近縁な内部遺伝子を有していたことから、ベトナム北部～中国南部を含む一帯で、同じ遺伝子プールを共有するAIVに因る流行ゾーンが現在まで維持されているものと考えられる。

P1-19 トルコ民族薬用植物の抗インフルエンザ活性: *Alchemilla mollis* 抽出物のインフルエンザウイルスに対する殺ウイルス活性の可能性

Makau Juliann Nzembi¹⁾, 渡邊 健¹⁾, 小林 信之^{1,2)}

¹⁾長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科, ²⁾株式会社AVSS

【目的】 インフルエンザウイルスは毎年流行を繰り返し、時として世界流行を引き起こし甚大な被害をもたらす。現在、治療薬としてNA阻害剤が繁用されているが、既に薬剤耐性株が出現し流行拡大している。このような状況下で新規治療薬の開発は急務となっている。民間療法に用いられてきた薬用植物の研究は新規抗ウイルス薬発見のための有望なアプローチである。本研究ではトルコの民間薬として知られる薬用植物についての抗インフルエンザウイルス活性検証を目的とした。

【方法】 トルコの民間薬用植物（計9種）の乾燥葉より抽出液を調製し、MDCK細胞を用いた*in vitro*評価系にてA型インフルエンザウイルス(A/WSN/33, H1N1)に対する感染阻害効果を評価した。最も高い抗ウイルス活性を示した*Alchemilla mollis*のアルカリ抽出物 (*A. mollis*抽出物) については、ウイルス亜型間での活性比較、作用点解析としてプラーク形成試験及び血球凝集阻害試験による検討をおこなった。さらに、既存のNA阻害薬であるZanamivirとの併用効果についても検討した。

【結果】 トルコの民間薬用植物計9種の内、8種に抗インフルエンザウイルス活性が認められ、*A. mollis*抽出物が最も強い抗ウイルス活性を示した。同抽出物はA/WSN/33 (H1N1) のみならず他の亜型に対しても効果を示した。また、作用点解析の結果、ウイルス粒子に直接作用し、不活化又は中和活性を示すことが示唆された。さらに、Zanamivirとの併用により相乗的にインフルエンザウイルス複製を阻害した。

【考察】 本研究において複数のトルコ由来民族薬用植物に抗インフルエンザウイルス活性が見いだされ、特に*A. mollis*抽出物の有効性が明らかとなったが、Zanamivir等の抗ウイルス剤に比べそのSelective Indexは必ずしも高いものではなかった。しかし、活性の作用点が異なる為、Zanamivirと併用することで相乗的なウイルス感染阻害効果を得られることが示唆された。

P1-20 インターロイキン-15またはCD8T細胞を標的にしたインフルエンザAウイルス感染による急性肺障害治療の可能性

The possibility of the treatment targeting Interleukin-15 or CD8 T cells against the pathogenesis of influenza A virus-induced acute lung injury

Risa Nakamura^{1,2)}, 前田 直良³⁾, 柴田 健輔²⁾, 山田 久方²⁾, 橋本 俊聡⁴⁾, 吉開 泰信²⁾

¹⁾ Department of Parasitology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ 九州大学 生体防御医学研究所 感染制御学分野,

³⁾ 北海道大学 遺伝子病制御研究所 分子免疫学分野,

⁴⁾ 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 生体防御学分野

【Object】 It is generally accepted that highly pathogenic influenza infection induces excess immune responses that cause lethal lung injury. We have previously reported that Interleukin (IL)-15 -dependent CD8 T cells involved in the pathogenesis of influenza A virus-induced acute lung injury (Nakamura et al., J. Virology, 2010). In this study, we examined the mechanism of IL-15-dependent acute lung injury induced by influenza A virus infection and tried to develop antibody therapy targeting IL-15 or CD8T cells for the acute lung injury. **【Methods】** IL-15-knock out (KO) or β 2-microglobulin (β 2m) KO, Perforin KO, interferon (IFN)- γ KO mice and mice depleted of CD8 T cells by *in vivo* antibody administration were intranasally infected with influenza A/FM/1/47 (H1N1, mouse-

adapted strain). Mortality, viral titer and histopathology of the lung in these mice and infected C57BL/6 mice treated with anti-IL-15(clone AIO3, kindly provided by Dr. Ohteki) mAb were examined. **【Results】** IL-15 KO mice and β 2mKO mice exhibited reduced mortality after infection with influenza virus A/FM/1/47 albeit no difference in the viral titer from WT mice. The adoptive transfer of virus-specific CD8 T cells but not OVA-specific CD8 T cells deteriorated the survival of IL-15KO mice following infection. Furthermore, the survival rate of IL-15KO mice had received a transfer of perforin-deficient CD8 T cells was significantly reduced. In vivo administration of anti-CD8 mAb or neutralizing IL-15 mAb displayed reduced mortality rate after infection.[Conclusion] Anti-CD8 or anti-IL-15 antibody treatment might be useful for a therapeutic approach to control lung injury caused by influenza virus infection.

P1-21 抗エボラウイルス剤の開発に向けたシュードタイプウイルスによる感染性アッセイ系の確立

黒崎 陽平, 浦田 秀造, 安田 二郎
長崎大学 熱帯医学研究所 新興感染症学分野

【目的】 エボラ出血熱はエボラウイルス (EBOV) の感染を原因とする致死的な熱性疾患であり, 今世紀に入りアフリカサハラ以南において散発的な集団感染例が毎年報告されている。しかし現在も尚, EBOVに対する有効なワクチンや薬剤はなく, 治療法も確立されていない。今回EBOVの増殖を抑制する新規化合物のスクリーニング法を確立することを目的に, EBOVのエンベロープタンパク質GPを覆ったシュードタイプウイルスによる宿主細胞への感染性アッセイ系の確立を試みた。**【方法】** EBOV GP-シュードタイプウイルスの作製は, マウス白血病ウイルス (MLV) によるレトロウイルスベクター作製システムを応用した。MLVのGag-Pol発現細胞にEBOV GP遺伝子, MLV粒子へのパッケージングシグナルとレポーター遺伝子配列をもつウイルスベクター遺伝子を共導入し, 培養上清中に産生されたシュードタイプウイルス粒子を回収した。これをアフリカミドリザル腎由来Vero細胞に感染させ, 数日後レポーターアッセイにて感染細胞を検出した。**【成績および結論】** ウイルス感染細胞の高感度検出を実現するため, 近年開発された深海エビ由来ルシフェラーゼ (NanoLuciferase, nLuc) をレポータータンパク質として用いたところ, 感染細胞からホタルルシフェラーゼと比較しS/N比で10倍高いシグナルを検出し, 感染後6日目でも最も高いnLuc活性を検出した。化合物ライブラリーから有用な候補化合物を探索するには小スケールでも評価できる高感度なアッセイ系が必要とされる。今回の結果から, nLucをレポータータンパク質に用いたEBOV GPシュードタイプウイルスによる感染性アッセイ系は, 細胞の侵入過程を阻害する抗EBOV剤のスクリーニング法として有用だと考えられる。

P1-22 Expression of recombinant SFTS virus nucleocapsid protein and development of antibody-detecting diagnostic test kits

余 福勲¹⁾, Ferdinard Adungo¹⁾, 泉川 公一²⁾, 栗原 慎太郎²⁾, 河野 茂²⁾, 早坂 大輔¹⁾, 森田 公一¹⁾
¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野, ²⁾第二内科 長崎大学病院

【Introduction】 In 2009, the emergence of a novel disease characterized by severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS), caused by a new phlebovirus, SFTS virus (SFTSV) was observed in central China. SFTSV is a member of the Phlebovirus genus in the Bunyaviridae family. Nucleocapsid(N) protein is one of the most

immunodominant viral proteins among members of the Bunyaviridae family. **【Materials and Methods】** SFTSV-N protein was expressed in *E. coli* and purified by histidine-tag based affinity chromatography. The purified recombinant protein was used to immunize BALB/C mice to make monoclonal antibodies. Recombinant SFTSV-N protein based indirect IgG ELISA, indirect IgM ELISA and IgM-capture ELISA for human sera were established. Serial serum samples from 2 SFTS patients and 160 healthy contacts were used to evaluate the newly established recombinant SFTSV-N protein based ELISA systems. **【Results】** Recombinant SFTSV N protein was successfully expressed and purified by using *E. coli* expression system. 32 hybridoma cell clones secreting monoclonal antibodies against SFTSV-N protein were developed. Recombinant SFTSV-N protein based indirect IgG ELISA, indirect IgM ELISA and IgM-capture ELISA for human sera were established. Serial serum samples from SFTS patients and serum samples from healthy contacts results indicating that the newly established sero-diagnosis methods were sensitive and specific. **【Discussion】** Our data indicate that the SFTSV-N protein is a good target for diagnosis. Our SFTSV-N protein-based ELISA systems are useful and safe tools for diagnosis of SFTS virus infections and especially fit to be used in large-scale epidemiological investigations.

P1-23 ラッサウイルスの粒子形成・出芽解析

浦田 秀造, 安田 二郎

長崎大学 熱帯医学研究所 新興感染症学分野

ラッサ熱は主に西アフリカで蔓延しているウイルス性熱帯病であり、げっ歯類のマストミスが自然宿主と考えられている。毎年数十万人の感染者が報告され、発症者の30-40%が死に至る。現在、リバビリンが治療薬として使用されているが、副作用が強いこと、感染初期に静脈内注射が必要であることから、新たな治療法の確立が喫緊の課題となっている。

我々はラッサウイルスの細胞内増殖機構、特に感染後期過程の粒子形成・出芽過程に着目して研究を進めてきた。これまでにZタンパク質が粒子形成・出芽過程に中心的な役割を果たし、その細胞内単独発現がウイルス様粒子を形成することを明らかにし、また、出芽を制御する宿主因子の同定も行ってきた。

本研究ではラッサウイルスのZタンパク質による出芽制御、および表面糖タンパク質GPCによる出芽への影響を解析した。Zタンパク質は99アミノ酸で構成され、2番目のGlycine及びC末端に位置するLDメインと呼ばれる短いアミノ酸モチーフがそれぞれミリスチル化及び宿主因子との結合に必須であり、出芽を制御する。そこで、これらのアミノ酸を除き、約10アミノ酸ずつ削ったZタンパク質欠損変異体を作製して出芽に与える影響を検討した。その結果、Zタンパク質のN末端3-10番欠損体がミリスチル化阻害による出芽阻害を起こすことが明らかとなった。また、細胞膜の特定部位である脂質ラフトの阻害剤 ($M\beta CD$) はZタンパク質によるウイルス様粒子産生には影響しないが、GPCとの共発現によるウイルス様粒子産生を著しく減少させることが明らかとなった。

本研究によってラッサウイルスZタンパク質の出芽を制御する新たなシス配列 (3-10番目のアミノ酸) 及びGPCによるウイルス粒子産生への影響、更には出芽における脂質ラフトの重要性が明らかとなった。

P1-24 未知の蚊媒介性ウイルスを探索する

鍋島 武¹⁾, 井上 真吾¹⁾, 岡本 健太¹⁾, H. Guillermo Posadas¹⁾, Yu Fuxun¹⁾, F. Natividad Filipinas⁴⁾,
一瀬 昭豊²⁾, 坂口 美亜子²⁾, 砂原 俊彦³⁾, 森田 公一¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野, ²⁾長崎大学 熱帯医学研究所 共同研究室,

³⁾長崎大学 熱帯医学研究所 病害動物学分野,

⁴⁾Research and Biotechnology Division, St. Luke's Medical Center, Quezon City 1102, Philippines

熱帯地域におけるアルボウイルスの調査の一環として、2005年フィリピン・ルソン島南部のリザール州タナイ町の養豚場で採集した蚊よりウイルスの分離を試みた。蚊を電動吸虫管にて採集し、株化細胞 C6/36(*Aedes albopictus* 蚊由来) に対し、細胞変性効果を起こす3つのサンプルを得た。代表的なアルボウイルスである *Flavivirus*科, *Togavirus*科 *Alphavirus*属, および *Bunyavirus*科のウイルスに対して特異的なプライマーセットを用いてRT-PCRを試みたが、いずれの検査結果も陰性であった。そこで、感染培養液中のウイルスを超遠心法にて沈殿、超音波で破碎し、トリプシンにて変性させた後、LC-ESI-MS/MSアッセイでウイルスタンパクの配列を解析したところ、*Yunnan Orbivirus* (*Reoviridae*科, *Orbivirus*属, 以下YUOV)のカプシドタンパクを検出した。YUOVは牛、豚等の哺乳類に感染し、蚊により媒介されるアルボウイルスであると考えられている。しかしながら、電子顕微鏡でこの培養上精を観察すると、YUOVのウイルス粒子と思われる円形の像のほか、突起を伴う未知の粒子が存在していた。Roche 454 GS Junior pyrosequencerを用いて、培養上精に含まれるRNAの網羅的なシーケンシングを行ったところ、YUOVのGenomic RNAの他に、約9.5kbの未知の配列を持つcontigを得た。このRNAはポリシストロニックであると考えられ、最長のORFにはRNA依存性RNA合成酵素(以下RdRp)や、viral RNA helicase等、RNAウイルスに特異的なモチーフを含んでいた。RdRpのアミノ酸配列からは、今回発見されたウイルスは植物を寄主とするウイルス群に近縁となる。

P1-25 パプアニューギニア高地における腸内細菌の栄養機能の研究：プロジェクトの紹介

梅崎 昌裕¹⁾, 森田 彩子¹⁾, 富塚 江利子¹⁾, 猪飼 桂^{1,2)}, 夏原 和美⁴⁾, 内藤 裕一³⁾, 田所 聖志¹⁾,
小谷 真吾⁵⁾, 馬場 淳⁶⁾

¹⁾東京大学 大学院医学系研究科 国際保健学専攻 人類生態学教室, ²⁾長崎大学,

³⁾チュービンゲン大学, ⁴⁾日本赤十字秋田看護大学, ⁵⁾千葉大学, ⁶⁾東京外国語大学

パプアニューギニア高地にはエネルギー摂取量の80%近くをサツマイモに依存する人々が生活している。彼らのタンパク摂取量は現代栄養学の定める基準を下回るにもかかわらず、成人男性は巨大な筋肉を発達させている。この理由を解明するために多数の栄養学研究が実施され、パプアニューギニア高地人は、尿素の再利用効率が高いこと、不可避窒素損失量が低いことなどが報告された。1960年代の研究では、窒素出納が負であることが報告され、腸内細菌による窒素固定がタンパク栄養に寄与している可能性も指摘された。しかしながら、1990年代以降、パプアニューギニア高地人が有する可能性のある特異なタンパク栄養機能についての研究は行われていない。演者は、パプアニューギニア高地人の低タンパク適応のメカニズムを解明することを目的として、2010年より学際的なプロジェクトを組織し、調査・研究をおこなってきた。プロジェクトでは、特に、腸内細菌の機能に着目した。これまで、パプアニューギニア高地の3集団、パプアニューギニア低地の1集団で糞便サンプルを収集し、個人ごとの腸内細菌叢の評価、個人の腸内細菌叢とタンパク摂取量との関連分析、腸内細菌叢と栄養・健康にかかわるバイオマーカーとの関連分析などをすすめてきた。本発表では、本プロジェクトの枠組みを説明した上で、これまでに明らかになったパプアニューギニア高地人の低タンパク栄養にかかわる知見を報告する。

P1-26 ベトナム、ハノイの高次医療機関に入院となる未分類熱性疾患患者におけるレプトスピラ症

Leptospirosis among patients with undifferentiated febrile illnesses admitted to a tertiary hospital in Hanoi, Vietnam

Ngo Chi Cuong¹⁾, 有吉紅也¹⁾, 吉田レイミント¹⁾, 小泉信夫²⁾, Pham Thanh Thuy³⁾, 濱口杉大¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 臨床感染症学分野, ²⁾国立感染症研究所 細菌第一部,

³⁾バクマイ病院 感染症科

Background

Undifferentiated febrile illness is a challenging issue especially in developing countries where confirmatory tests are not fully available. Leptospirosis is one of the major etiologies of undifferentiated fever. No major research on leptospirosis among undifferentiated febrile illnesses has been conducted in northern Vietnam to the best of our knowledge. We are conducting a prospective study of fever without definitive diagnosis to understand undifferentiated febrile illness. We investigated leptospirosis among undifferentiated fever patients. This is a progress report.

Method

We enrolled adult patients with undiagnosed fever admitted to the Infectious Disease Department of Bach Mai Hospital, Hanoi, and collected paired serum samples. We conducted loop-mediated isothermal amplification method (LAMP) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in undifferentiated fever patients.

Result

From June 11th to November 29th 2012, we enrolled 673 cases and 359 cases with complete clinical information were analyzed, 183 cases belonged to undifferentiated fever group. LAMP for leptospira was positive in one patient, LigA-IgM ELISA in 8 patients, and Patoc-IgM ELISA in 8. Eleven patients were positive in any test. The mean age of 11 patients was 31 ± 12.61 years old. Male was dominant. Major clinical findings were headache, rigor, icteric conjunctiva, abdominal pain, hepatomegaly, leukocytosis, elevated transaminase, and high C-reactive protein. Most patients responded well to antibiotic therapy.

Conclusion

Only 6% of undifferentiated febrile cases were positive for leptospira (11/183). Leptospirosis seems unlikely to be a major organism of undifferentiated fever in northern Vietnam. The sample size was not large enough to make a final conclusion.

P1-27 Ventilator associated pneumonia versus multidrug resistant organisms at Tribhuvan University Teaching Hospital (TUTH), a tertiary care hospital, Kathmandu, Nepal

Pokhrel Bharat¹⁾, Shrestha Ram¹⁾, Sherchand Jeevan²⁾, 羽石 弓子³⁾, 切替 照雄⁴⁾, 小原 博³⁾

¹⁾Dept of Microbiology Institute of Medicine, Tribhuvan Univ,

²⁾Public Health Research Laboratory and Microbiology, Institute of Medicine, Tribhuvan Univ,

³⁾国立国際医療研究センター 国際医療協力局, ⁴⁾国立国際医療研究センター 研究所 感染制御部

Introduction: Ventilator Associated Pneumonia (VAP) is the most common nosocomial infection among intensive care unit (ICU) patients. Organisms causing VAP are mostly Multi Drug Resistant (MDR)

Objective: To determine prevalence and bacteriological profile of VAP with special reference to multi-drug

resistant (MDR), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Metallo- β -Lactamase (MBL), Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) producing bacterial strains.

Methods: Total 150 tracheal specimens were studied during June 2011 and May 2012 at Department of Microbiology, TUTH as described by American Society for Microbiology (ASM). Combination disk method was used for the detection of ESBL and MBL producing isolates.

Results: Of the total 150 cases, 34% patients developed VAP. *Acinetobacter calcoaceticus baumannii* complex (44%) was the commonest isolate, followed by *Klebsiella pneumoniae* (22%), *Pseudomonas aeruginosa* (16%) and *Staphylococcus aureus* (12%). Eighty percent gram negative bacterial isolates were MDR. Among them 39% were MBL and 33% were ESBL-producers. Prevalence of MRSA was 75%, which were all sensitive to Vancomycin.

Conclusion: Study shows high prevalence of VAP, MDR along with MRSA or ESBL or MBL producing strains. Thus, suitable control measures must be adopted to cope with this alarming situation.

P1-28 レプトスピラ感染症診断における組み換えタンパク質抗原 leptospiral immunoglobulin-like A を用いたIgM ELISAの有用性

北庄司 絵美¹⁾, Lacuesta Talitha²⁾, 鈴木 基¹⁾, 薄田 大輔¹⁾, 神白 麻衣子¹⁾, Dimaano Efren²⁾, Villarama Benito²⁾, 有吉 紅也¹⁾, 小泉 信夫³⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 臨床感染症学分野, ²⁾San Lazaro Hospital, Metro Manila, the Philippines,

³⁾国立感染症研究所 細菌第一部

レプトスピラ症の診断方法として、培養とmicroscopic agglutination test (MAT)がgold standardとされているが、煩雑で臨床現場では実用的でない。より簡便・迅速な検査法の確立を目的とし、レプトスピラ症蔓延地域における組み換えタンパク質抗原leptospiral immunoglobulin-like A (LigA)を用いた IgM ELISAの有用性を検討した。2011年から2012年にかけて、フィリピンの首都マニラに位置する国立感染症病院であるサンラザロ病院にて、臨床的にレプトスピラ症を疑われた18歳以上の入院患者を対象に、前向き観察研究を行った。対象症例から臨床情報の収集および検体採取（急性期：血液・尿、解熱期：血液）を行った。MAT陽性またはloop mediated isothermal amplification (LAMP)法でLeptospiral rrs遺伝子が同定された症例を確定診断例と定義し、血液ドナーバンクから提供された健康人100例の血液検体を対照とした。LigA IgM-ELISAと従来法のPatoc IgM-ELISAの感度と特異度を比較した。計70人のレプトスピラ症臨床診断疑いの患者が本研究に登録され、36人はペア血清を採取できた。症状発現から検査までの期間は、急性期7日(3-40日)、解熱期11日(6-46日)であった。39人が確定診断例に至り、38人(97.4%)が男性で、年齢の中央値は30歳(19-64歳)であった。Area under ROC curveは、LigA IgM-ELISAで0.88、Patocで0.77であった(p<0.05)。mean+3SD OD値(0.23)をcut-off値とした場合、LigA IgM-ELISAの感度と特異度は、急性期で66.7%と98.0%、慢性期で98.0%と98.0%であり、いずれもPatoc IgM-ELISAより高値であった。以上よりLigA IgM-ELISAは蔓延地域における臨床現場にて有用である可能性が示唆された。

P1-29 マウスモデルを使用したMycobacterium ulceransに対する抗体応答の解析

中村 創¹⁾, 齋藤 肇²⁾, 渡邊 峰雄¹⁾

¹⁾北里大学大学院 感染制御科学府, ²⁾国家公務員共済組合連合会吉島病院

【背景】

Buruli潰瘍は*M. ulcerans*によって引き起こされ、患者の多くは西アフリカの開発途上国に集中している。多額の費用や高いコンプライアンスが必要な治療は実施困難であり、ワクチンの開発が強く求められている。本研究では、ワクチンの効力評価に必要な感染モデルを作成するとともに、菌体抗原の免疫または感染によって産生される特異抗体の産生について調べた。

【方法と結果】

1 免疫血清の調製

*M. ulcerans*菌体または脂質除去処理した菌体をPBSに懸濁し、ホルマリン不活化した。これらの菌懸濁液をBalb/cマウス(6週齢, 雌)の鼠蹊部皮下に0.1 ml接種し、さらに3週間後に追加接種を行った。追加接種1週間後に血清を得た。

2 感染モデルの作製

*M. ulcerans*生菌またはホルマリン不活化した死菌を、Balb/cマウス(6週齢, 雌)の右足蹠皮下に $10^3 \sim 10^6$ cells接種した。接種後1週毎に右足の形状変化を観察し、4週間後に血清を回収した。その結果、 10^6 cells感染群で浮腫の形成および菌の増殖が観察された。

3 特異抗体の検出

*M. ulcerans*から抽出した菌体タンパク質をSDS-PAGEし、1および2で得られたマウス血清が認識する抗原をウエスタンブロッティングで解析した。その結果、脂質除去菌体免疫群には強い抗体応答が検出され、多くの菌体タンパク質が抗原認識されていた。感染群では 10^5 cells以上感染させた群で抗体応答が検出され、数種類の特異抗原が認識されていた。

【考察】

*M. ulcerans*免疫群の血清を解析した結果、菌体の脂質を除去することで抗体産生が飛躍的に高まることが分かった。これは脂質画分に含まれる免疫抑制因子が除去されたためと考えられ、ワクチン開発研究において重要な知見と考えられた。

また、*M. ulcerans*感染群の血清は、数種類の菌体タンパク質を特異的に認識した。それらは脂質除去菌体免疫群の血清でも同様に認識されており、ワクチンまたは診断用抗原として利用可能である可能性が考えられた。

P1-30 新規標的配列を用いたリアルタイムPCRによるBuruli潰瘍診断法の検討

菱田 沙裕理¹⁾, 齋藤 肇²⁾, 渡邊 峰雄¹⁾

¹⁾北里大学大学院 感染制御科学府, ²⁾国家公務員共済組合連合会吉島病院

【背景および目的】 Buruli潰瘍は、*Mycobacterium ulcerans*が引き起こす皮膚潰瘍である。Buruli潰瘍の診断には、本菌特異的なIS2404配列を標的としたリアルタイムPCRが用いられているが、当研究室でゲノム情報を解析したところ、IS2404は著しい多型性を示すことが明らかとなった。本研究では、多型性の影響を受けない新配列を標的としたリアルタイムPCR法を構築し、その評価を行った。

【方法および結果】 *M. ulcerans* 7菌株のシーケンス解析またはゲノム情報から得られた 212個のIS2404配列を解析、比較したところ、IS2404配列内には塩基置換やギャップが多く見られ、高い多型性を示すことが明らかになった。また、Fyfeら (AEM 73:4733, 2007) によって構築されたリアルタイムPCR法のプライマーおよびプローブが結合する部位は塩基配列の多型性を示し、多型が*M. ulcerans*の検出感度に影響を及ぼす可能性が考えられた。このため多型性の影響を受けないプライマーおよびプローブを設計し、*M. ulcerans*の検出感度を従来法と比較したところ、新たに構築したリアルタイムPCR法は従来法よりも高い感度を示した。一方、両者は結核菌および各種非結核性抗酸菌は検出せず、いずれも良好な特異性を有していた。

【考察】 IS2404の多型性を考慮して構築した新しいリアルタイムPCR法は、感度において従来法よりも優れ、特異

性は従来法と同様に高かった。この方法が広く使用されることで、Buruli潰瘍がより確実に診断できると考えられる。

P1-31 ベトナム人の小児肺炎における肺炎球菌の鼻腔定着率, 菌量および血清型分布について *Streptococcus pneumoniae* Bacterial Load and Multiple-Serotype Colonization in Childhood Pneumonia in Vietnam

Dhoubhadel Bhim Gopal¹⁾, Yoshida Lay Myint¹⁾, Anh Nguyen Hien²⁾, Minh Le Nhat¹⁾, Tho Le Hoo³⁾, Yasunami Michio¹⁾, Suzuki Motoi¹⁾, Morimoto Konosuke¹⁾, Anh Dang Dug²⁾, Ariyoshi Koya¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 臨床感染症学分野,

²⁾Department of Bacteriology, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam,

³⁾Khanh Hoa Health Service Centre, NhaTrang, Vietnam

Background: Effects of *Streptococcus pneumoniae* bacterial load and multiple serotype colonization in the development of pneumonia need to be elucidated. We applied the nanofluidic real time PCR system to investigate these effects in pediatric pneumonia cases in central Vietnam. **Methods:** A case-control study was conducted. Nasopharyngeal samples were collected from 226 chest x-ray confirmed pneumonia cases in Khan Hoa General Hospital and 350 randomly selected healthy children of less than 5 years in Nha-Trang. Samples were screened for *Streptococcus pneumoniae* and serotype specific load was measured using the nanofluidic real time PCR system that can identify 50 serotypes. **Results:** *S. pneumoniae* was detected in 85.8 % and 46.8 % of pneumonia and healthy children respectively. *S. pneumoniae* load was high in all the age groups. Median bacterial load was 100 times higher in the pneumonia cases than the controls (6 log₁₀/μL versus 4 log₁₀/μL; p<0.001). The prevalence of multiple serotype colonization was five times higher in the pneumonia cases (15.9% versus 3.14%; OR 5.83, 95%CI 2.81-12.98; p<0.0001); among these serotypes a single serotype dominated the other serotypes by contributing more than 99% of the total pneumococcal load (p<0.001). Thirteen-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) covered 70% of the prevalent serotypes in the pneumonia cases and 50% in the healthy children. **Conclusion:** Higher pneumococcal bacterial load and multiple serotypes were associated with pneumonia. The dominant serotype, with a higher bacterial load, seems to be the causal pathogen in pneumonia cases. Introduction of PCV will reduce the burden of pneumonia in Vietnam.

P1-32 わが国における *Aeromonas* 感染症の実態

森永 芳智¹⁾, 村田 美香¹⁾, 川元 康嗣¹⁾, 西村 典孝¹⁾, 原田 陽介¹⁾, 松田 淳一¹⁾, 宇野 直輝¹⁾, 長谷川 寛雄¹⁾, 河野 茂²⁾, 柳原 克紀¹⁾

¹⁾長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 展開医療科学講座 病態解析・診断学,

²⁾長崎大学病院第二内科

【目的】 *Aeromonas* 感染症は温暖なわが国では稀ではあるが、重症感染症を起こすことがある。わが国での感染症の特性についてのまとまった報告が少なく、当院での *Aeromonas* 感染症の臨床的背景と微生物学的側面を明らかにすることを目的とした。

【方法】 当院検査部で分離された *Aeromonas* 属のデータを元に、本菌による感染症53例の患者背景、微生物学的特

徴をレトロスペクティブに検証した。消化管感染症型、原発性敗血症型、肝胆道系感染症型の判断基準を設け、分離菌を分類した。検体が重複する症例では1症例1検体とした。保存菌株を用いて、微生物学的特性を検証し、66株については病原因子(aer, alt, ast)の遺伝子保有を検証した。

【結果】 消化管感染症18例、肝胆道系感染症23例、原発性敗血症5例、その他7例であった。肝胆道系感染症の13例で複数菌が検出された。薬剤感受性試験の特徴として、肝胆道由来株でピペラシリン、3世代セフェム、モノバクタムのMIC値の上昇を認めた。そこで、セフトジジムあるいはアズトレオナムのMICが $2\mu\text{g/mL}$ 以上の株をHigh MIC株をとしたところ、12株(肝胆道系由来9株、消化管由来3株、原発性敗血症0株)認め、 β ラクタム系薬前投与のある症例で多く認めた($p<0.05$)。予後への影響は認めなかった。また、解析が可能であった9株についてポロン酸によるDouble disc synergy testを行ったところ、肝胆道系由来の3株と消化管由来の1株が陽性で、染色体性AmpC遺伝子発現が亢進していた。腹水、血液、膿瘍由来株で病原遺伝子の保有率が高率であった。

【考察】 肝胆道系感染症においてセフェム系薬の低感受性株が多くみられ、その背景には β ラクタム系薬の前投与の関与が示唆された。一部にクラスCセファロスポリナーゼの過剰産生株が疑われた。*Aeromonas*肝胆道系感染症では薬剤感受性が低下した株が原因となっている可能性があり、抗菌薬選択には注意が必要であると考えられた。

P1-33 Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis - 科学的知見が導き出したMDAの基本戦略 -

森岡 翠¹⁾, 一盛 和世²⁾

¹⁾世界保健機関 本部事務局 元インターン, ²⁾世界保健機関 本部事務局

【背景】 Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis (GPELF) は、2020年までに世界からリンパ系フィラリア症を制圧することを目指すグローバルプログラムである。フィラリア伝播の遮断を目的としたMass Drug Administration (MDA) の明確な戦略を打ち出し、蔓延国の政治的コミットメントのもと、2011年には全蔓延国73ヶ国のうち53ヶ国でMDAやサーベイランスが展開された。本発表では、その戦略が構築された過程を、科学的知見がもたらした功績の観点から考察する。

【方法】 WHO Expert Committee on Filariasisが発行した5つの報告書、および関連する論文をレビューし、MDA戦略の根拠となったエビデンスを抽出して、体系的にまとめた。

【結果】 疫学データによって蔓延地域を特定し、リンパ系フィラリア症がもたらす社会的なインパクトを鑑みた、公衆衛生プログラムとしての効果的かつ効率的な投薬プロトコルが考案された。薬剤の選択や薬剤数、投薬頻度や投薬日数に関する基礎的・臨床的な研究やフィールドでのトライアルが繰り返され、DiethylcarbamazineもしくはIvermectinとAlbendazoleの2剤を併用し、蔓延地域の対象住民に年1回、5年間連続して集団投与することにより、伝播の再興が起らないレベルまで感染率を引き下げられることが証明された。

【考察・結論】 制圧プロセスの政策化を見据えながら、WHO Expert Committeeを中心に科学の力が集結し、エビデンスが蓄積された。戦略的とも言える研究の積み重ねの中でGPELFにおけるMDAの投薬プロトコルが形成され、公衆衛生上の課題であるリンパ系フィラリア症の世界制圧は実現可能なものとなった。

P1-34 地形および土地被服データを用いたフィラリア流行地域予測モデル**A Predictive model of residual areas of filariasis in Sri Lanka using remote sensing environmental and topography data**

Rathnapala Upeksha¹⁾, Yahathugoda T Channa²⁾, Weerasoriya Mirani V²⁾, 砂原 俊彦³⁾, 木村 英作⁴⁾,
伊藤 誠⁴⁾, 小林 信之¹⁾, 平山 謙二⁵⁾

¹⁾Department of Molecular Medicinal Sciences, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, ²⁾ルフナ大学医学部寄生虫学教室, ³⁾長崎大学熱帯医学研究所病害動物学分野,

⁴⁾愛知医科大学寄生虫学教室, ⁵⁾長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学分野

Detection of remaining filarial transmission is important to confirm elimination or to monitor re-emergence. However, residual endemic areas are difficult to find when the prevalence is reduced to low levels. Therefore practical methods to predict endemic areas are needed. We aimed to develop a statistical model to predict remaining filarial transmission using area-based surveillance data and freely available satellite image and topographic data. The area covered is Hambantota district in Southern province, Sri Lanka where an extensive survey of urine ELISA to detect IgG4 in 15 GN (Grama Niladhari) divisions and clinical examination to detect hydrocele in 24 GN divisions were carried out. Three land-cover indices were calculated from LANDSAT image and nine topographic indices were calculated from SRTM 3 (Shutter Radar Topography Mission 3) digital elevation model (DEM). Logistic regression model was used to examine the effects of land-cover and topographic variables on the proportions of hydrocoel and IgG4 positive subjects. Final model of urine ELISA included 6 independent variables: NDSI (Normalized Difference Soil Index), elevation, aspect, altitude above channel network and convergence index. NDVI (Normalized Difference Vegetation Index), NDWI (Normalized Difference Water Index), NDSI, elevation, aspect, plan curvature and analytical hillshading were the 7 independent variables included in the model for hydrocoel. Both models showed high correlation between predicted and observed prevalence.

P1-35 カンボジアにおける寄生蠕虫症対策の進展 1 —集団治療の意義と限界—**Archivements of control programme for helminthiasis in Cambodia 1**

大前 比呂思¹⁾, Muth Sinuon²⁾, Duong Sochet²⁾, 桐木 雅史³⁾, 林 尚子³⁾, 千種 雄一³⁾, 松田 肇³⁾,
Char Meng Chour²⁾

¹⁾国立感染研・寄生動物, ²⁾Nat Centre for Parasitol, Entomol and Malar Cont,

³⁾獨協医大・熱帯病寄生虫病

In the late 1960's, mekong schistosomiasis was described as a public health implication in communities along the Mekong River in Cambodia. But no systemic control programme had been practiced until a therapeutic intervention in 1994. The control campaign including mass drug administration (MDA) and health education started in 1997 and has been conducted almost every year in the endemic areas of Kratie and Stung Treng provinces. The local and central governments of Cambodia performed this programme with the assistance of some NGOs and international organizations including WHO. The coverage of MDA was between 62% and 86% for 15 years. And the prevalence has reduced from the baseline of 50% and more to below 2%. Through the progress of control programme, serological diagnosis using immunological method has been useful to monitor the effectiveness of interventions and detect the endemic foci of schistosomiasis. In the 1990's and the early 2000's, endemic areas for *Opisthorchis viverrini* were found in some provinces, Cambodia. To compare the prevalence in communities located along the

Mekong River, it was low in the targeted villages of MDA campaign to schistosomiasis control. Ultrasonographic examinations were used for the evaluation of morbidity due to schistosomiasis and will be used to distinguish the liver damage due to *S. mekongi* infection and *O. viverrini* infections. The experience in Cambodia demonstrates that schistosomiasis control is important as an entry point of helminthiasis control, and helminthiasis control is achievable with a strong political commitment and good collaboration of GO, NGOs and international organizations.

P1-36 糞線虫血症血清診断のための幼虫抗原の比較検討

Comparative assessment of the larval antigens for serodiagnosis of strongyloidiasis by enzyme-linked immunosorbent assay

Eamudomkarn Chatanun^{1,5)}, Sithithaworn Paiboon^{1,2)}, Sithithaworn Jiraporn³⁾, Sripan Banchob^{2,4)}, 伊藤誠⁵⁾

¹⁾Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University,

²⁾Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University,

³⁾Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University,

⁴⁾Department of Pathology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University,

⁵⁾愛知医科大学 医学部 感染・免疫学講座

The aim of this work is to develop and establish a protocol for an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the diagnosis of strongyloidiasis using *Strongyloides ratti* heterologous antigen, which can be prepared safely and easily with low cost compared with *S. stercoralis* in Thailand. ELISA systems using crude antigens from the third-stage larvae of *S. stercoralis* (Ss) and *S. ratti* (Sr) were evaluated with serum sample from 107 villagers in Ban Phai, Munchakiri and Chonnabot districts in Khon Kaen Province where strongyloidiasis is endemic. *Strongyloides*-specific IgG in serum samples were detected by ELISA. Among the 107 villagers, 50 (46.7%) were positive for strongyloidiasis determined by agar culture method, 80 (74.8%) and 83 (77.6%) were seropositive with ELISA using Ss or Sr antigens, respectively. Among the 50 parasitologically positives, 40 (80%) and 44 (88%) were seropositive with Ss and Sr ELISA, respectively. Specificity of the Ss ELISA was 99.0% and that of Sr ELISA was 97.9%. Cross reactions with other helminth infections were evaluated. No cross reaction was found with samples from angiostrongyloidiasis (n=2), taeniasis (n=2), hookworm infection (n=2), paragonimiasis (n=4), clonorchiasis (n=5) and ascariasis (n=2) patients for both antigens. These results suggest that the Sr antigen is suitable for serodiagnosis of strongyloidiasis with high sensitivity and specificity instead of Ss, which preparation is hazardous and costly. The northeastern part of Thailand is an endemic area for strongyloidiasis and a survey of the infection is essential for the control. The ELISA will be useful for such large scale survey.

P1-37 マルチプレックスアッセイ法を用いたマンソン住血吸虫由来組換え抗原の抗原性評価

谷川 智洋¹⁾, 藤井 仁人¹⁾, 三浦 雅史¹⁾, 濱野 真二郎¹⁾, 風 幸世¹⁾, Nzou Samson²⁾, Mwau Matilu²⁾, 金子 聡¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 生態疫学分野,

²⁾Centre for Infectious and Parasitic Diseases Control Research, Kenya Medical Research Institute (KEMRI), Kenya

日本では撲滅された住血吸虫症は、世界では今なお流行地が存在し、世界中で約2億人が感染しており、深刻な

社会・経済的問題である。主な住血吸虫症は、中国および東南アジアに分布する日本住血吸虫症、アフリカおよび南米に分布するマンソン住血吸虫症、アフリカおよび西アジアに分布するビルハルツ住血吸虫症がある。水中の幼虫セルカリアの経皮感染によって起こり、特に水との接触が多い子供たちが被害に遭いやすい。最もよく用いられる診断法は、糞便や尿からの虫卵検査であるが、検出感度が低い等の問題がある。

我々はこれまでに、Multiplex技術を用いた「顧みられない熱帯病」の複数感染症の一括抗体価測定法を開発してきた。異なる蛍光を持つマイクロビーズに個別の抗原を固定して、1つの反応系で血清中の多種類の抗原に対する抗体価を測定することが可能である。この技術を用いて、マンソン住血吸虫抗原の抗原性評価を目的とし、10種類の抗原（Glutathione S-transferase, RP26, Tropomyosin, Serine Protease Inhibitor, Cathepsin B, Legumain, Leucine aminopeptidase（2種類）, Filamin, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase）を大腸菌系で発現・精製し、マイクロビーズに固定した。ケニアのKwale地区、Mbita地区で採取した学齢期の子供の血漿について、上記抗原結合マイクロビーズによる測定を行い、虫卵検査との相関、ビルハルツ住血吸虫症との交差性などについて報告する。

P1-38 ヒト胆管癌異種移植ヌードマウスモデルを用いた β -eudesmolの抗がん作用のPET-CTによる評価

PET-CT and Anticancer Activity of β -eudesmol in Human Cholangiocarcinoma Xenografted Nude Mouse Model

Plengsuriyakarn Tullayakorn¹⁾, 松田 尚樹²⁾, 平山 謙二³⁾, Na-Bangchang Kesara⁴⁾, Karbwang Juntra¹⁾

¹⁾ Department of Clinical Product Development, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, ²⁾長崎大学 長崎大学先端生命科学支援センター,

³⁾ Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

⁴⁾Chulabhorn International College of Medicine, Thammasat University

Background:Cholangiocarcinoma (CCA) is a devastating cancer with increasing worldwide incidence and mortality rate, particularly in the northeastern region of Thailand. The discovery and development of chemotherapeutics and diagnostics that are effective for the treatment and control of CCA is urgently needed. The objective was to evaluate the anticancer activity of β -eudesmol and feasibility of positron emission tomography-computed tomography (PET-CT) in detecting CCA in xenografted nude mouse model with 2-deoxy-2-[F-18]fluoro-D-glucose (18F-FDG). Materials and Methods:BALB/c nude mouse (n=12) were xenografted with CCA cell line CL-6 (1×10^6 cells) and allowed to develop tumor for 10 days until the tumor volume have reached approximately 50 mm³. β -eudesmol was oral administration to animals daily for 30 days and PET-CT was performed every 10 days after initiation of CCA. Results:The results of 18F-FDG autoradiography showed that the tumors formed at the cell transplantation site had a latency period of 3-6 wk with high 18F-FDG uptake inside the transplantation tissue. Otherwise, PET-CT also confirmed the promising anti-CCA in nude mouse xenograft model of β -eudesmol (100 mg/kg body weight, daily for 30 days) with 18F-FDG.Conclusion:Animal PET with 18F-FDG seems to be practicable for the detection of CCA in xenograft model and short-term high dose of β -eudesmol may be a promising therapeutic regimen for CCA and still needs more studies to prove its safety both in vivo and in vitro.

P1-39 Therapeutic Potential of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. as anti-cholangiocarcinoma

Koonrungsomboon Nut¹⁾, Kesara Na-Bangchang²⁾, Juntra Karbwang³⁾

¹⁾ Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ Graduate Program in Bioclinical Science, Chulabhorn International College of Medicine, Thammasart University, ³⁾ Department of Clinical Product Development, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University

Background:The rhizome of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. (AL) is extensively used in traditional herbal medicines as crude extracts or as a component in various herbal formulations with positive impression in many diseases. However, a common issue in herbal medicine is the limitation of scientific information on their pharmacological activities and components. Most of the information is often published in local journals and is not extensively disseminated, which prevents many herbal medicines from being developed to their full potential. **Materials and methods:**We searched all available relevant articles from Google and Pubmed, using the following keywords: *Atractylodes lancea*, pharmacological activities, Cangzhu, Khod-Kha-Mao, and So-jutsu. We also searched from the Medicinal Plant Information Center, Mahidol University, Thailand. Direct communication was also made with researchers who are working on this plant. **Results and discussion:**The existing information of pharmacological activities of AL demonstrated its promising therapeutic potential against cholangiocarcinoma (CCA). The crude ethanolic extract of AL was shown to exhibit more potent and more selective activity against CCA cell line in comparison to the standard 5-fluorouracil (5-FU). It also significantly inhibited tumor growth, prevented tumor metastasis, as well as prolonged survival time in CCA-xenografted nude mice. The history of long-term use of AL and the toxicity tests in animal models have indicated safety profiles of AL in a broad range of dose levels. To date, no effective chemotherapeutic treatment is available for patients with advanced CCA. Further development of AL to its potential as an alternative treatment against CCA should be explored.

P1-40 ベトナム南部におけるスポロゾイトからみた森林マラリア伝播の分子疫学的研究

前野 芳正¹⁾, Culleton Richard²⁾, Nguyen Tuyen Quang³⁾, 川合 寛⁴⁾, 伊藤 誠⁵⁾, Machand Ron P⁶⁾,
中澤 秀介⁶⁾

¹⁾藤田保健衛生大学 医学部 ウイルス・寄生虫学, ²⁾長崎大学 熱帯医学研究所 マラリアユニット,

³⁾Khanh Phu Malaria Research Unit・MCNV, ⁴⁾獨協医科大学 医学部 熱帯病寄生虫病室,

⁵⁾愛知医科大学 医学部 感染・免疫学, ⁶⁾長崎大学 熱帯医学研究所 原虫学

近年東南アジアの各地で、サルマラリア原虫の一種である *Plasmodium knowlesi* のヒト感染例が数多く報告されている。これらの感染の発生する空間的な地点は森林内あるいは森林辺縁と明らかな一方、伝播の実態は十分に解析されていない。我々は、今回、スポロゾイトの解析から伝播の実態を考察した。調査はベトナム・カンホア省・カンフー行政区で行った。調査地区の各所で採集された媒介蚊 *Anopheles dirus* から検出されたスポロゾイトを検討対象とした。採集した *A. dirus* は顕微鏡下でスポロゾイトの検索を行った。検出されたスポロゾイトは、ろ紙に塗布後乾燥し、分子生物学的検討に供した。スポロゾイトの種の解析はrRNAを標的としたnested PCRで解析を行い、必要に応じ他の遺伝子あるいは塩基配列の解析を行った。今回解析し得たスポロゾイトサンプル78検体をPCR解析すると、ヒトマラリア原虫の熱帯熱マラリア原虫および三日熱マラリア原虫、サルマラリア原虫の *P. knowlesi*, *P. inui*, *P. cynomolgi*, および *P. coatneyi* のスポロゾイトが検出された。78検体中52検体が1種類のマラリア原虫単感染であり、26検体が2種類以上のマラリア原虫の混合感染であった。サルマラリア原虫感染が認めら

れた54検体において、1種類のサルマラリア原虫感染は21検体であり、他は混合感染であった。混合感染が認められた検体において、三日熱マラリア原虫との混合感染は19検体であり、うち1検体は熱帯熱マラリア原虫の共感染も認められた。これらの結果、*P. knowlesi*以外のサルマラリア原虫がヒトマラリア原虫と共感染が新たに認められたことより、マラリア原虫のヒト-サル双方向の伝播が起こる可能性が推測された。さらに、マラリア伝播において、ハマダラカの行動やマラリア伝播能力を評価する研究の重要性が示唆された。

P1-41 ラオス・サワンナケート県セポン周辺地における地域住民および飼育サルを対象としたマラリア調査

川合 覚¹⁾, サトウ 恵²⁾, 伊藤 誠³⁾, 森 安義⁴⁾, 西本 太⁵⁾, 蔣 宏偉⁵⁾, 前野 芳正⁶⁾, 中澤 秀介⁷⁾, Tiengkham Pongvongsa⁸⁾, 門司 和彦⁵⁾

¹⁾獨協医科大学 熱帯病寄生虫病室, ²⁾新潟大学医学部保健学科, ³⁾愛知医科大学, ⁴⁾栄研化学,

⁵⁾総合地球環境研究所, ⁶⁾藤田保健衛生大学, ⁷⁾長崎大学熱帯医学研究所,

⁸⁾Savannakhet Provincial Malaria Station

【背景】 2013年3月、ラオス・サワンナケート県セポン周辺地の住民を対象に、マラリアおよび消化管内寄生蠕虫に関する調査を実施した。調査地周辺では近年、人獣共通感染性サルマラリアを惹起する*Plasmodium knowlesi*のヒト感染例が検出されていることから、ヒトだけでなく野外飼育されているサルについても調査を行った。**【調査方法】** 3村落 (Kalouk, Poong, Alai Yai) および1か所の民族学校において採血、採尿、採便を行い、住民の血液296検体、尿316検体、飼育サルの血液9頭分について解析を行った。採取した血液はマラリア迅速診断テスト(RDT)を施行した後、塗抹標本および濾紙サンプルを作製した。濾紙サンプルは帰国後、市販キットを用いてDNA抽出し、LAMP法およびnested PCR法によりマラリア原虫DNAの検出と種の同定を行った。尿については抗マラリア原虫IgG抗体価をELISA法により測定した。また飼育サルについては3種のサルマラリア原虫 (*P. knowlesi*, *P. cynomolgi*, *P. inui*) の検出を試みた。**【結果および考察】** マラリア原虫DNAの検出では296検体中、10例の陽性者が検出され、その内訳は熱帯熱マラリア4例、三日熱マラリア3例、四日熱マラリア2例、熱帯熱マラリアと四日熱マラリアの混合感染1例で、*P. knowlesi* は検出されなかった。尿を用いた抗体価の測定では、231例(73.1%)が陽性を示した。また飼育サルの血液からマラリア原虫DNAは検出されなかった。今回の調査でマラリア原虫DNAが検出された10例の住民からは、発熱や顕著な症状の申告が無く、RDTおよび血液塗抹検査でも陰性であった。したがって、当調査地域では発症者の比較的少ない乾期であっても、一定数の割合で不顕性感染が存在していることが示唆された。

P1-42 Detection of Pre-Erythrocytic Stage Malaria Parasite DNA in Blood and Faeces of Sporozoite-Infected Mice and Monkeys

Hussein Abkallo¹⁾, Ferreira Pedro E²⁾, 中澤 秀介²⁾, 外間 沙里菜¹⁾, 前野 芳正³⁾, Huffman Michael⁴⁾, 川合 覚⁵⁾, Lui Weimin⁶⁾, Hahn Beatrice⁶⁾, Culleton Richard¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 共同研究室マラリアユニット, ²⁾長崎大学熱帯医学研究所原虫学分野,

³⁾藤田衛生保健大学医学部ウイルス・寄生虫学講座, ⁴⁾京都大学 霊長類研究所,

⁵⁾獨協医科大学 熱帯病寄生虫病, ⁶⁾ペンシルバニア州立大学 医学大学院 微生物学教室

Mammalian malaria parasites undergo an asymptomatic stage of development and replication within the liver

following the inoculation of sporozoites into the host via the bite of an infected mosquito. Here we report the detection and semi-quantitation of pre-erythrocytic stage malaria parasite DNA in both blood and faecal samples of experimentally infected mice throughout their development in the liver. We show that parasite DNA derived from pre-erythrocytic stage parasites enters the faeces in the bile produced in the liver. We then show that different primate malaria species' DNA can be detected in blood and faecal samples from naturally infected captive macaque monkeys. The fact that pre-erythrocytic stage malaria parasite DNA may be detected in blood and faecal samples that do not contain blood stage parasites has implications for the interpretation of "sub-microscopic" infections in molecular epidemiological surveys. Furthermore, our results suggest that it is possible to sample liver stage parasites in a non-invasive manner.

P1-43 SATREPSによるラオスのマラリア分子遺伝疫学研究の概要

石上 盛敏¹⁾, 松本-高橋 エミリー^{1,2)}, 渡部 久実³⁾, 小林 潤⁴⁾, Phompida Samlane⁵⁾,
Hongvanthong Bouasy⁵⁾, Brey Paul⁶⁾, 狩野 繁之¹⁾

¹⁾国立国際医療研究センター 研究所 熱帯医学マラリア研究部,

²⁾東京大学大学院 医学系研究科 国際地域保健学教室,

³⁾琉球大学 分子生命科学研究センター 感染免疫制御分野,

⁴⁾琉球大学 医学部保健学科 国際地域保健学,

⁵⁾ラオス保健省マラリア学 寄生虫学 昆虫学センター (CMPE), ⁶⁾ラオス国立パスツール研究所 (IPL)

SATREPS (地球規模課題対応国際科学技術協力)とは、科学技術振興機構と国際協力機構の共同実施のもと、開発途上国との共同研究を通して、日本が途上国を支援する研究プログラムである。演者らはSATREPSにより、日本とラオスの若手研究者らと共に、IPLを拠点として今後5年間、同国のマラリア対策に資する分子遺伝疫学研究を展開する。隣国のタイ、カンボジア、ベトナムからは、各種薬剤耐性マラリアが報告され、タイ、カンボジアからは近年アルテミシニン耐性も報告されているが、ラオスからの薬剤耐性マラリアに関する報告はない。そこで演者らは、マラリア患者数が多い中部と南部に調査地域を設定し、CMPEとの協力のもと、マラリア患者検体のサンプリングを経時的に行い、IPL寄生虫学ラボを中心に、(1) プライマーを改良してより精度の高いLAMP法を開発し診断に応用すること、(2) 各種薬剤耐性マーカーの解析、並びに(3) 次世代シーケンサーを用いた熱帯熱マラリア原虫 (*Pf*) 全ゲノム解析を行い、アルテミシニン耐性マラリア責任遺伝子の探索を計画している。さらには(4) マラリア原虫のマイクロサテライトDNA多型やSNPsに基づく集団遺伝的特徴を経時的・空間的に描出し、流行状況の変化や薬剤耐性マラリアの出現と拡散メカニズムを明らかにして、同国のマラリアの流行拡散制御と制圧を目指す。演者らは先行研究で採取された*Pf* 46株 (Savannakhet県Sepone郡: 2010年採取) を用いて、すでにクロロキン耐性責任遺伝子 (*pfcr*) のコドン76番目付近の解析、並びに近隣諸国のデータとの比較解析を開始している。その結果、*pfcr* 遺伝子型の種類と頻度から、ラオスには、タイ、カンボジア、ベトナム由来の*Pf* が混在している可能性が示唆された。ラオスはメコン地域における薬剤耐性マラリア拡散の要衝となっている可能性がある。

P1-44 大規模検体を用いたアルテミシニン耐性候補SNPsの地理学的分布

村井謙治^{1,2)}, 高橋延之³⁾, 内藤俊夫¹⁾, 磯沼弘¹⁾, 久岡英彦¹⁾, 遠藤弘良³⁾, 美田敏宏²⁾

¹⁾順天堂大学 医学部 総合診療科, ²⁾順天堂大学 医学部 熱帯医学・寄生虫病学,

³⁾東京女子医科大学 医学部 国際環境・熱帯医学

【目的】 2000年代半ば以降アルテミシニン併用療法 (ACT)が標準治療となり、マラリア死亡者数は減少してきている。しかし、タイ/カンボジアおよびタイ/ミャンマー国境地域では、ACT治療後の原虫消失遅延をきたす熱帯熱マラリア原虫感染例が増加しつつある。このため、2011年WHOはこれらの地域を中心とする周辺国一帯をアルテミシニン耐性原虫の出現警戒地域とし、耐性原虫の封じ込めプログラムを開始した。近年、Ploweらのグループは、ACT治療後の原虫消失遅延に関連する候補SNPs (MAL10-688956, MAL13-1718319) をGWASによって同定 (Takala-Harrison et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2013), molecular markerとして、アルテミシニン耐性原虫の出現・拡散のスクリーニングへの応用に対する期待が高まっている。本検討では、全流行地をほぼ網羅する熱帯熱マラリア原虫検体を用いて、この耐性関連SNPsがどのような地理学的分布を示しているかについて検討した。**【方法】** バングラディシュ、カンボジア、タイ、ラオス、フィリピン、ケニア、ガーナ、パプアニューギニア、ソロモン、バヌアツ、ブラジルの11カ国でおこなった調査で得られた714例の熱帯熱マラリア原虫感染患者を対象とした。濾紙血液サンプルからDNAを抽出後、nested PCR+RFLPによってMAL10-688956における耐性型 (非切断) および感受性型 (切断) を決定した。**【結果・考察】** 699例 (98%) においてMAL10-688956における耐性型および感受性型を決定することができた。耐性型は66例 (9.4%) に見られ、その多くはカンボジアとタイに分布しており、南米・アフリカには2例しか耐性型は見られなかった。一方、調査時点ではアルテミシニンがまだ導入されていなかったオセアニア地域にも耐性型が分布しており興味深い。現在シークエンス解析等によって、これらの点についてさらなる検討を加えている。当日にはこの点も含めて議論していきたい。

P1-45 Genetic polymorphism and antigenicity of *Plasmodium vivax* 34 kDa rhoptry protein from Korean isolates

Lee Ga-Young¹⁾, Kim So-Hee^{1, 4)}, Park So-Jung²⁾, Lee Han-Na¹⁾, Moon Chi-Sook^{2, 4)}, Shin Jeong-Hwang³⁾, Kho Weon-Gyu^{1, 4)}

¹⁾Department of Parasitology, Inje University College of Medicine,

²⁾Department of Internal Medicine, Inje University College of Medicine,

³⁾Department of Laboratory Medicine, Inje University College of Medicine,

⁴⁾Department of Infectious diseases and Malaria, Paik Institute for Clinical Research, Inje University

Recently, among the apical secretion organelles, rhoptry protein has taken attention as a vaccine candidate for vivax malaria. The 34 kDa rhoptry protein (*Pv34*) has homology with proteins from other *Plasmodium* sp. Generally *P. vivax* has a genetic polymorphism depending on geographical characteristic. It is suggested that the antigenicity of *Pv34* might be greater because of its having repeated sequence which was predicted as lineal B cell epitope. However, research about genetic polymorphism and antigenicity of *Pv34* has been done only on Colombian isolates. Therefore DNA structure of *Pv34* isolated from Korea was analyzed and compared with those of Colombian isolates. The serological response to recombinant *Pv34* of vivax malaria patients infected in South Korea was evaluated. Comparing with Colombian isolates, thirteen *Pv34* of Korean isolates had one more repeat composed of 15 bp nucleotides or 5 amino acids in the repeat region. Besides the insertion of a repeat, minor single point mutation was found in 13 positions of the DNA sequence. However the single mutation in position 955(C→T) was seen in 69.2% of Korean isolates. Among the 60 vivax malaria patients infected in South Korea 71.7% had specific antibody against *Pv34*. The positive rate of this experiment was 11.7% higher than that was performed on Colombian patients. In the view of the genetic polymorphism and antigenic characteristics, *Pv34* might be a good vaccine candidate for *P. vivax* malaria.

P1-46 5-アミノレブリン酸 (ALA) /鉄化合物のマラリア原虫感染マウスに対する治療効果

鈴木 重雄^{1,2)}, 彦坂 健児²⁾, 小松谷 啓介²⁾, バロゲン エマニュエル²⁾, 高橋 究¹⁾, 田中 徹¹⁾,
中島 元夫¹⁾, 北 潔¹⁾

¹⁾SBIファーマ株式会社, ²⁾東京大学大学院 医学系研究科 生物医化学

【諸言】

マラリアは熱帯・亜熱帯地域に広く分布する感染症であり、マラリア原虫の感染によって引き起こされる。マラリア原虫の持つ複雑な生活環や表面抗原の遺伝子多型等によりワクチンの開発は非常に困難であるため、実用化には至っておらず化学療法に頼っている。しかし、化学療法においては有効な治療薬があるものの、近年それらに対する耐性マラリア原虫の出現が報告されており、新たな治療薬の開発が求められている。最近、我々は*in vitro*の実験系において5-アミノレブリン酸 (ALA) と鉄化合物を併用する事により熱帯熱マラリア原虫の増殖を阻害する事を明らかにした (Komatsuya *et. al*)。しかし、*in vivo*の実験系においてALAがマラリア原虫に対して有効であることを示した報告例はない。そこで本研究では、*in vivo*におけるこれらのマラリア治療効果を実証するため、動物モデルを用いて検討したのでその結果を報告する。

【実験方法】

感染は致死性のネズミマラリア原虫感染赤血球をマウスに腹腔内接種することにより行った。感染後、ALAと鉄化合物を溶解した投与液を調製し、経口ゾンデを用いて1日1回の反復投与を行った。治療効果は原虫の感染率、PCR診断およびマウスの生存率を指標に評価した。また、蛍光顕微鏡によるヘム生合成中間体の検出を行った。

【結果・考察】

コントロール群では全てのマウスが死亡したが、それに対しALAと鉄化合物を投与した群では感染率の上昇が抑制され、また生存したマウスの末梢血中から原虫が消失し治癒した。さらに、原虫内にヘム生合成中間体が蓄積している事が確認されたが、これは*in vitro*においても観察された結果である。以上の事から、ALAは*in vivo*においてもマラリア原虫に有効であることが明らかになった。今後は作用機序の解明と臨床試験を進める予定である。

P1-47 Differential response of malaria parasite against the inhibitors of mammalian sarco-endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase

Pandey Kishor, Ferreira Pedro E, 矢幡 一英, 金子 修

Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University

Cellular calcium (Ca²⁺) regulation is important physiologic mechanism for malaria parasite invasion, development, and egress. Because it is technically challenging to perform physiological experiments in intracellular parasites, the specific roles of Ca²⁺ in *Plasmodium falciparum* are not well understood. To overcome this issue, we generated transgenic *P. falciparum* lines expressing fluorescence resonance energy transfer (FRET) Ca²⁺ sensors, yellow Cameleon (YC)-Nano50 or YC-Nano15, in the parasite cytosol. Calibration curves generated using transgenic parasites revealed dissociation constant of 48.3 ± 10.4 nM and 8.0 ± 3.0 nM for YC-Nano50 and YC-Nano15, respectively, similar to the previously observed values in other cell lines. Because previous reports on the parasite's response against the inhibitors of mammalian sarco-endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA) were controversial, we evaluated SERCA-specific Ca²⁺ inhibitors (cyclopiazonic acid, CPA and thapsigargin, TG) using the transgenic parasite expressing YC-Nano50. Addition of CPA increased the FRET signal (peak R/R₀= 1.60 ± 0.15 , n =3) compared to baseline (R/R₀=1), indicating that CPA was able to increase the cytosolic Ca²⁺ concentration.

However, addition of TG did not increase the FRET signal ($R/R_0=0.98 \pm 0.01$, $n=3$) in trophozoite parasites in the intact RBCs and free trophozoites released suspended in Ca^{2+} free medium. Addition of CPA to the TG-treated parasites increased the FRET signal indicating that parasites were able to respond to the drug and confirmed that TG had no effect on the Ca^{2+} release to the parasite cytosol. In conclusion, the different responses of drugs against SERCA in mammalian cell and the parasite suggest that *P. falciparum* SERCA is a potential target for the selective drug development.

P1-48 バベシア・タイレリア原虫のin vitro培養におけるメチレンブルー増殖阻害効果について

In vitro inhibitory effect of methylene blue on Babesia and Theileria parasites

Bumduuren Tuvshintulga, Sivakumar Thillaiampalam, Salama Akram, Yokoyama Naoaki, Igarashi Ikuo
National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary
Medicine

Piroplasmiasis caused by *Babesia* and *Theileria* parasites results in severe economical losses in cattle and horse farming operations worldwide. The toxic side effects observed with the commonly used drugs indicated the need for the evaluation of alternative treatment choices. Methylene blue, the first fully synthetic drug, had been widely used in medical treatments. A few decades ago, this chemical was used as an anti-malarial agent. In this study, the *in vitro* inhibitory effect of methylene blue on *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Babesia caballi*, and *Theileria equi* was evaluated. Methylene blue significantly inhibited the growth of *B. bovis*, *B. caballi*, and *T. equi* at $0.1 \mu M$ concentration, while *B. bigemina* was significantly inhibited by $0.01 \mu M$, on day 3 of cultivation. The 50% inhibitory concentrations (IC_{50}) of methylene blue against *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. caballi*, and *T. equi* were 0.84 , 0.59 , 0.39 , and $0.44 \mu M$, respectively. The subsequent viability assays, in which drug-free media were used for the cultivation, showed that there were no growths of *B. bovis* and *B. bigemina* that had been treated with $10 \mu M$ of methylene blue. Similarly, *B. caballi* and *T. equi* that had been treated with $1 \mu M$ methylene blue failed to grow in viability tests. Methylene blue has also induced pyknotic and degenerative changes, in treated parasites. While demonstrating that the methylene blue inhibits the *in vitro* growth of *Babesia* and *Theileria* parasites, the present findings warrant *in vivo* experiments to study the antibabesial and antitheilerial effects of methylene blue in host animals.

P1-49 系統的レビュー及び数理モデルを用いたデング二次感染時の重症化に関する疫学的機構の解明

Kenji Mizumoto¹⁾, 江島 啓介^{2,3)}, 山本 太郎¹⁾, 西浦 博²⁾

¹⁾長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻 国際保健学分野,

²⁾東京大学 大学院 医学系研究科 医学部 国際保健政策学分野,

³⁾東京大学 大学院 情報理工学系 研究科 数理情報学専攻

Background & objectives: The present study aimed to systematically analyze the known risks of severe dengue during secondary infection in literature and understand how epidemiological mechanisms of enhancement during the secondary infection influence the empirically estimated risk of severe dengue by means of mathematical

modeling.Methods: Two conditional risks of severe dengue, i.e., symptomatic illness and dengue hemorrhagic fever (DHF), given secondary infection were explored based on systematically searched prospective studies. A two-strain epidemiological model was employed to simulate the transmission dynamics of dengue and to identify relevant data gap in empirical observation.Results: Using the variance-based weighting, the pooled relative risk (RR) of symptomatic illness during secondary infection was estimated at 9.4 (95% confidence interval (CI): 6.1, 14.4), and similarly, RR of DHF was estimated to be 23.7 (95% CI: 15.3, 36.9). A variation in the RR of DHF was observed among prospective studies. Using the mathematical modeling technique, we identified the duration of cross-protective immunity as an important modulator of the time-dependent behavior of the RR of severe dengue. Different epidemiological mechanisms of enhancement during secondary infection yielded different RR of severe dengue.Interpretation & conclusion: Optimal design of prospective cohort study for dengue should be considered, accounting for the time-dependence in the RR during the course of dengue epidemic. It is critical to statistically infer the duration of cross-protective immunity and clarify how the enhancement influences the epidemiological dynamics during secondary infection.

P1-50 リーシュマニア原虫媒介サシチョウバエ*Lutzomyia ayacuchensis*の唾液腺トランスクリプトーム解析と唾液RGDペプチドの機能解析

加藤 大智¹⁾, Gomez Eduardo A. ²⁾, Jochim Ryan C. ³⁾, 藤田 恵⁴⁾, 石丸 由佳⁴⁾, 上里 博⁵⁾, 三森 龍之⁶⁾, Valenzuela Jesus G. ³⁾, 橋口 義久^{7,8,9)}

¹⁾北海道大学 大学院獣医学研究科 寄生虫学教室, ²⁾エクアドル厚生省マラリア撲滅対策研究所,

³⁾米国NIH・Vector Molecular Biology Section, ⁴⁾山口大・獣医衛生, ⁵⁾琉球大・医・皮膚科学,

⁶⁾熊本大・生命科学・生体情報解析学, ⁷⁾高知大・医・寄生虫学, ⁸⁾エクアドル中央大,

⁹⁾Prometeo, SENESCYT, Ecuador

【目的】 吸血昆虫の唾液は、抗血液凝固、血管拡張、抗炎症などの作用をもつ“生理活性物質のカクテル”で、これを宿主に注入することで効率よく吸血を行う。また、リーシュマニア原虫を媒介する吸血昆虫サシチョウバエの唾液には感染を増強する作用があることや、唾液成分が感染防御ワクチンとして活用できる可能性も示唆されている。本研究では、南米アンデスでリーシュマニア原虫を媒介するサシチョウバエ*Lutzomyia (Lu.) ayacuchensis*の唾液腺トランスクリプトーム解析を行い、このうち最大構成成分であるRGDペプチドの機能解析を行った。

【材料と方法】 エクアドルのアンデス地域で捕獲した*Lu. ayacuchensis*の唾液腺cDNAライブラリーを作製し、遺伝子転写産物の網羅的解析を行った。唾液RGDペプチドの組換えタンパクは大腸菌発現系を用いて作製し、血小板凝集に及ぼす影響を検討した。

【結果と考察】 *Lu. ayacuchensis*主要唾液成分として、*Lu. longipalpis*のRGDペプチド、9 kDa、29.2 kDa salivary protein, antigen5-related proteinなどの相同分子の他、サシチョウバエの唾液ワクチン候補と報告されたSL1やyellow-related proteinとの相同分子、血小板凝集阻害物質apyraseなどを同定した。最大構成成分であるRGDペプチドの機能を解析したところ、このペプチドはRGD配列を介して血小板膜上のインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ とフィブリノーゲンの結合を妨げることにより、血小板凝集を阻害することが明らかになった。本研究で得られた結果は、唾液ワクチンの開発研究ならびに吸血昆虫の吸血戦略を理解する上で有用な知見をもたらすものと考えられた。

P1-51 Leishmaniasis sand fly vector density reduction is less marked in destitute housing after insecticide thermal fogging

チャベス ルイス

長崎大学 熱帯医学研究所 病害動物学分野

Insecticide thermal fogging (ITF) is a tool to control vector borne diseases. Insecticide application success for vector control has been associated with housing materials and architecture. Vector abundance is correlated with weather changes. Nevertheless, housing quality and weather impacts on vector abundance have been unaccounted for in most New World insecticide control trials for leishmaniasis vectors. We conducted a 15 month insecticide control trial that included two deltamethrin [6 mg a.i.m-2] based ITF interventions in 12 of 24 monitored houses at Trinidad de Las Minas, a hyperendemic cutaneous leishmaniasis transmission village in western Panama. During the study we followed sand fly (SF) abundance, keeping track of rainfall and quantified housing quality using an index based on architecture and construction materials. We found a 50 to 80% reduction in SF density in the fogged houses when compared with control houses, while controlling for seasonal changes in SF abundance associated with rainfall. We found heterogeneities in the reductions, as abundance changed according to SF species: *Lutzomyia gomezi*, *Lu. panamensis*, *Lu. dysponeta* and *Lu. triramula* reduced in density between 40% and 90% after ITF. In contrast, *Lu. trapidoi* density increased 5% after ITF. Differences in the impact of ITF were associated with housing quality, the most destitute houses, i.e., those with features that ease insect entrance, had a disproportionately larger SF abundance, in some cases with increased domiciliary SF density following the ITF. Our results suggest the potential of insecticide application to control leishmaniasis transmission could depend on housing quality beyond insecticide efficiency.

P1-52 ボウフラ主要発生源対策及び殺虫剤浸漬網を使用したベトナム南部におけるネツタイシマカ防除試験

Control of *Aedes aegypti* with key container management and insecticide treated materials in Southern Vietnam: a cluster randomised trial

Ataru Tsuduki都築 中^{1,2}, BUI PHU³, LE NGHIA³, 川田 均¹, VU DUOC⁵, 長谷部 太^{2,4},
TRANG PHONG⁵, 皆川 昇¹

¹長崎大学 熱帯学研究所 病害動物学分野,

²NIHE-NU Friendship Laboratory, NIHE-NU project, Hanoi, Vietnam,

³Institute Pasteur in Nha Trang, Nha Trang, Vietnam, ⁴長崎大学 熱帯学研究所 ウイルス学分野,

⁵Department of Medical Entomology and Zoology, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam

To measure the impact of key container management (i.e., targeted only epidemiologically important breeding sites of *Aedes aegypti* larvae) and insecticide treated materials (ITMs) (i.e., distribution of ITM curtain and air-hole cover) on reducing density of *Ae. aegypti* (i.e., dengue vector), we conducted cluster randomised control trial in Nha Trang City, Vietnam. The survey was conducted at a commune of the city with 2188 residential households. Twenty clusters in the commune were paired based on house index (HI: percentage of houses positive for *Ae. aegypti* larvae) at baseline survey and one of each was randomly allocated to the first intervention (i.e., key container management only). Intervention and control arms were exchanged at the second treatment (i.e.,

distribution of ITMs in addition to the key container management). At two weeks after the first intervention, the mean HI in control arm significantly fell (from 13.4% to 3%, $P=0.005$); however, reduction of HI in the intervention arm was not significant (from 13.3% to 8.7%, $P=0.23$). Although five weeks after the second intervention began there was no significant difference of HI between control and intervention arms (5.7% and 4.8%, $P=0.7$), HI was significantly low in the intervention arm after three months (8.8% and 3.9%, $P=0.045$). Our study indicated that ITM use is probably effective in areas with high ITM coverage on reducing *Ae. aegypti* infestation level; on the other hand, key container management should not be considered simply as an additional tool to ITM distribution as container management may need more intensive community involvement.

P1-53 ハノイ市内における屋内と屋外のデング熱媒介蚊の密度

角田 隆¹⁾, Tran Chi Cuong²⁾, Tran Duc Dong²⁾, Tran Vu Phong²⁾, 皆川 昇¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 病害動物学分野,

²⁾ベトナム国立衛生疫学研究所 医学系動物昆虫学研究室

ベトナム国ハノイ市では冬に気温が10度以下にまで下がるが、冬の間もデング熱患者が発生する。デング熱の主要な媒介蚊であるネッタイシマカは17度以下になると飛べなくなるが、媒介蚊が冬でも活動を続けているのかはほとんどわかっていない。媒介蚊の冬の生態を明らかにすることは有効な媒介蚊対策を立てることに役立ち、翌年のデング熱予防につながる。

近年、世界の都市でヒートアイランド現象が確認され、市街地における気温の上昇が問題となっている。東南アジアにおけるデング熱媒介蚊はネッタイシマカとヒトスジシマカであるが、両種とも人工容器に溜まった水から発生する。特に、地下に設置されたコンクリートタンクは冬でも暖かく、ネッタイシマカにとって快適な繁殖場所となっていることが演者らによって明らかにされている。

デング熱媒介蚊の成虫は冬に家屋内を好む傾向があるか調査するために、2012年12月および2013年7月にベトナム国ハノイ市の2か所（Hoang Mai区とTu Liem区）において、それぞれ120軒の家の中と外で同時にハンディ型アスピレーターによってヤブカ類の成虫を採集した。

Hoang Mai区ではネッタイシマカの方がヒトスジシマカより多く採集された。夏冬とも、ネッタイシマカは家の中に多く、ヒトスジシマカは家の外で多く捕獲される傾向が見られた。一方、Tu Liem区ではネッタイシマカは夏期、冬期どちらも1個体しか採集されなかった。また、ヒトスジシマカはHoang Mai区の場合と同様に家の外で多く採集される傾向が認められた。外で採集されるヒトスジシマカの密度はどちらの区でも冬になると減少した。従って、ネッタイシマカは夏冬とも家の中で吸血、産卵を行っているが、ヒトスジシマカはネッタイシマカの存在に関わらず、家の中より外を好むが、冬になると家の外で採集される割合は低くなることがわかった。

P1-54 ハマダラカ唾液タンパクAAPPに対する抗体の特性

伊従 光洋¹⁾, 藤吉 里紗¹⁾, 澤口 明日香¹⁾, 石井 明²⁾, 松岡 裕之²⁾, 吉田 栄人¹⁾

¹⁾金沢大学 薬学系, ²⁾自治医科大学 感染・免疫学 医動物学

我々は、マラリア媒介蚊であるハマダラカメスの唾液腺に特異的に発現しているタンパク質Anopheline Anti-Platelet Protein (AAPP)を発見した。AAPPはコラーゲンに結合することにより、血小板の凝集を抑制する。この血小板凝集阻害活性は、ハマダラカ吸血時における血液凝固を回避する一因と考えられている。一方、AAPP

は唾液タンパクの中でも抗原性の高い分子であり、吸血回数に比例して抗体価が上昇する。実際、熱帯熱マラリア流行地域であるソロモン諸島住民には、広くAAPPに対する抗体が誘導されている。そこで、本研究ではAAPPのどの部位に抗体が誘導されるのか検討するとともに、それらの抗体がAAPPのコラーゲン結合活性に影響を及ぼすか、ヒト血清ならびにマウスモデルを用いて検討した。

ソロモン人血清においてAAPPの4つのExon領域に対する抗体価を調べたところ、N末端部のExon 2領域に最も強く抗体が惹起されていた。AAPPの抗原性について詳細に調査するため、マウスにハマダラカ唾液腺を免疫し、その血清を解析した。唾液腺免疫マウスでは、C末端部のExon 3-4領域に対してのみ抗体が誘導された。一方、リコンビナントのAAPPを免疫したマウスならびにウサギでは、いずれのExon領域に対しても抗体が誘導されていた。次に、これらの血清がAAPPのコラーゲン結合活性に影響を及ぼすかどうかを検討した。実験動物由来の免疫血清はいずれも抗体価依存的にAAPPのコラーゲン結合を阻害した。一方、AAPPのC末端に対する抗体価に乏しいソロモン人血清は、AAPPのコラーゲン結合に影響を及ぼすことはなかった。

以上の結果から、AAPPには血小板凝集阻害の活性中心に対する抗体応答を回避する機構が存在するものと推測された。現在、ハマダラカ唾液腺におけるネイティブなAAPPに関して調査中である。

P1-55 蚊帳普及後のマラリア対策として、家畜の活用は有効か？

After the ITN “push” , is zooprophyllaxis a suitable “pull” ; for malaria control?

Hanako Iwashita¹⁾, Gabriel O Dida²⁾, 砂原俊彦²⁾, 二見恭子²⁾, George Sonye³⁾, Luis F Chaves²⁾, 皆川昇²⁾

¹⁾長崎大学大学院 医歯薬総合研究科, ²⁾長崎大学熱帯医学研究所, ³⁾Springs of Hope, Mbita, Kenya

Mass insecticide treated net (ITN) deployment, and its associated coverage of populations at risk, had “push “ decline in malaria transmission in Sub Saharan Africa. However, it is unknown, whether malaria control is being enhanced by zooprophyllaxis, i.e., the diversion of infected vectors from humans. We collected household mosquitoes, to examine their abundance and bloodmeal contents using molecular techniques, in an area with a high ITN coverage (over 80%), along the Kenyan shore of Lake Victoria, during may-july 2009. We collected 8123 mosquitoes, of which 1664 were *Anopheles* spp over 295 household spray catches. We found that *Anopheles* spp household abundance was mainly driven by the number of householders (rate increase by each individual, RI=1.35, P<0.05), and goats/sheep tethered around the house (RI=1.03, P<0.05) and ITNs, which halved mosquito abundance (RI=0.48, P<0.05). In general, similar patterns were observed for *Anopheles arabiensis* , and *funestus* s.s., but not *An gambiae* s.s. whose density did not increase with the presence of livestock animals. Feeding on humans significantly increased in all species with the number of householders (P<0.05), and only significantly decreased for *An arabiensis* in the presence of cattle (Odds Ratio, OR=0.98, P<0.05). Only 26 *Anopheles* spp mosquitoes had malaria sporozoites with the sporozoite rate significantly decreasing as the proportion of mosquitoes feeding in cattle increased (P<0.05). Thus cattle, in settings with large ITN coverage, has potential to drive an unexpected “push-pull “ malaria control system, where *An. arabiensis* mosquitoes "pushed" out of human contact by ITNs are being further "pulled" by cattle.

P1-56 低濃度銅溶液を用いた野生蚊幼虫の防除

松岡 裕之, 島田 瑞穂, 山本 大介, Reza Mohamad

自治医科大学 医学部 医動物学部門

1リットルあたり1mg (1ppm) の銅を含む水溶液のなかで蚊幼虫 (ボウフラ) を飼育すると、ボウフラは1週間以内に死んでしまう。この銅濃度は我々の飲料水の許容範囲である。人間とボウフラとは銅に対する感受性が大きく異なっている。この差を利用して我々は、蚊が産卵しそうなところに銅溶液を置いておき、野生蚊を誘導して産卵させる方法 (ovitrap) を研究している。墓地の石塔には備え付けの花立てが1対置かれている。古くは竹筒を利用していたが、それがプラスチック製に変わり、今日ではステンレス製が多く使われている。我々は栃木県内の複数の寺に依頼し、花立ての中に棲息する蚊の調査および、花立ての水に銅溶液を入れ、野生蚊幼虫の生育状況を調査した。実験室内で予備実験を行なった。吸血したヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*, Aaと略す) あるいはシナハマダラカ (*Anopheles sinensis*, Asと略す) のケージ内に、10ppmの銅溶液と銅を含まない水をおいて産卵をさせた。AaもAsも銅の含有に関係なく同様に産卵した。次に市販されている生花を用意して、10ppmの銅溶液と銅を含まない水とに分けて1週間、花の状態を観察した。いくつかの生花を用いたがいずれも、銅の有無により花の状態に変化を認めなかった。2013年7月足利市内の寺で、花立ての片方には10ppmの銅水溶液を、もう片方の花立てには0ppmの水を入れ、2週間後に花立て内の蚊幼虫の有無、種を観察した。19組の花立てを観察したところ、10ppmの群すべてでボウフラの存在を認めなかったが、0ppmの群では5ヶ所でボウフラの存在を認めた。この結果は統計的に有意であった ($P < 0.05$)。ボウフラは成虫にして種の同定を行なったところ、90%がAa、10%が*Aedes japonicus* (ヤマトヤブカ) であった。銅溶液を用いることで、墓地の野生蚊を制御できる可能性を確認した。

P1-57 多い月は年間も多い：マラリア年間患者数を年初に予測

益田 岳
京都大学 地球環境学

2月の患者数が年間患者数と二次多項近似式で $R^2=0.89$ の相関関係がある (一次直線近似でもほぼ同じ)。つまり2月の患者数をみれば年間患者数を予測できる。このモデルは簡素で計算も簡便なため、現場でも使いやすい。現場での応用としては、即時診断キットの発注数調整や、スタッフやヘルスボランティアの動員見積もり、年度予算の追加請求の根拠などに活用できるだろう。マラリアだけでなく、デング熱など気象条件に影響を受けやすい他の媒介動物性感染症にも、同様の方法で予測が成り立つ条件があると考えられ、活用の範囲は広い。

P1-58 タイのデング熱流行地域における児童をもつ保護者の知識と行動に関する調査 A survey of knowledge and practices related to dengue among caretakers of school children in a high dengue transmission area in Thailand

Risa Takahashi¹⁾, Wilunda Calistus²⁾, Thein Tun Linn³⁾, Siripanich Sangchom⁴⁾

¹⁾Chubu University 生命健康科学部 保健看護学科,

²⁾Projects Department, Doctors with Africa CUAMM, Padua, Italy,

³⁾Communicable Disease Centre, Tan Tock Seng Hospital, Singapore,

⁴⁾Bureau of Epidemiology, Department of Disease Control, Ministry of Public Health, Thailand

Background: Children bear a heavy brunt of dengue infection in Thailand. However, little is known about dengue-related knowledge and practices among children's caretakers. **Objective:** To assess dengue-related knowledge

and practices among caretakers of school children in Chanthaburi, Thailand. **Methods:** Data on socio-demographics, sources of information; knowledge and practices related to dengue were collected from a random sample of 628 caretakers in a cross sectional study. Logistic regression was performed to explore determinants of dengue-related knowledge and practices. **Results:** Mass media (76.7%) and healthcare facilities (67.4%) were the most common sources of dengue information. Only 37.8% of caretakers had high levels of knowledge of dengue; caretakers with post-secondary education were more likely to have high knowledge than those with primary education (adjusted odds ratio (aOR) 2.0, 95% CI [61.28 – 3.31]). Caretakers with a family income >200, 000 Baht were more likely to have high knowledge compared to those with an income <50, 000 Baht (aOR 1.94, 95% CI [1.16 – 3.23]). Dengue knowledge was not significantly associated with caretaker age, sex, marital status, or occupation. Civil servants were less likely to use mosquito repellent compared to factory workers (aOR 0.44, 95% CI [0.20 – 0.10]). Most caretakers (80.7%) had discussed dengue with their children in the past 6 months. **Conclusion:** Knowledge of dengue among school children's caretakers was low. This needs improvement, especially in caretakers with low income and/or education. Interventions involving caretakers in dengue prevention among children may require improving dengue knowledge among the caretakers.

P1-59 ウガンダ, オヤム県の産科施設を利用する女性の裕福度調査

A proxy wealth index for women utilising maternity services in Oyam District, Uganda

Risa Takahashi¹⁾, Calistus Wilunda²⁾, Lochoro Peter³⁾, Manenti Fabio²⁾, Owiny Vincent⁴⁾, Putoto Giovanni²⁾

¹⁾Chubu University 生命健康科学部 保健看護学科, ²⁾Doctors with Africa CUAMM, Padua, Italy,

³⁾Doctors with Africa CUAMM, Kampala, Uganda, ⁴⁾Ministry of Health, Oyam District, Oyam, Uganda

Introduction: IN low-income countries, monitoring equity at health facility level is hampered by a lack of valid and manageable tools that account for the population's socioeconomic context. This study aimed to develop and apply a simple questionnaire to measure equity in maternity service utilisation in Oyam District. **Methodology:** Women in Northern Uganda in the 2006 Uganda Demographic and Health Survey (UDHS) constituted the reference population. Factor analysis of all wealth variables was conducted and wealth quintiles were derived. All wealth variables were cross-tabulated against the wealth quintiles and six of them (roof material, wall material, educational status, ownership of a bed; a table and a radio), were selected and assigned scores whose validity and reliability were assessed with reference to the UDHS data. Data on the six variables were collected from delivery service users from December 2011 to March 2012 and compared with the UDHS data to identify inequities. **Results:** The tool was valid ($\rho = 0.904$) and reliable ($\kappa = 0.55$). Data were collected from 1354 women. Among maternity users, 1%, 5%, 6%, 35% and 52% belonged to the 1st, 2nd, 3rd, 4th and 5th wealth quintiles, respectively. This distribution significantly differed from the UDHS data ($p < 0.001$). Additionally, 77.3% and 39.6% of women delivering at the hospital and HCs, respectively, belonged to the wealthiest group. **Conclusion:** Using a simple valid tool, inequity in maternity service use in Oyam has been demonstrated. The tool can be used to monitor delivery service equity and provide local evidence for decision making to redress the problem.

P1-60 西アフリカ・ガンビア共和国における緩和医療の現状

Palliative care in The Gambia, West Africa: symptoms prevalence and burden in patients with hepatocellular carcinoma and barriers to opioid analgesics provision

Yusuke Shimakawa^{1, 2)}, Takao Yuki³⁾, Anderson Suzanne²⁾, Yamaguchi Takashi⁴⁾, Bottomley Christian¹⁾, Nyan Ousman⁵⁾, Sabally Saihou⁶⁾, Thursz Mark³⁾, Lemoine Maud²⁾, Njie Ramou²⁾

¹⁾Faculty of Epidemiology and Population Health, London School of Hygiene and Tropical Medicine,

²⁾PROLIFICA Project, MRC Unit, The Gambia, ³⁾Faculty of Medicine, Imperial College London, UK,

⁴⁾手稲溪仁会病院, 総合内科, ⁵⁾Edward Francis Small Teaching Hospital, ⁶⁾Hands On Care,

⁷⁾American International University, West Africa, Gambia Campus

【目的】 Due to an increasing cancer incidence and late presentation to clinics at an advanced stage, need for palliative care provision is high in sub-Saharan Africa. However, palliative care services are limited and there is no evidence regarding the symptom burden in cancer patients and barriers to delivery of palliative care in The Gambia. Objectives are to assess: i) symptom prevalence and burden among patients with hepatocellular carcinoma (HCC), the commonest type of cancer in West Africa; ii) palliative care knowledge among doctors and nurses; iii) availability of essential medicines for palliative care in general hospitals; and iv) regulatory barriers to accessibility of opioid analgesics in The Gambia. **【方法】** All patients referred to a specialist liver clinic for suspected liver disease were interviewed using a standardised questionnaire. Self-administered questionnaires were distributed to all healthcare workers in three hospitals in The Gambia. **【成績】** All HCC patients complained of pain. Their median pain score was significantly higher than that of patients without HCC. Although all the patients were referred from outside clinics, none were prescribed oral morphine. Ninety-three percent of doctors and nurses answered “true” to a question “long-term use of opioids can often induce addiction”, which is incorrect. Oral morphine was available in just three out of eight hospitals. Supply of opioid analgesics is complicated within the regulatory system. **【結論】** HCC patients in The Gambia suffer from pain without access to oral morphine. Integration of palliative care into the national health system should be considered a priority in The Gambia.

P1-61 東日本大震災における年齢別死亡の考察

高橋 宗康, 和田 崇之, 山本 太郎

長崎大学 熱帯医学研究所 国際保健学分野

【背景】 2011年3月11日に発生した東日本大震災で岩手、宮城、福島は地震とその後起こった津波の被害により多数の死者・行方不明者を出した。公表されているデータによると、岩手県の死者4665人、行方不明者1427人であった。岩手県に於いて最大規模の被災を受けた陸前高田市では、死者1555人、行方不明者228人で、6.7%の死亡率であった。今回、年齢別死亡率算出し、震災においてどの年齢が最も影響を受けたかを調べた。**【方法】** 公表されている統計データより震災時の直接死亡者を年齢（5歳階級）に算出した。**【結果】** 岩手県における年齢別死亡率は、11歳～15歳を最小で、10歳以下の小児で微増した。16歳以降は漸増し81歳以降の高齢者で最大値を示した。陸前高田市でも算出したが、同様の結果であった。**【考察】** 今回の結果を、2004年に発生したスマトラ沖地震・津波によって被害を受けたスリランカと比較したところ、60歳以上で死亡率が増加している点は同様であったが、10歳未満でも著明な増加を示したこと、中年で死亡率低値のままであることが異なった。災害において、一般的に震災弱者と言われる小児と高齢者で死亡率が高い原因は、津波から逃避可否という運動能力が生存に寄与するという点で解釈可能である。しかし今回の結果が示す、中年以降の年齢で緩やかな増加は、運動能力とは関係

のない要因があった事を示唆する。具体的には、弱者を救済するために逃げ遅れたり、公的な業務で浸水地に残ったことが要因として考えられる。今後、死亡者がどの場所にどんな理由でいたのか検証する必要し、防災対策へ寄与する必要がある。

P1-62 なぜマラリア予防以外の用途に蚊帳が利用されるのか？ゲーム理論からのアプローチ

本城 慶多¹⁾, CHAVES LUIS¹⁾, 佐竹 暁子¹⁾, 金子 明²⁾, 皆川 昇³⁾

¹⁾北海道大学大学院 環境科学院, ²⁾大阪市立大学大学院 医学研究科, ³⁾長崎大学 熱帯医学研究所 (熱研)

マラリアの予防には殺虫剤処理された蚊帳が有効であり、政府機関や非政府組織を通じて流行地域に配布されている。しかし、配布された蚊帳は必ずしも適切に用いられず、魚を干す網や農作物を守る網に転用される事例が報告されている。本研究では、ゲーム理論を用いて蚊帳を利用する人々の意思決定を表現し、蚊帳の転用が起こる仕組みの解明を試みた。ゲームのプレイヤーは「蚊帳をマラリア予防に用いる戦略T」と「蚊帳を経済活動に転用する戦略F」のいずれかを選択する。戦略Tはプレイヤーがマラリアに感染する確率を低下させる（個人効果）。戦略Fはプレイヤーの労働生産性を向上させる（転用効果）。また、少なくとも1人のプレイヤーが戦略Tを選んでいるとき、蚊帳の殺虫効果によりハマダラカの個体群密度が減少し、プレイヤー全員のマラリア感染率が低下する（共同体効果）。共同体効果の強さは戦略Tをとるプレイヤーの人数に比例する。このようなゲームを解析することで、以下の結果を得た。自然状態におけるマラリア感染率が低いとき、プレイヤー全員が戦略Fを選択し、蚊帳を漁業や農業に転用する。逆に、感染率が高いとき、プレイヤー全員が戦略Tを選択し、蚊帳をマラリア予防に利用する。感染率が中程度のとき、戦略Tのプレイヤーと戦略Fのプレイヤーが混在するフリーライダー解が成立する。フリーライダー解において、戦略Fのプレイヤーは戦略Tのプレイヤーから供給される共同体効果に「ただ乗り」する形となる。プレイヤーの意思決定は労働生産性にも依存している。労働生産性が低い地域では、蚊帳の転用から得られる利益が所得に対して十分に大きいため、蚊帳の転用が個人にとって望ましい戦略となる。蚊帳の転用は、貧困のなかで暮らす人々が合理的な意思決定を行った結果であると考えられる。

P1-63 熱帯地域における季節性インフルエンザ流行動態と気象・環境因子との疫学的関連

The association between weather variability and Influenza incidence among young children in a low-income urban population in Bangladesh

Chisato Imai¹⁾, Brooks W. Abdullah^{2,3)}, Goswami Doli²⁾, Anjali Bilkis Ara²⁾, Dewan Ashraf⁴⁾, Chung Yeonseung⁵⁾, Kim Ho⁶⁾, Masahiro Hashizume¹⁾

¹⁾ Department of Paediatric Infectious Diseases, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, ²⁾ International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh,

³⁾ Johns Hopkins University, ⁴⁾ Curtin University, ⁵⁾ Korea Advanced Institute of Science & Technology,

⁶⁾ Seoul National University

Background: While influenza outbreaks are generally linked to dry and cold weather in temperate regions, the cases in tropical regions are less pronounced and often detectable throughout the year. The reason remains largely uncertain. Influenza seasonality in tropical regions is poorly understood and not as well documented as in temperate regions. **Aims:** This study is to assess whether the influenza incidence is associated with humidity, temperature, precipitation, and sunlight duration among young children in an urban slum population in Bangladesh. **Methods:**

Acute respiratory illness (ARI) data was obtained from a population-based clinic surveillance system in Kamalapur, Bangladesh. Data was from January 1, 2005 to December 31, 2008. Nasopharyngeal wash (NPW) specimens were collected from every fifth clinic visit to identify influenza virus infection with viral culture and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). Time series analysis was conducted to determine the association between the number of influenza cases per week and meteorological factors. Subgroup analysis was also conducted to further illustrate the impacts of potential effect modifiers, such as the number of family members and income. **Result:** The total 14, 140 visits for ARI were observed at the surveillance clinic during the study period, of which 3, 198 NPWs were collected and 578 cases were identified infections with influenza virus. The associations with weather variability differed by influenza subtypes, but influenza A had more associations. Subgroup analysis revealed that children from the lower income family are more impacted by weather variability.

P1-64 ラオス、カンボジアにおけるデング熱と気象因子の疫学的関連

The impacts of global and local climates on dengue fever in Lao PDR and Cambodia

今井 智里¹⁾, Cheong Hae-Kwan²⁾, Kim Ho³⁾, 本田 靖⁴⁾, 橋爪 真弘¹⁾, Kim Jinseop³⁾, Eum Jinhee²⁾, Kim Yoohnee³⁾, Kim Clara Tammy³⁾, Fengthong Taypasavanh⁵⁾

¹⁾ Department of Paediatric Infectious Diseases, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ Department of Social and Preventive Medicine, Sungkyunkwan University School of Medicine,

³⁾ Graduate school of public Health, Seoul National University,

⁴⁾ Department of Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba,

⁵⁾ Environmental Health Division, Department of Hygiene and Prevention, Ministry of Health

Background: Climate change and climate variability are increasingly recognized as one of factors influencing emergence or re-emergence of vector-borne diseases like dengue. For the past years, the increment of dengue has been observed and studies showed much evidence of strong correlations between climate variables and dengue cases. **Aims:** This study was conducted to explore the associations between climate variables and dengue fever in Lao PDR and Cambodia. **Methods:** Dengue case data from three regions (North, Central, and South) of Lao PDR (2005-2010) and two cities (Phnom Penh and Siem Reap) of Cambodia (2006-2011) was obtained. Time series analysis was performed to assess the associations with monthly climate variability, fitting global climate Southern Oscillation Index (SOI) and Dipole Mode Index (DMI) and local weather variables (rainfall and maximum temperature) in generalized linear quasi-Poisson models. **Result:** The seasonality of dengue cases appeared to be mostly concomitant with rainy season (April to September) in both countries. Rainfall was positively associated with the number of dengue cases throughout the year in all locations whereas SOI showed a negative association. The effects of maximum temperature and DMI, on the other hand, varied depending on season and location, and the consistent pattern was hardly defined. **Conclusion:** In both countries, the number of dengue cases was positively and negatively associated with rainfall and SOI, respectively. The effects of maximum temperature and DMI were highly variable. Understanding the association between rainfall and SOI might assist further clarification of the impact of climate change on dengue fever.

P1-65 バングラデシュにおけるコレラ流行とインド洋ダイポール現象
The Indian Ocean Dipole and cholera incidence in Bangladesh

Masahiro Hashizume¹⁾, Chaves Luis Fernando^{1,2)}, Faruque ASG³⁾, Yunus Md³⁾, Streatfield Kim³⁾,
 徹 寺尾⁴⁾

¹⁾ Department of Paediatric Infectious Diseases, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica,

³⁾ International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh. Dhaka, Bangladesh,

⁴⁾ 香川大学教育学部人間環境教育講座

The Indian Ocean Dipole (IOD) is also associated with interannual climate variability in the tropical Indian Ocean. We explored the relationship between the IOD and the incidence of cholera in Bangladesh. A generalized linear negative binomial model was used for time-series regression of the number of monthly hospital visits for cholera in Dhaka and Matlab and the Dipole Mode Index (DMI), controlled for El Nino index (NINO3) and seasonal and interannual variations. We also performed a cross wavelet coherency analysis to examine whether the association between the IOD and the incidence of cholera was stationary (i.e., constant through time). From the generalized linear model, the increased number of cholera cases in Dhaka was associated with a higher DMI at a lag of 0-3 months, while it was also associated with lower DMI at a lag of 4-7 months. In Matlab, increased number of cholera cases was associated with a higher DMI at a lag of 0-3 months and with high NINO3 at a lag of 8-11 months. The increased risk of hospital visits for cholera was associated with high SSH and SST in both areas. Cross wavelet coherency analysis revealed that the strength of both the IOD and El Nino associations with cholera hospitalizations changed across time scales during the study period. Our findings support a hypothesis that a negative and positive dipole event may increase potential flooding and thus an outbreak of cholera in Bangladesh in different lag time whilst the association was time-varying.

P1-66 Socio-medical inequities in bed-net use in two different malaria endemicity of Nepal

Sherchand Jeevan¹⁾, 小原 博²⁾

¹⁾ Public Health Research Laboratory Institute of Medicine Tribhuvan Univ,

²⁾ 国立国際医療研究センター 国際医療協力局

The aim of the study was to examine variation in utilization of bednets by socioeconomic groups and inequities in access to malaria control services in Nepal. Four districts of Terai areas in which two from high endemic & two from resurgence were studied. Two villages (VDCs) from each district with Long Lasting Insecticidal Nets (LLINs) intervention and two villages (VDCs) without intervention were included. A total of 1, 051 households from these VDCs were randomly selected and data collected using structured interview through household survey and Focus Group Discussion.

The study reveals the wider disparity and pro-rich inequities in ownership of bednets. This implies that rich people were more likely to own and use bednets than their poor counterparts. In area without LLINs intervention, bednet ownership was significantly higher in the rich households (poorest quintile: 38%, richest quintile: 89%, $P < 0.001$). There was significant variation in bednet ownership across caste/ethnic groups. Disparity in bednet

ownership between the poorest and richest group appears to be smaller in area with LLINs intervention and people equally use bednets irrespective of caste and ethnic background. Free mass distribution of the LLINs allows equitable ownership of bednets and reduce the inequality in usage of bednets across socioeconomic groups.

Hence, if provided freely, LLINs distribution program will be an important opportunity to reduce socioeconomic inequities in usage of bed nets by allowing equitable ownership of LLINs among the households of malaria risk area.

P1-67 大阪大学微生物病研究所・医学部附属病院感染制御部が主催する「熱帯感染症医師研修」の成果について

山本倫久^{1,2)}, 濱口重人^{1,2)}, 竹内壇¹⁾, 明田幸宏¹⁾, 関雅文²⁾, 朝野和典²⁾, 大石和徳¹⁾

¹⁾大阪大学微生物病研究所 感染症国際研究センター 臨床感染症学研究グループ,

²⁾大阪大学大学院 医学系研究科 感染制御学講座

大阪大学微生物病研究所・医学部附属病院感染制御部では、2009年より毎年夏に若手医師を対象として、『タイ・ミャンマー国境における現地で学ぶ熱帯感染症医師研修』を行っている。本研修は、国際化が急速に進む現代社会において、我が国で生じる医療・公衆衛生上の諸問題の解決に寄与することのできる医師や、海外で国際保健に貢献する医師を育成する事を目的としている。

研修を行うタイのメソット市はタイ北西部に位置し、ミャンマーと国境を接している。その地政学的背景から、ミャンマーからの難民や季節労働者が多数流入しており、実習を行う病院では受診者の約20%がミャンマー人となっている。病棟実習ではマラリアやデング熱をはじめとする熱帯特有の感染症について学び、現地の医師と症例検討会を行うとともに、限られたリソースの中でどのように診断・治療を行っているかを経験する。また、国境付近にあるミャンマー人難民キャンプ（Mae Laキャンプ）や難民のためのNGOによる診療所（Mae Tao Clinic）を訪れ、医療状況を見学し、政治・経済・民族紛争などが健康に及ぼす影響を学ぶことができる。

本年度5回目を迎える本研修は、日本全国から熱帯医学や国際保健に興味を有する医師から多くの応募があり、これまでに35名の医師が参加した。参加者の中には、研修後に大学院に進学し熱帯医学についての研究を行う者、米国の公衆衛生学修士（Master of Public Health）に進学する者、医療行政に関わる者など、多方面で活躍している。

今回、この熱帯感染症医師研修の質的評価を行い、この研修が参加者の、医師としてのキャリアパスにどのような影響をもたらしたのかについて調査を行ったので、その結果を報告する。

P1-68 カンボジア・クラチェ県におけるメコン住血吸虫症高度流行村落

桐木 雅史¹⁾, 林 尚子¹⁾, Muth Sinuon²⁾, Duong Socheat²⁾, Char Meng Chuor²⁾, 大前 比呂思³⁾, 千種 雄一¹⁾

¹⁾獨協医科大学 熱帯病寄生虫病室, ²⁾カンボジア保健省, ³⁾国立感染症研究所 寄生動物部

【背景】メコン住血吸虫症（Smek症）はカンボジアとラオスに分布する人体寄生虫症である。カンボジアでは集団駆虫によるSmek症対策の結果、保健省の定点調査において47～70%あった虫卵陽性率が近年0～5%以下にまで減少した。一方、演者らが実施してきた血清疫学調査では、抗体陽性率は全体的に減少したものの、一部村落では20%以上の高い値を維持していた。抗体陽性率の高い村落において2009年に演者らが実施した糞便検査では多くの虫卵陽性者を確認している。本年、再び小学生児童の糞便検査を実施する機会を得たので、保虫宿主動

物の調査結果と併せて報告する。【方法】調査は2013年の4～5月に実施した。調査村落はこれまでの血清疫学調査で抗体陽性率の高かった2村落（KK村, KC村）, 中等度のSK村, 低かったCT村とした。調査はカンボジア保健省の本症対策活動の一環として, クラチェ県保健局および教育局の協力を得て実施した。4村落の小学校の2～4学年児童, およびKK村・KC村のイヌとブタについてフォルマリン・デタージェント法により検便をおこなった。【結果】小学校児童のSmek虫卵陽性率はKK村（78% :39/50）, KC村（20.3% :16/79）, SK村（2.9% :1/35）, CT村（0% :0/61）であった。また, KK村の糞便虫卵密度（EPG）はKC村に比して有意に高かった。イヌのSmek虫卵陽性率はKK村（13.3% :2/15）, KC村（5.9% :1/17）であった。ブタからSmek虫卵は検出されなかった。【考察】2009年の調査における虫卵陽性率はKK村10% , KC村30%であった。両村は今回も高い陽性率を示し, 特にKK村は78%と極めて高かった。このことは, 現行の対策だけでは本症のコントロールが困難であることを示唆している。両村ではイヌからも虫卵が検出されており, 今後注視していく必要があると考えられる。なお, 抗体陽性率が高くなかったSK村, CT村では虫卵陽性率が低く, 地域のリスク評価における血清疫学調査の有効性が示唆された。

P1-69 Copro-antigen profiles of *Opisthorchis viverrini* following infection and curative chemotherapy in a hamster model

Jiraporn Sithithaworn¹⁾, Thidarut Boonmars^{2,3)}, Thidarut Boonmars^{2,4)}, Thewarach Laha³⁾, Paiboon Sithithaworn^{3,4)}

¹⁾Faculty of Associated Medical Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand,

²⁾Department of Public Health, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University,

³⁾Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University,

⁴⁾Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center (LFCRC), Faculty of Medicine, Khon Kaen University

Copro-antigen detection has been advocated as a promising method for diagnosis of opisthorchiasis, particularly in light infection or have had recent drug treatment. This study aimed to investigate performance of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay (Mab-ELISA) for detection of *Opisthorchis viverrini* copro-antigen and assess the correlation with intensity of infection in experimental opisthorchiasis-hamster model. The Mab-ELISA had a detection limit of 156 ng/ml and a significant positive correlation was observed between the antigen level and the worm burden from individual infected animals ($p < 0.05$). After treatment with praziquantel (400 mg/kg), the antigen levels in all groups significantly decreased until week 6 post-treatment and the levels in the treatment groups were significantly lower than untreated controls ($p < 0.001$). The observed data suggest that the faecal MAb-ELISA is useful for diagnosis of low-intensity infection that might not be detectable by conventional microscopy. Another advantage of the copro-antigen detection is that it related to live worm in the liver hence indicating active infections. These results demonstrated that a Mab-ELISA assay is sensitive not only for diagnosis but also monitoring efficacy of drug treatment in opisthorchiasis and is applicable for use in human.

P1-70 Transmission dynamics of *Opisthorchis viverrini* in the snail intermediate host, *Bithynia siamimensis goniomphalos* in Northeast Thailand

Kulthida Kopolrat, Nadda Kiatsopit, Nonglak Laoprom, Paiboon Sithithaworn

Department of Parasitology and Liver Fluke and Cholangiocarcinoma research Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

Bithynia siamensis goniomphalos (Bsg) is a snail intermediate host and a critical amplifying point for transmission of the liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. Geographical distribution of Bsg is necessary for the spread of opisthorchiasis and subsequent cholangiocarcinoma. This study aimed to investigate the effects of seasonality and snail host factors on transmission dynamics of *O. viverrini* in *B.s.goniomphalos*. The infection rate and cercarial shedding of *O.viverrini* were measured at monthly intervals for 3 consecutive years. In total 48, 673 snails from the same endemic locality were collected and analyzed. Prevalence of *O.viverrini* varied with season ($P < 0.001$), the highest infection rate was in the cool-dry season (1.36%). A moderate prevalence (0.54%) occurred in the rainy season and became lowest (0.08%) in the hot-dry season. The overall prevalence over three years was 0.60%. The numbers of cercarial released per snail per day significant correlated with snail size and seasonality. In spite of the ongoing control program to interrupt the transmission of opisthorchiasis, a strong seasonal pattern of *O. viverrini* infection in the snail hosts was preserved. Our results suggest that seasonal factors play important roles in transmission dynamics of the liver fluke from human to snail. The observed data form basis for further study of the infection in cyprinid fish, the second intermediate host of *O.viverrini*.

P1-71 Development of a school-based health education model to prevent and control opisthorchiasis and cholangiocarcinoma in northeast Thailand

Luxana Laithavewat^{1,2)}, Puangrat Yongvanit^{4,5)}, Paiboon Siththihaworn^{3,5)}

¹⁾Biomedical Science Program, Faculty of Associated Medical Science,

²⁾Office of Disease Prevention and Control 6, Ministry of Public Health, Khon Kaen, Thailand,

³⁾Departments of Parasitology, ⁴⁾Departments of Biochemistry ,

⁵⁾Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Centre, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

Cholangiocarcinoma (CCA) is a significant health problem in Southeast Asia particularly northeast Thailand. The major risk factor is liver fluke infection by *Opisthorchis viverrini* from raw fish consumption. From past to present, campaigns against raw fish consumption have had little success. School children have been recognized as a target group for future control of CCA but a formal model is needed. The objective of this study was to develop a school-based liver fluke and CCA intervention package for primary school children in high risk areas of CCA in northeast Thailand. The package includes teacher training, provision of supplementary material and exhibits concerning liver fluke transmission and carcinogenesis. During program implementation, children had self learning activities and record the dishes and consumed at home and neighboring families. Data were collected by means of interviews and a simplified structured questionnaires. The tests were done in 118 pupils and 118 pupils served as controls. The experimental schools showed significantly higher knowledge, perception of severity, vulnerability and utility than control schools. The initial results suggest that school-based health education programs have potential to be a model for a control intervention package against liver fluke and CCA. Further application with pre and post intervention evaluation is being undertaken.

P1-72 顕微鏡検査技師の住民へのマラリア予防啓発活動の強化因子：フィリピン・パラワン州における横断研究

松本-高橋 エミリー^{1,4)}, Tongol-Rivera Pilarita²⁾, A.Villacorte Elena²⁾, U. Angluben Ray³⁾, 狩野 繁之⁴⁾, 神馬 征峰¹⁾

¹⁾東京大学大学院 医学系研究科 国際地域保健学教室,

²⁾Department of Parasitology, College of Public Health, University of the Philippines Manila, the Philippines, ³⁾KLM/Pilipinas Shell Foundation, Inc, Palawan, the Philippines,

⁴⁾国立国際医療研究センター研究所 熱帯医学・マラリア研究部

【目的】パラワン州は、フィリピン最南西に位置し、医療保健制度は極めて限られている地域である。2013年現在においてなお、マラリアは同州の人々の健康に重大な影響を及ぼしている。

同州では、1999年に344名（各マラリア流行村1名）のマラリア顕微鏡検査技師を養成し、以来マラリア早期診断技術の移転を進めている。以後、パラワン州全土におけるマラリア罹患率および死亡率は減少してきているが、近年その減少速度は停滞傾向にある。

同州でのマラリア流行制圧のためには、今こそ地域住民による予防行動を強化する必要がある。それには、マラリア顕微鏡検査技師が、主にマラリア患者やその家族等を対象に、マラリアの予防啓発活動を効果的に行うのが良いと仮説をたてた。この仮説を説明するのに、本研究では、住民の予防行動につながるマラリア顕微鏡検査技師の予防啓発活動の強化因子を明らかにすることを目的とする。

【方法】2010年11月および2011年2月の計2回、パラワン州において、マラリア顕微鏡検査技師127名（43.8%）を対象に調査した。調査は構造化質問紙を用い、（1）任務地、（2）マラリア流行度、（3）予防啓発活動、（4）顕微鏡検査技師の能力（サービスの質・マラリアの知識・顕微鏡検査の技能）、（5）マラリア自己予防行動、（6）職務満足感について質問した。解析は、共分散構造分析を用いた。

【結果と考察】（1）顕微鏡検査技師の能力が高いほど、活発に予防啓発活動を実施した。（2）顕微鏡検査技師の能力を向上するには、特に2つの技術（サービスの質と顕微鏡検査の技能）を高めることが有効であった。（3）一方、任務地、マラリア流行度、マラリア自己予防行動、職務満足感は、予防啓発活動に影響を及ぼさなかった。

【結論】顕微鏡検査技師の能力の強化によって、予防啓発活動も活発になり、地域住民の予防行動の強化、さらには同州におけるマラリア制圧が期待される。

ポスターセッション 2日目

Poster Presentation Day 2

October 5 12:15 – 13:50

長崎ブリックホール・3階ラウンジ

Lounge at 3rd floor, Nagasaki Brick Hall

●ポスター

P2-01 ネパールにおけるHIV/AIDS患者における合併肺結核

Pulmonary Tuberculosis Co-infection among HIV/AIDS infected Patients in Nepal
 Sherchan Jatan¹⁾, 櫻田 紳策²⁾, 小原 博²⁾, 平山 隆則³⁾, Bam Dirgh⁴⁾, Sherchan Jeevan⁵⁾

¹⁾Department of Microbiology, Kathmandu University School of Medical Sciences,

²⁾国立国際医療研究センター国際医療協力局, ³⁾結核予防会結核研究所対策支援部,

⁴⁾Dirgh-Jeevan Health care and Research Centre,

⁵⁾Tribhuvan University Institute of Medicine, Public Health Research Laboratory

Introduction: HIV/AIDS and TB are two major pandemic worldwide. TB is the most important threatening opportunistic infections associated with HIV. **Objective:** To determine the prevalence of TB in HIV/AIDS patients. **Methodology:** A cross sectional study was conducted in Public Health Research Laboratory, Institute of Medicine, TUTH, Kathmandu, Nepal with a general objective of determining TB co-infection among HIV/AIDS patients. Sputum samples were collected from 375 HIV/AIDS patients visiting Anti Retroviral Treatment center of TUTH, Maharajgunj, STIDH, Teku and different rehabilitation center of Kathmandu valley. The samples were examined by Ziehl Neelsen staining, Fluorochrome staining and culture methods for the detection of *Mycobacterium tuberculosis*. **Results:** Among the 375 HIV cases, 253 (67.46%) were males and 122 (32.53%) were females with the highest number of cases, 132 (35.2%) in the age group 30-40 years. *Mycobacterium tuberculosis* was detected in 100 (26.66%) HIV cases of which 30 (30%) were in age group 20-30 years followed by 30-40 years age group 28 (28%) ; 80 (80%) were male and 20 (20%) were female. CD4 cell count was less than 200 cell/ μ l in 50% of the co-infected patient. Significant relationship was established between occupation, occurrence of symptoms like cough, hemoptysis, fever, night sweats and TB status. Among 100 co-infected cases, 46 (12.3%) were positive by Ziehl Neelsen staining technique, 67 (17.9%) by Fluorochrome staining technique and 96 (96%) by culture method. **Conclusion:** This study is important for establishing strategies to improve the control of tuberculosis in HIV-infected patients

P2-02 ベトナムホーチミン市HIV感染者における伝播性薬剤耐性(Transmitted Drug Resistance: TDR)の発生動向: 2008-2012

田沼 順子¹⁾, Vo Minh Quang²⁾, 城谷 茜¹⁾, 蜂谷 敦子³⁾, 渡辺 恒二¹⁾, 湯永 博之¹⁾,
 Nguyen Van Vinh Chau²⁾, Nguyen Tran Chinh²⁾, 岡 慎一¹⁾

¹⁾独立行政法人国立国際医療研究センター病院 エイズ治療・研究開発センター,

²⁾ホーチミン市立熱帯病病院, ³⁾国立病院機構名古屋医療センター

【背景・目的】 ベトナムでは近年抗レトロウイルス療法が急速に広まり, 薬剤耐性ウイルスの発生・伝播が懸念されている。同国での伝播性薬剤耐性ウイルス(Transmitted Drug Resistance: TDR)の現状を知るため, ベトナムホーチミン市立熱帯病病院におけるTDRの検出頻度とリスク因子について検討を行った。

【方法】 対象はホーチミン市立熱帯病病院を2008-2012年に受診した無治療HIV感染者で, 毎年秋に連続して250-300名の受診者に対し研究への参加を呼びかけ, 文書同意が得られた者を対象とした。薬剤耐性検査(Genotyping)は血漿よりRNAを抽出しpol領域をPCRした後direct-sequence法で塩基配列を決定し行った。TDRはWHO list(2009)に基づき定義した。

【結果】 2008-2012年に1426名より同意が得られ、治療歴があるなどの理由で20例が除外された。最終的にPCRが成功し塩基配列が得られた1390名を対象とした。2008年から2012年にかけてInjection Drug Userの割合(2008年34%, 2012年18%)およびHCV抗体陽性率(2008年50%, 2012年30%)が減少していた。サブタイプはCRF01_AEが98%, Subtype B 2.2%であった。

TDRの検出頻度は全体に低く推移し、5年間を通じた検出頻度は4.2%であった。各年度におけるTDR検出頻度は、2008年11% (n = 293, NRTI 1.0%, NNRTI 2.3%, PI 0.3%), 2009年8% (n=250, NRTI 1.2%, NNRTI 1.6%, PI 2.0%), 2010年5.8% (n=292, NRTI 2.4%, NNRTI 0.7%, PI 2.7%), 2011年3.1% (n=294, NRTI 1.4%, NNRTI 1.0%, PI 1.4%), 2012年5.4% (n=261, NRTI 1.5%, NNRTI 1.9%, PI 1.9%)であった。CD4数100未満(OR1.93, 95%CI 1.12-3.33, p 0.016)のみがリスク因子として有意な結果を得た。

【考察・結語】 急速にARTが普及した2008年から2012年の間もベトナムではTDR頻度は全体に低く推移していた。TDR検出に関連する背景因子として、CD4数100未満であることが挙げられた。今後もTDRについて注視する必要があると考えられる。

P2-03 コンゴ民主共和国北キブ州に流行するHIVのサブタイプ解析

井戸 栄 治^{1,4)}, Karhemere Stomy²⁾, Kayumba Joseph³⁾, Mukedi Joachim-Massa³⁾, Aziati Ishmael⁴⁾, Agbosu Esinam⁴⁾, Ampofo William⁴⁾, 伊吹 謙太郎⁵⁾, 山岡 昇司¹⁾, Muyembe Jean-Jacques²⁾

¹⁾東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科,

²⁾National Institute of Biomedical Research, Kinshasa, Democratic Republic of Congo,

³⁾General Hospital of Goma, Goma, Democratic Republic of Congo,

⁴⁾Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Accra, Ghana,

⁵⁾京都大学 大学院医学研究科

【目的】 コンゴ民主共和国(旧ザイール)はアフリカ大陸の中心部に位置し、広大なコンゴ川流域の熱帯雨林を国土としている。これまでの調査に拠れば、この国には多様な遺伝子型のHIV株が混在して流行していることが知られている。しかし、同国の東部地域については、約20年前に発生したルワンダ紛争以後、現在も政情不安が続いているために、そのような調査が行われたことがなかった。今回、現地の医療機関の協力を得て、初めて北キブ州におけるHIVの分子疫学調査を行ったので報告する。

【材料と方法】 2011年10月にコンゴ民主北キブ州の町ゴマの州立総合病院において、主に臨床症状からエイズが疑われた患者50人より患者の同意を得て血液を採取した。血清学的診断の後、PBMCよりDNAを抽出し、nested PCRによりHIVのpol遺伝子の一部(288bp)を増幅、これらの遺伝子配列に基づき分子系統解析を行った。

【結果】 PA検査では、得られた50検体全てが強いHIV陽性であった。PCR産物の核酸配列より分子系統解析した結果、いずれもHIV-1で、その大半(70%)がサブタイプD(B)に帰属していることが分かり、他にサブタイプA, G, C, Dの株が少数ながら見られた。

【考察】 我々が以前行ったコンゴ盆地内の多の地域では、サブタイプAを主として実に多様な遺伝子型のHIV-1が流行していることが明らかにされている。2007年には今回調査した北キブ州に隣接する南キブ州で同様な調査を行っているが、その時の結果はサブタイプAに次いでCが2番目に多かった他はこれも多様な遺伝子型が見つかっていた。今回サブタイプD(B)が北キブ州で多数見つかったことは、サブタイプAが多いとされる近隣のルワンダにおける分布状況とは異なっており、極めて興味深い。またDやBが得られたことから、世界に蔓延したサブタイプBとの関連について考察したい。

P2-04 薬剤耐性を示すHIV-1プロテアーゼの新規蛍光識別法の開発

梶島 力, 朱 欽昌, 川島 歌織, 矢ヶ部 良太, 柴田 孝之, 甲斐 雅亮
長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科

【目的】 エイズの原因であるヒト免疫不全ウイルス (HIV) は, 変異を起こしやすく, 薬剤耐性を示す変異ウイルスの出現が社会問題となっている。そのため, 新たな薬剤耐性ウイルスの検出法が求められている。

我々は, ペプチドに特異的な新規蛍光誘導体化反応を活用した, HIV-1プロテアーゼ (HIV-1 PR) の活性測定法を開発した。さらに今回, この活性測定法を, 薬剤耐性HIV-1 PR識別法へ開発展開した。

【方法】 2種類の変異型HIV-1 PR (MaおよびMb) を作製し, 野生型および変異型HIV-1 PRを発現している大腸菌抽出液を酵素試料とし, 3種類のアセチル化ペプチドを基質として使用した。それぞれの酵素試料と3種類の基質を, 阻害剤存在下または非存在下で酵素反応し, 生成したペプチドを特異的に蛍光誘導体化した後, HPLCによって分離・蛍光検出した。

【結果・考察】 野生型および変異型HIV-1 PRの基質分解パターンをHPLCによって調べたところ, 各HIV-1 PRは, それぞれ異なるHPLCパターンを示した。また, 抗HIV薬であるサキナビル (HIV-1 PR阻害剤) の50%阻害濃度 (IC₅₀) を調べたところ, IC₅₀は, 野生型, 変異型Maおよび変異型MbのHIV-1 PRに対して, それぞれ62.0 nM, 127.9 nM, 52.5 nMであった。この結果は, 変異型Maは, サキナビルに対して阻害を受け難い耐性を持ち, 変異型Mbは, サキナビルで阻害され易いという, これまでの報告と一致した。

今回開発した複数の基質を同時に使用する活性測定法は, 塩基配列の情報がなくとも, 薬剤耐性の変異型を直接識別可能であり, また, 他のウイルスプロテアーゼ識別にも適応できることから, ウイルス疾患の診断や治療薬開発に有用と考える。

P2-05 デング熱重症化と関連するマスト細胞顆粒タンパクであるキマーゼおよびトリプターゼをコードする遺伝子の患者集団での多型解析

Association study between Chymase (CMA1) and Tryptase 1 (TPSAB1) genes polymorphism and severe forms of Dengue virus infection, Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) / Dengue Shock Syndrome (DSS) in Vietnam

Vasquez Velasquez Clara Alejandra¹⁾, 古田 隆久²⁾, Nguyen Thi Phuong Lan³⁾, Nguyen Tien Huy⁴⁾, Vu Thi Que Huong³⁾, Tran Thi Thuy⁵⁾, Vo Dinh Tham⁶⁾, Cao Thi Phi Nga⁶⁾, Tran Thi Ngoc Ha⁴⁾, 菊池 三穂子¹⁾, 森田 公一⁷⁾, 安波 道郎⁸⁾, 渡辺 直熙⁹⁾, 平山 謙二¹⁾

¹⁾ Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ 東京大学 医科学研究所 感染遺伝学分野,

³⁾ Arbovirus Laboratory, Pasteur Institute, Ho Chi Minh City, Viet Nam,

⁴⁾ 長崎大学 熱帯医学研究所 臨床開発学分野,

⁵⁾ Children's Hospital No. 2, Ho Chi Minh City, Viet Nam,

⁶⁾ Center for Preventive Medicine, Vinh Long Province, Viet Nam,

⁷⁾ 長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野,

⁸⁾ 長崎大学 熱帯医学研究所 臨床感染症学分野, ⁹⁾ 慈恵会医科大学 熱帯医学講座

Background: Dengue Fever is a mosquito-borne viral disease that causes morbidity and mortality. Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is characterized by plasma leakage, and or hemorrhage and Dengue Shock Syndrome (DSS) by shock. The pathogenesis of the severe forms is not clear. A possible role of mast cells has been recently

reported showing high levels of chymase, trypsin in the DSS. Human Chymase encoded by the CMA1 gene located on the long arm of chr 14 (14q11.2), and the Trypsin gene on chr 16 (16p.13.3) TPSAB1. Objective: Polymorphisms of CMA1 and TPSAB1 genes were analyzed for possible association with susceptibility against severe forms of Dengue Methods: The collected blood samples from patients at the Children's Hospital No. 2 in Ho Chi Minh City (HCMC) and the Center for Preventive Medicine in the Vinh Long Province (VL) during 2002 to 2005 in Southern Vietnam consisted of 207 with DHF, 365 with DSS and 392 healthy controls were analyzed. Results: The promoter region of CMA1 at position -1903 A&G polymorphism showed no association with severe forms of Dengue fever. The α -trypsin allele was significantly associated with susceptibility to DHF compared with healthy controls (OR= 2.5, p=0.009) in HCMC and VL was strongly significant associated with susceptibility to DSS compared with healthy controls (OR=3.25, p= <0.0001). Conclusion: No association was observed between CMA1 -1903 A&G polymorphism and the development of severe forms of dengue virus infection. However, TPSAB1 gene polymorphism showed a significant association with DHF in HCMC and with DSS in VL.

P2-06 Universal immunizationプログラム導入後のベトナムカンホア省における小児のB型肝炎ウイルス血清有病率：中間報告

Seroprevalence of hepatitis B virus in children after introduction of universal immunization programme in Khanh Hoa province, Vietnam: an Interim Report

宮川 雅美^{1,2)}, 吉田 Lay Myint³⁾, 本村 秀樹¹⁾, Tho Le Huu⁴⁾, 安波 道郎⁵⁾, 有吉 紅也⁵⁾,
Duc Anh Dang⁶⁾, 森内 浩幸¹⁾

¹⁾長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 小児病態制御学分野,

²⁾国立国際医療研究センター 国際医療協力部 派遣協力課,

³⁾長崎大学熱帯医学研究所 小児感染症学分野,

⁴⁾Khanh Hoa Provincial Public Health Center, Nha Trang, Vietnam,

⁵⁾長崎大学熱帯医学研究所 臨床感染症学分野,

⁶⁾National Institute of Hygiene and Epidemiology, Nha Trang, Vietnam

Background: Seroprevalence of hepatitis B virus (HBV) and effectiveness of the current immunization strategy have not been precisely evaluated in their regional context after introduction of universal vaccination of HBV in 2005. Objective: To determine the seroepidemiological status of HBV infection among mothers and their 2-year-old children in Nha Trang, and to assess effectiveness of the current strategy. Methods: We enrolled mothers and their newborn babies who were born at Khanh Hoa General Hospital between May 2009 and May 2010. Serological status and clinico-epidemiological information were investigated in mothers at delivery and in children at 2 years of age. Results: Among 2083 mothers, 12.5% were positive for HBsAg, 42% of whom were HBeAg-positive. Among 1339 children followed at 2 years of age, 91.9% received at least 3 doses of HBV vaccines and 82.4% received a birth dose within 24 hours after birth. At 2 years of age, 1.9% of children were HBsAg-positive (HBV carriers) and 15.0% of children were non-reactive to at least 3 doses of HBV vaccination (vaccine failure). Vaccine effectiveness could not be figured correctly since all of 166 children born to HBsAg-positive mothers were also immunized; nonetheless it was 68.8% in children who received at least 3 doses of vaccination in reference to those with 1-2 doses of vaccination, and birth dose of vaccination did not elicit effectiveness in this study. Conclusion: HBV carriers and vaccine failure were high among 2-year-old children. Further studies are recommended to determine effectiveness of the current preventive strategy in Vietnam.

P2-07 アデノウイルス全ゲノム解析を通じた次世代シーケンサーの性能並びに適応性比較

春山 貴弘¹⁾, 上地 玄一郎¹⁾, 小林 信之^{1,2)}

¹⁾株式会社AVSS, ²⁾長崎大学大学院 医歯薬総合研究科

【目的】 2003年「ヒトゲノム計画」の完遂が宣言されると同時に「1000ドルゲノムproject」が将来ビジョンとして提唱され, DNA解読技術の「高速化」「低コスト化」を眼目とした熾烈な技術開発競争が繰り広げられている。その基盤技術の最上位に位置するのが「次世代シーケンサー (NGS)」である。我々は, ウイルス感染症対策に主眼をおきNGSを有効活用した診断技術開発や創薬を目指している。本研究では, アデノウイルスゲノムを対象に現在主力とされている複数のNGSで全塩基配列解読をおこない, その特性や適応性について比較検証することを目的とした。

【方法】 対象としたアデノウイルスの市中分離株を培養細胞に感染させ, 感染細胞からウイルスゲノムを抽出・精製した。調製したウイルスゲノムについて測定原理・性能の異なる4種類のNGS「GS junior (Roche社)」「Ion PGM(Life technologies社)」「PacBio(Pacific Biosciences社)」「MiSeq (illumina社)」にてde novoアッセンブルによる全ゲノム配列決定を試みた。

【結果】 ウイルスゲノムのde novoアッセンブルはリード長500 pb以上を有するNGSにて良好であり長鎖contigの形成が確認された。既存のアデノウイルスゲノムを参照し詳細に塩基配列の比較をおこなった結果, 各NGSの解析結果には各々特徴的な変異/欠損/挿入が確認された。また, NGSの種類に依らずウイルスゲノムの両末端配列は解読不能であった。

【考察】 解析対象としたアデノウイルスゲノムは直鎖上の2本鎖DNA (約35 ~ 36 kbp) より成る。その両末端はウイルス複製に必須とされるTP (terminal protein) が共有結合した特徴的な構造をとっている。解析結果に認められたゲノム末端の解析不良はTPの影響である可能性が示唆された。ウイルス感染症に対する診断技術や創薬へNGSを適応する際には, サンプル調製からデータ解析におけるまで, 各ウイルスの特性を十分に考慮した個別対応が必要であると考えられた。

P2-08 沖縄島で1971年から2004年にかけて分離した日本脳炎ウイルスの遺伝的多様性とその変遷

斉藤 美加¹⁾, 伊佐 睦実^{1,2)}, 田崎 駿平^{1,2)}, 玉城 和美¹⁾, 只野 昌之¹⁾

¹⁾琉球大学 医学研究科 微生物学腫瘍学, ²⁾琉球大学 農学研究科

【目的】 日本脳炎ウイルス (JEV) は蚊の媒介によりヒトに脳炎を起こすフラビウイルス (RNA) であり, アジアを中心にその高い致死率と重篤な後遺症のため, 公衆衛生上の脅威であり続けている。沖縄島は亜熱帯気候に属し, 地理的に琉球弧を形成する島嶼の一つであり, 他地域と海により隔てられている。進化速度の速いRNAウイルスは新興感染症出現のリスクと考えられ, JEV沖縄島分離株の遺伝子解析から, 限局した空間での遺伝的多様性とその変遷を俯瞰することは興味深い。今回, 沖縄島の102株のJEVの系統樹解析を行なったので報告する。

【方法】 1971—2004年の34年間に沖縄島で分離した102株JEVのenvelope領域の塩基配列を決定し, 系統樹, データ解析を行なった。解析はClustal X, Datamonkey等を用い, 相同性, 選択圧を調べた。

【成績】 沖縄島のJEV株は年代別に1970年代 (cluster I), 1985-1992年 (cluster II), 1995年以降 (cluster III) の3分集団を形成していた。系統樹解析の結果, cluster IとIIは遺伝子型3型 (G3) に属し, IIIは中国, 韓国株に近縁であり遺伝子型1型 (G1) に属していた。全株, 各分集団の塩基相同性は全株 (86.9%~), cluster I (99.4%~), cluster II (98.3%~), cluster III (99.1%~) であり, 分集団内での変異率は同程度であった。非同義置換率と同義置換率の比 ω を推定したところ, 全株, G1, G3の ω はそれぞれ0.037, 0.050, 0.307であり, G1の負の選択圧が弱かった。

【結論】 沖縄では少なくとも2度, 外来性JEVの移入, 主な分集団の形成と入れ替えが生じていた。cluster III (G1)

は中国, 韓国を経て, 沖縄に侵入した可能性がある。1995年以降の沖縄分離株はすべてG1であり, G3に比し負の選択圧が弱く, アミノ酸置換速度が増大したことが示唆された。沖縄島でのJEVG3からG1への入れ替えが, G1の環境への適応により生じた可能性が考えられ, 更に考察を加える。

P2-09 ベトナム国の急性髄膜炎/脳炎患者におけるエコーウイルス30感染例と日本脳炎ウイルス感染例の臨床比較解析
Clinical insights on Echovirus 30 and Japanese encephalitis virus infections in acute meningitis/encephalitis patients for a more reliable clinical diagnosis: a retrospective study of 103 cases in Vietnam

高松 由基^{1,2)}, 内田 玲麻^{1,2)}, PHAN THI NGA³⁾, 岡本 健太¹⁾, 鍋島 武¹⁾, DANG THI THU THAO³⁾, DO THIEN HAI⁴⁾, NGUYEN THI TUYET⁵⁾, 長谷部 太¹⁾, 森田 公一¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野, ²⁾長崎大学 医歯薬学総合研究科,

³⁾ベトナム国立衛生疫学研究所, ⁴⁾ハノイ国立小児病院, ⁵⁾バックジャン総合病院

Background: In recent decades, Echovirus 30 (E30) and Japanese encephalitis virus (JEV) have been reported to be the common causative agents of acute meningitis among patients in South East Asia. An E30 outbreak in Vietnam gained our interest because the initial clinical diagnosis of infected patients was due to JEV infection. There are no reports comparing E30 and JEV acute meningitis/encephalitis cases based on clinical symptoms and case histories. We therefore aimed to identify reliable clinical methods to differentiate E30 and JEV acute meningitis/encephalitis. Methods: A retrospective, cross-sectional study was conducted to compare E30 and JEV acute meningitis/encephalitis cases. We collected and analyzed the clinical records of 43 E30 and 60 JEV cases, respectively. Results: Analysis of the clinical information demonstrated that fever, headache, and vomiting were the most common symptoms in both the E30 and JEV groups. Combined symptoms of headache and vomiting and the triad of symptoms of fever, headache, and vomiting were observed in more patients in the E30 group. On the other hand, strong neurological symptoms such as seizure and altered consciousness were manifested primarily in the JEV group. CSF leukocytosis was observed predominantly in the E30 group. Conclusion: The triad of symptoms, and the absence of neurological symptoms, together with the laboratory observation of CSF leukocytosis are important parameters to consider in differentiating E30 from JEV cases during early infection so that proper measures can be adopted immediately to help prevent the spread of the disease in the affected areas.

P2-10 日本脳炎ウイルス抗原, コイルドコイル5量体, 免疫グロブリン結合ドメインから構成される三部構成複合体のワクチン機能解析

山口 類¹⁾, 新川 武¹⁾, 宮田 健¹⁾, 原國 哲也¹⁾, 田福 宣治²⁾, 只野 昌之³⁾

¹⁾琉球大学 熱帯生物圏研究センター 熱帯感染生物学部門 分子感染防御分野,

²⁾ジェクタス・イノバイターズ, ³⁾琉球大学医学部医学研究科ウイルス学講座

これまで我々は, 軟骨マトリックスタンパク質のひとつで5量体を形成するCOMPのコイルドコイルドメインに黄色ブドウ球菌由来の免疫グロブリン結合ドメイン (Zドメイン) を融合させたCOMP-Zが, マラリアワクチン抗原のデリバリー分子として有効であることを報告してきた。今回, このシステムがウイルス感染症に対して

も有効であるか検証するため、日本脳炎ウイルス (JEV) のEタンパク質ドメイン (D3) とCOMP-Zを化学融合させ、COMP-Z/D3を構築した。この三部構成複合体をマウスのJEV感染モデルで評価した結果、複合体による免疫は、D3の単独投与と比較し、致死性のJEV感染に対し、有意に高い感染防御能を示した。次に、D3, COMP, Zの三部全てを遺伝子融合法によって連結させ、D3-COMP-ZあるいはZ-COMP-D3を発現する組換え大腸菌を作出した。これらの組換えタンパク質は、主に不溶性凝集体として大腸菌の封入体画分に発現したが、8 M尿素でタンパク質を変性後、透析法を用いて巻き戻すことで、Eタンパク質の抗原性と免疫グロブリン結合能を回復することができた。さらに、巻き戻した複合体が5量体を形成していることも確認した。全遺伝子融合法で構築した三部構成複合体は、先に化学融合法で構築した複合体と比較し、何ら遜色ないレベルのJEV感染防御能を有することが確認された。これらの結果は、三部構成複合体がマラリア感染症のモデルに対してだけでなく、ウイルス感染症に対しても有効なサブユニットワクチンとなりうる可能性を示していると考えている。本研究は生研センターイノベーション創出事業の支援によるものである。

P2-11 大腸菌発現日本脳炎ウイルス構造タンパク質および非構造タンパク質のウイルス感染防御能解析

山田 清太郎¹⁾, 田福 宣治²⁾, 只野 昌之³⁾, 新川 武¹⁾

¹⁾琉球大学 熱帯生物圏研究センター 分子感染防御学分野, ²⁾株式会社ジェクタス・イノベーターズ,

³⁾琉球大学大学院 医学研究科 感染制御医科学専攻

日本脳炎ウイルス (JEV) は、フラビウイルス科に属し、その他にもデングウイルスやウエストナイルウイルスなど医学上重要なウイルスを含み、その分布域も広いのが特徴である。今回我々はJEVをフラビウイルス科のモデルウイルスとして選択し、その構造タンパク質であるEタンパク質 (D1-3, D1-2, D3) および非構造タンパク質 (NS1) を大腸菌で発現、精製した。これらのタンパク質を用いてBALB/cマウスを経鼻免疫 (アジュバントにはコレラトキシン (CT) を使用) したところ、予想どおりEタンパク質で免疫したマウス血清にだけJEV中和抗体が誘導された。この免疫後のマウスにJEVを感染させた結果、D1-3, D1-2, D3の全ての投与群において完全な感染防御効果が認められたが、NS1投与群は80%の防御率を示した。次に、経鼻免疫したマウスから採取した頸部リンパ節由来のリンパ球から分泌される抗原特異的サイトカインを測定したところ、D1-3およびNS1においてJEV抗原特異的IL-2およびIL-17の反応が認められた。しかし、IFN- γ は検出されなかった。本研究結果により、大腸菌で発現、精製したJEVタンパク質の経鼻免疫がJEVの感染防御に有効であることが示され、それはTh17型の免疫であることが分かった。このように、マウスモデルの感染実験系では、粘膜免疫法がJEV感染防御に有効であることが示唆され、それは他のフラビウイルス感染に対しても有効である可能性を示唆する結果ではあるが、今回、CTを粘膜アジュバントとして用いたため、臨床応用へは新たなワクチンデリバリー分子が必要であると考えている。本研究は生研センターイノベーション創出事業の支援によるものである。

P2-12 日本脳炎ウイルス感染マウスにおける感染量とインターフェロン応答の解析

早坂 大輔, 青木 康太郎, Mya Myat Ngwe tun, 嶋田 聡, 森田 公一

長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野 リーディング大学院

【目的】 日本脳炎ウイルス (JEV) の病態解析にはマウスモデルが一般的に用いられているが、末梢感染後の致死率が感染量に相関しないことが知られる。そこで、我々はその機序を説明するために、感染初期におけるJEV感染

量に応じたI型インターフェロン応答に着目し解析を行った。【方法】129マウスに 10^6 , 10^4 , 10^2 , 10^0 pfuのJEV JaOArS982株を皮下感染させ、症状および生死を観察した。また、感染24, 48, 72時間後の脾臓におけるインターフェロン応答遺伝子発現量をリアルタイムRT-PCRにより、感染5, 9, 13日目の脳内ウイルス量をプラークアッセイにより測定した。さらに、IFNAR KO 129マウスに感染量をかえて皮下感染し、症状および生死を観察し、感染24, 48, 72時間後の脾臓および脳内ウイルス量を測定した【結果】 10^6 , 10^4 , 10^2 , 10^0 pfu感染129マウスの致死性は、それぞれ7.1, 43, 36, 21%となり致死率は感染量に依存しなかった。また、感染量とその後の脳内ウイルス量には相関がみられなかった。感染24, 48時間後の脾臓IRF3, IRF7, IRF9, PKRの発現量は 10^6 pfu感染で最も高く、感染量に応じた発現量の差がみられた。IFNAR KOマウスでは、感染2-5日でほぼすべての個体が死に至ったが、生存期間は 10^6 pfu感染で最も短く、感染量に応じた生存曲線の差がみられた。また、感染24, 48時間後の脾臓および脳内のウイルス量は感染量に応じて差がみられた。【考察】JEV感染マウスにおいて感染量に応じたインターフェロン応答がおこり、その後の体内でのウイルス増殖が相殺されるかたちで、感染量と致死性の相関性が限定されることが示唆された。これらの結果により、JEV感染後の発症、重症化の要因として感染ウイルス量の影響は限定的である可能性が示唆された。

P2-13 日本脳炎ウイルスのNS1' タンパク質は、鳥細胞でのウイルス産生を増殖させる NS1' protein expression facilitates production of Japanese encephalitis virus in avian cells and embryonated chicken eggs

高松 由基^{1,2)}, 岡本 健太¹⁾, Duc Tuan Dinh³⁾, Fuxun Yu¹⁾, 早坂 大輔¹⁾, 内田 玲麻^{1,2)}, 鍋島 武¹⁾, Corazon C Buerano^{1,4)}, 森田 公一¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野, ²⁾長崎大学 医歯薬学総合研究科,

³⁾ベトナム国立衛生疫学研究所, ⁴⁾長崎大学 熱帯医学研究所 分子疫学

Japanese encephalitis virus (JEV), which belongs to the genus *Flavivirus* of the family *Flaviviridae*, is a leading cause of meningo-encephalitis in Asian countries. The flavivirus non-structural protein 1 (NS1) plays a role in virus replication and in the elicitation of immune response. The NS1' protein found among the members of the JEV subgroup is an extended form of NS1 and is generated by a -1 ribosomal frameshift. This protein is known to be involved in viral pathogenicity, however, its specific function is still unknown. Here, we describe an investigation on the molecular function of NS1' protein through the production of JEV NS1' expressing and non-expressing clones and their infection in avian and mammalian cells. Efficient NS1' protein expression was observed in avian cells and was found to facilitate JEV production in both avian cultured cells and embryonated chicken eggs. NS1' protein was observed to co-localize with NS5 protein and resulted in enhanced JEV RNA replication in avian cells. These findings clearly indicate that NS1' enhances the production of JEV in avian cells and may facilitate the amplifying/maintenance role of birds in the virus transmission cycle in nature.

P2-14 日本脳炎発症に関わる宿主側因子の解析

山口 幸恵^{1,2)}, 林 昌宏¹⁾, 伊藤 (高山) 睦代¹⁾, 垣内 五月^{1,3)}, 田島 茂¹⁾, 高崎 智彦¹⁾, 倉根 一郎⁴⁾, 渡邊 治雄⁴⁾

¹⁾国立感染症研究所 ウイルス第1部, ²⁾東京大学大学院 医学系研究科 感染病態学,

³⁾東京大学大学院医学系研究科小児科学, ⁴⁾国立感染症研究所

【目的】 日本脳炎は蚊によって媒介される日本脳炎ウイルス（JEV）に感染することで引き起こされる中枢神経の疾患である。多くは不顕性感染で終わるが、脳炎を発症すると致死率が20-30%に達し、回復したとしても約半数の患者に神経学的後遺症が残る重篤な疾患である。しかし、詳しい日本脳炎の発症機構は不明のままである。そこで本研究では、日本脳炎の発症機構の解明を目的とし、マウスモデルを用いて日本脳炎発症に関わる宿主側因子の解析を行った。**【方法】** 高い病原性を持つJaTH160株と病原性が低いNakayama株をマウスに腹腔接種し、脳と血液のサンプリングを行い、マウス体内におけるウイルス動態と免疫応答を比較解析した。各サンプルのウイルス量、炎症性サイトカインを定量リアルタイムPCRによって測定し、株間で比較した。**【成績・考察】** ウイルスの脳内接種による感染実験の結果、2株の病原性はほぼ同程度だった。しかし、ウイルスの腹腔内接種による感染実験ではNakayama株の病原性はJaTH160株に比べて低く、ほとんどが発症しなかった。脳内におけるNakayama株のウイルス増殖もJaTH160株に比べて低く、炎症性サイトカインの遺伝子発現についても、Nakayama株を感染させた未発症マウス群においてはコントロール群と有意な差は認められなかった。これに対してNakayama株により発症したマウス群においてはウイルス増殖および炎症性サイトカインの遺伝子発現はJaTH160株により発症したマウス群と同等に高かった。しかしながら発症マウス群間においてIL-4の発現量に差が見られ、Nakayama株感染群はJaTH160株感染群に比べて低かった。現在、2株の感染比較実験および解析を行っている。今後の解析により、脳炎発症におけるIL-4の役割やIL-4以外に関与する宿主側因子の同定に繋がると期待される。

P2-15 Integrated Epidemiological and Remote Sensing Applications as An Early Warning System to Predict West Nile Virus in the Northern Great Plains, USA

Chuang Ting-Wu^{1,2,3)}, Lamsal Aashis³⁾, Liu Yi⁴⁾, Wimberly Michael³⁾

¹⁾Department of Parasitology, Taipei Medical University,

²⁾Center for International Tropical of Medicine, Taipei Medical University,

³⁾Geographic Information Science Center of Excellence, South Dakota State University,

⁴⁾Department of Electrical Engineering and Computer Science, South Dakota State University

The Northern Great Plains (NGP) has been a hotspot of West Nile virus (WNV) incidence since 2002. Mosquito ecology and the transmission of vector-borne disease and are influenced by multiple environmental factors, and climatic variability is one the most important drivers. An early warning system was established to integrate epidemiological and satellite remote sensing data forecast climatic risk factors for WNV epidemics in the NGP. This system automatically acquires and processes satellite remote sensing imagery from a variety of sources and generates output in customized formats for further analysis and mapping. The system produces a variety of environmental metrics including land surface temperature (LST) and the normalized difference vegetation index (NDVI) derived from Moderate-Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) products. We also used these inputs to model actual evapotranspiration (ETa) with the simplified surface energy balance method. These environmental metrics are sensitive to seasonal and interannual fluctuations in temperature and precipitation, and are hypothesized to influence mosquito population dynamics and WNV amplification. Non-linear generalized additive models (GAMs) were used to evaluate the influences of environmental conditions on interannual variations of WNV incidence from 2004-2010. The best-fitting model incorporated the early onset of spring and late spring/summer of accumulated moisture and temperature, highlighting the influences of climatic variability on WNV amplification and transmission to humans. Our system provides tools and products to facilitate the acquisition and analysis of remote sensing data for epidemiological research and enhance the efficiency of disease surveillance and prevention.

P2-16 フィリピンにおけるチクングニヤウイルスの遺伝子解析

齊藤 麻理子^{1,2)}, Sy Ava Kristy³⁾, Medado Inez Andrea^{2,3)}, Mercado Edelwisa³⁾, Tandoc Amado³⁾,
Lupisan Socorro³⁾, 押谷 仁^{1,2)}

¹⁾東北大学 大学院医学系研究科 微生物学分野,

²⁾東北大学-RITM 新興・再興感染症共同研究センター, ³⁾フィリピン熱帯医学研究所

【背景・目的】 チクングニヤ熱は、ネッタイシマカ、ヒトスジシマカによって媒介されるチクングニヤウイルス (CHIKV) によって惹起される急性熱性疾患である。デング熱と同じ種類の蚊によって媒介されるため両疾患の流行地域はほぼ重なっていること、また臨床症状も類似していることから臨床現場で両者の鑑別を行うことは困難である。近年、東南アジア諸国ではCHIKVのECSA genotypeの流行が報告されているが、フィリピンにおける流行株については1980年代のAsian genotypeの報告以来ほとんど情報が無い。

2011年以降、フィリピン各地においてチクングニヤ熱の流行が急増しており、フィリピンへの渡航者が帰国後本疾患を発症した例も報告されている。本研究ではフィリピンにおける近年のCHIKV流行株について遺伝子解析を行うことを目的とした。

【方法】 フィリピン国立熱帯医学研究所 (RITM) にて収集されたチクングニヤ熱を疑う症例の血清について、RT-PCRにてCHIKV (E1遺伝子) の検出を試みた。さらにシーケンスにて257 ntのE1遺伝子の配列を決定し、Neighbor-Joining法による系統樹解析を行った。

【結果】 2011-2012年に収集された血清のうち、14 検体のCHIKVのE1遺伝子配列を決定した。収集地域の内訳は、ルソン地域が6検体、ビサヤ地域が1検体、ミンダナオ地域が7検体であった。14検体はいずれもAsian genotypeの同一クラスターに属しており、インドネシア由来の株と高い相同性を示していた。また北部ミンダナオから収集された3株は他のフィリピン株から分岐してクラスターを形成していた。

【考察】 フィリピンで流行しているCHIKVはインドネシア株と相同性が高いことから、両国間におけるCHIKVの伝播が推察された。今後、さらなる検体を用いてフィリピン国内株の解析を進めてゆく。

P2-17 ミャンマーにおいて新たに確認されたアフリカ型チクングニヤウイルスについて Emergence of Chikungunya virus African genotype in Myanmar

Mya Myat Ngwe Tun¹⁾, Kyaw Zin Thant²⁾, 井上 真吾¹⁾, 鍋島 武¹⁾, 青木 康太郎¹⁾, Aung Kyaw Kyaw^{1,2)},
Tin Myint³⁾, Thi Tar³⁾, 早坂 大輔¹⁾, 森田 公一¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野,

²⁾Virology Research Division, Dept of Medical Research (Upper Myanmar), Pyin Oo Lwin, Myanmar,

³⁾Dept of Child Health, Mandalay Children's Hospital, Mandalay, Myanmar

Background: Chikungunya fever was first reported in Myanmar in 1973 and later in 1984; may be due to its similarity with dengue disease. The purpose of this study was to elucidate the presence of chikungunya virus (CHIKV) infection among dengue suspected patients using serological test and virus isolation.

Patients and Methods: Between July and October in 2010, 116 serum samples were collected from dengue suspected patients (≤12 years old) admitted to Mandalay Children Hospital in Mandalay, Myanmar. To determine CHIKV antibody responses from patients, IgM capture ELISA was performed. For CHIKV isolation, 107 acute phase serum samples were inoculated onto C6/36 mosquito cells and virus genome was confirmed by RT-PCR. Sequence data of the envelope gene one (E1) of virus isolates were compared with 30 CHIKV strains available from GenBank.

Results and Discussion:Thirteen (11.2 %) patients were found to be IgM positive for CHIKV indicating the presence of chikungunya fever in Mandalay region. CHIKV isolation was successfully done and four isolates were analyzed for E1 gene. All four isolates showed the E1-A226V substitution which is unique among the East, Central and South African (ECSA) genotype but not among the Asian genotype. This suggests that the ECSA genotype has emerged in Myanmar between 2005 and 2010. The ECSA genotype strains have been reported in China, Thailand and Malaysia. All the four Myanmar strains were genetically very close (99-100% matched) to the strains isolated from these countries. Therefore, the recent CHIKV circulating in Myanmar seems to be introduced from these neighboring countries.

**P2-18 インドネシア国スラバヤ市の私立透析室患者におけるB及びC型肝炎ウイルス感染
Patterns in the prevalence of hepatitis B and C virus infections among hemodialysis patients
from four private hemodialysis units in Surabaya, Indonesia**

内海 孝子^{1,2)}, Lusida Maria I¹⁾, 矢野 嘉彦²⁾, Wahyuni Rury M¹⁾, Istimagfiroh Anittagwa¹⁾, Rinonce Hanggoro T²⁾, Amin Mochamad¹⁾, Juniastuti¹⁾, Pranawa Aditiawardana³⁾, Artaria Tjempakasari³⁾, Soetjipto¹⁾, 堀田 博²⁾, 林 祥剛²⁾

¹⁾Indonesia-Japan Collaborative Research Center for Emerging and Re-emerging Infectious Diseases, Institute of Tropical Disease, Airlangga University, Surabaya, Indonesia,

²⁾神戸大学大学院 医学研究科附属感染症センター ,

³⁾ Dr. Soetomo Hospital, Faculty of Medicine, Airlangga University, Surabaya, Indonesia.

High prevalence of hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) has been reported among hemodialysis (HD) patients in governmental hospitals in Indonesia. It is common that the prevalence is different among the various HD units (HDUs) even in almost every country. Hence, we performed seroepidemiological and molecular epidemiological analyses of HBV and HCV to investigate the seroprevalence and associated risk factors among HD patients in private HDUs. Sera were obtained from HD patients in four different private HDUs (A-D) in Surabaya city during 2002-2003, and tested for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to HCV (anti-HCV). Structured questionnaires were used to observe the status of precaution in each HD unit. Of the four private HDUs, HBsAg and anti-HCV were detected 8.1% (5/62) and 24.2% (15/62) in HDU B, 0% (0/35) and 25.7% (9/35) in HDU C and 1.4% (1/71) and 60.6% (43/71) in HDU D, respectively. Nobody was infected with HBV and HCV among 12 patients in HDU A. The major HCV subgenotypes in HDU B and HDU D were HCV/1b (100%) and HCV/1a (92.9%), respectively, suggesting nosocomial transmission. Inappropriate practices were observed such as high patient/staff ratio, uncertain dialyzer maintenance in the case of reuse and malfunction of the infection control committees. In conclusion, the prevalence of HBV and HCV infection among HD patients in private HDUs in Surabaya was relatively high. Staff education for precaution in HDUs is absolutely necessary to decrease the prevalence of HBV and HCV infection among HD patients.

P2-19 デングウイルスプロテアーゼ阻害剤スクリーニングのための生化学アッセイを最適化する試み

Optimization of Dengue Virus protease biochemical assay for inhibitor screening

Ulanday Gianne^{1,2)}, 岡本 健太¹⁾, 森田 公一¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野, ²⁾長崎大学 医歯薬学総合研究科

Background Dengue is one of the most significant vector-borne illness in the world. The DENV protease is important to viral replication and as such, has been identified as target for antivirals. However, there is no optimal in vitro DENV protease assay which represents in vivo protease activity. Therefore, it is the aim of this research to optimize an assay that would fit the need and later on develop a candidate inhibitor drug against Dengue. Materials and Methods Recombinant DENV-2 protease was produced via Escherichia coli expression system. Immobilized Metal Ion Affinity Chromatography was utilized to obtain the purity sufficient for the assay. Confirmation of the protein using SDS-PAGE and Western Blotting were done. Identification of fluorogenic substrate involved selection of five amino-methylcoumarin-based peptides. Tetrapeptides; Ac-nKRR-MCA, Bz-nKRR-MCA, Pyr-RTKR-MCA and tripeptides; Boc-LRR-MCA, Boc-GRR-MCA were chosen. All contained Arginine in at least one position at a non-prime site. The reaction mixture consists of a fixed amount of NS2B3pro and different concentrations of substrate. An inhibitor, Aprotinin, was also assayed to determine the amount needed to inhibit cleavage. The reactions were observed on a 96-well plate and read via fluorometer. Results and Conclusion Among the five fluorogenic substrates, tetrapeptides; Ac-nKRR-MCA and Bz-nKRR-MCA produced similar high fluorescence values, respectively, 2.5 and 2.2 times higher than fluorescence obtained with Boc-GRR-MCA, a more common DENV substrate. On the other hand, Aprotinin, successfully inhibited substrate cleavage at 50uM with no statistical difference compared to blank. The promising results provided useful information in developing a DENV protease biochemical assay.

P2-20 分子動力学シミュレーションで探る阻害剤結合によって誘起されるdengue virusプロテアーゼの特徴的な構造

千葉 峻太郎¹⁾, 萩原 陽介²⁾, 大野 一樹²⁾, 折田 正弥²⁾, 関嶋 政和³⁾

¹⁾東京工業大学 情報生命博士教育院, ²⁾アステラス製薬株式会社 研究本部化学研究所,

³⁾東京工業大学 学術国際情報センター

dengue virus (DENV) は、熱帯・亜熱帯地域の住民に深刻な健康被害をもたらしているデング熱などの疾患の原因となる蚊媒介性のウイルスである。これらの疾患の予防法・治療法の必要性は明白であるが、認可されたDENVに有効なワクチン・治療薬はいまだに存在しない。本研究では、抗DENV薬開発のための標的蛋白質としてウイルスの複製に必須であるウイルスプロテアーゼ (NS2B/NS3プロテアーゼ領域) に注目し、その分子論的知見を得るために、分子の運動を原子レベルで再現できる計算手法である分子動力学シミュレーションを実施した。シミュレーションの初期構造には、近年報告されたプロテアーゼとペプチド様阻害剤の複合体のX線結晶構造を用いた。長時間のシミュレーションによって得られた多数の構造を、クラスタリングアルゴリズムによって分類することで、結晶構造では見られなかった構造の存在が示唆された。この構造は、NS3蛋白質の活性部位付近に存在するNS2B蛋白質のヘアピンが、結晶構造と比較してより開いた「特徴的な構造」であった。このヘアピンのループ部分は、そのアミノ酸配列がDENVの四つの血清型にわたって保存性が高いことから、酵素の機能に関する何らかの役割を担っていると予測される。また、複合体構造から阻害剤を取り除いた構造を用いてシミュレーションを実施し、クラスタリングによって得られた構造に対して、「特徴的な構造」を比較することで、

この構造が阻害剤結合状態に特有であること、すなわち阻害剤の結合によって誘起される構造であることが示唆された。シミュレーションとクラスタリングにより存在が示唆されたこの構造は、インシリコスクリーニングを含め、構造情報に基づく薬剤設計のために、重要な知見を与えることが期待される。

P2-21 FMO法を用いた抗dengue virus薬の創薬標的蛋白質と既知化合物間の相互作用解析

吉野 龍ノ介¹⁾, 安尾 信明²⁾, 千葉 峻太郎³⁾, 萩原 陽介⁴⁾, 大野 一樹⁴⁾, 折田 正弥⁴⁾, 関嶋 政和^{1,2,3)}
¹⁾東京工業大学 学術国際情報センター, ²⁾東京工業大学 情報工学科,
³⁾東京工業大学 情報生命博士教育院, ⁴⁾アステラス製薬株式会社 研究本部化学研究所

dengue virus (DENV) のRNAから翻訳される蛋白質のうち、NS3領域から翻訳されるproteaseや、NS5領域から翻訳されるmethyltransferase (MTase), RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) はウイルスの複製に重要な役割を担っており、DENVに対する創薬研究の有力な標的として知られている。既にこれらの蛋白質に対する阻害剤の研究が精力的に行われており、proteaseではセリン残基と共有結合を形成するペプチド様阻害剤、MTaseではメチル基供与体であるS-adenosyl-methionine (SAM) の誘導体、RdRpでも阻害剤が報告されている。また、X線構造解析によってこれらの阻害剤と標的蛋白質の複合体構造も明らかにされている。しかしながら、阻害機構を解明するうえで重要である阻害剤と蛋白質間の詳細な相互作用エネルギーは解析されていない。本研究では、既知阻害剤と標的蛋白質のアミノ酸残基間の相互作用エネルギーをFragment分子軌道法 (FMO法) を用いて解析した。FMO法は蛋白質をFragmentに分割し、Fragmentごとに分子軌道計算を行う量子化学計算の手法の一つであり、薬理活性化合物とアミノ酸残基間の相互作用エネルギーを定量的に求められる。結果として、proteaseではアスパラギン酸残基との水素結合、MTaseではアスパラギン酸残基との水素結合、RdRpではフェニルアラニン残基との疎水性相互作用が結合に重要であることが明らかになった。これらの知見は今後の抗DENV薬の分子設計に活用されるものと期待される。

P2-22 Development of monoclonal antibody against yellow fever virus

Ferdinard Adungo, 余 福勲, 森田 公一

Department of Virology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University

Introduction Yellow fever is a lethal viral haemorrhagic disease occurring in Africa and South America. Approximately 200, 000 cases and 30, 000 deaths occur annually in Africa with recent outbreaks reported in 2011 and 2013 in Uganda and Sudan, respectively. Although yellow fever is vaccine preventable, it is an important emerging or re-emerging disease. The objective of this study was to develop monoclonal antibody against yellow fever virus (YFV) and evaluate its use in serological diagnosis of YFV. Materials and Methods BALB/c mice were immunized with purified YFV (17D) mixed with equal volume of Freund' s complete adjuvant at a dose of 100 μ g per intraperitoneal injection. Two boosters of same antigen doses mixed with Freund' s incomplete adjuvant were injected at 2-week intervals. Spleen cells and SP2/0 myeloma cells were fused by polyethylene glycol (PEG-1500). Hybridoma screening was done by indirect ELISA assay. Results and Discussion Out of six clones selected, one designated as MAb 3F4 reacted with YFV (17D) infected C6/36 cells by immunofluorescence assay. Additionally, it distinguished YFV-infected cells from those infected with Japanese encephalitis virus, and dengue 1 virus. Monoclonal antibody-based antigen detection assay and IgM capture ELISA for YFV were established, indicating

that MAb 3F4 could be used for both detection and functional analysis of YFV. Our results showed that MAb 3F4 could be used in developing highly specific diagnostic assays for YFV infection.

P2-23 一粒子蛍光分析を応用した新しいウイルス検出機器の開発

長谷川 慎¹⁾, 森 康介¹⁾, 和田 昭裕²⁾, 武居 修³⁾

¹⁾長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部 バイオサイエンス学科, ²⁾長崎大学 熱帯医学研究所,

³⁾株式会社ライフテック

蛍光相関分光法 (FCS) は, 蛍光標識分子の溶液内挙動を分子レベルで観察できることから, タンパク質などの生体分子間相互作用解析に利用されている。FCSは, レーザー共焦点光学系により絞り込まれた観察領域を通過する標識分子の蛍光強度ゆらぎを測定し, その自己相関解析により 1 分子の拡散速度, ひいては1分子の形や分子量変化を測定する分析法である。われわれはこの原理を基礎としてウイルスなどの病原性粒子を検出する新しい分析機器を開発している。

われわれが試作した「ウイルス蛍光一粒子検出装置」は, ウイルスなどの病原因子をサブミクロンサイズの粒子と捉えて計数する点に特長がある。溶液中のウイルス粒子は溶液中の移動速度が遅いため, 蛍光標識抗体との反応によりレーザー共焦点光学系での測定において特有の蛍光強度変動を示す。この変動幅はきわめて大きいため, 高感度検出が可能である。また, 励起光を当てるだけで溶液中の病原体が検出でき, 濃縮や分離操作が不要で迅速・簡便なホモジニアスアッセイを実現できる。本発表では, 開発技術のインフルエンザウイルス検出などへの適用事例を報告する。今後の改良により, 様々な病原体に適用範囲を拡げ, 感度や迅速性の利点を生かし, 熱帯医学研究で求められるフィールドでの感染源の同定を可能とする分析技術へと発展させたい。

P2-24 中国上海市における市中気道感染症由来インフルエンザ菌の薬剤感受性及び水平伝播についての研究

秦 亮¹⁾, 山本 太郎²⁾, 渡邊 浩¹⁾

¹⁾久留米大学 医学部 感染医学講座 臨床感染医学部門, ²⁾長崎大学 熱帯医学研究所

【背景】 インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) は市中肺炎, 中耳炎及び髄膜炎などを引き起こす主要な病原菌であり, 近年, 薬剤耐性菌の増加や感染症の難治化が临床上問題となっている。しかし, 中国では本菌の薬剤感受性や伝播状況など十分に判明していないのが現実である。我々は上海復旦大学附属中山医院と共同研究を実施し, 市中気道感染症由来の *H. influenzae* を対象し, 薬剤耐性及び水平伝播状況を明らかにするため, 以下の検討を行った。**【方法】** 気道感染症患者の咽頭拭液, 喀痰や血液など検体を用いて, 病原菌の分離・同定を行う。分離された *H. influenzae* について, 血清型同定, 最小発育阻止濃度 (MIC), 耐性遺伝子の同定及びパルスフィールド電気泳動法 (PFGE) を用いて, 菌株の水平伝播などについての検討を行った。**【結果と考察】** 2008年12月から2009年4月までに, 上海における11か施設において, 37名患者 (男: 18名, 女: 19名; 平均年齢: 55.4歳) から37株の *H. influenzae* が分離された。また, 6名の患者は基礎疾患を有していた。BLNAS (β -lactamase-nonproducing ampicillin-sensitive *H. influenzae*) は16株 (43.24%), BLPAR (β -lactamase-producing ampicillin-resistant *H. influenzae*) (TEM-1) は10株 (27.03%), Low-BLNAR (β -lactamase-nonproducing ampicillin-resistant *H. influenzae*) は11株 (29.73%) であったが, BLNAR 株は分離されなかった。計3種類の血清型が同定され, その内, 2株は serotype b 株であった。また, 23種類の PFGE pattern が検出さ, pattern A は優位であり, BLPAR 株の8割にも占めていた。上

記の結果により、多数のインフルエンザ菌クローンが上海市中に伝播していることが示唆された。(会員外共同研究者) 周昭彦, 胡必杰

P2-25 BCGワクチン接種が原因と思われる骨髄炎の幼児例

戸田 彩季¹⁾, 瀬戸 俊之¹⁾, 時政 定雄¹⁾, 新宅 治夫¹⁾, 松本 壮吉²⁾

¹⁾大阪市立大学 大学院 医学研究科 発達小児医学,

²⁾大阪市立大学 大学院 医学研究科 細菌学分野

【はじめに】我が国では結核予防のために永らくBCGの定期接種が行われてきたが、一方で合併症も散見されている。今回、BCG接種が原因と考えられた骨髄炎の幼児症例を経験したので報告する。**【症例】**1歳3か月女児。主訴は右胸壁のしこり。生後4か月時にBCG接種を受けた。結核に関する家族歴や既往歴はない。7か月時に手足口病, 11か月時に突発性発疹に罹患した。1歳1か月時, 母が児の右胸壁のしこりに気づき, 近医受診。経胸壁超音波検査で右第4肋骨の鎖骨中線下に25mm×13mm×27mmの低エコー領域を認めた。胸部単純CT検査を追加したところ, 右第4肋骨の融解像を伴う腫瘤を認めた。悪性疾患を疑われ当科紹介受診となった。腫瘤の生検で, 腫瘤内内に白濁した粘稠性の液体を認めた。病理所見にてチール・ニールセン染色陽性の類上皮肉芽腫を認めたことから, 結核感染症が疑われた。髄液検査, 胃液培養検査を施行したが結核菌はいずれも陰性であった。生検組織の遺伝子検査よりBCGワクチン株が検出されたためBCG骨髄炎と診断し, 治療としてINH10mg / kg / day, RFP15mg / kg / day内服による2剤治療を開始した。腫瘤は縮小し, 治療開始12か月で抗結核薬を中止した。**【まとめ】**BCG接種の副反応については本例に認められたような骨髄炎(骨炎)の他に, 腋窩リンパ節腫大, 皮膚結核様病変などが報告されている。特に最近の傾向として骨髄炎(骨炎)の報告が増加している。この理由として接種時期の問題も考えられたため, 2013年4月よりBCG接種の推奨期間が生後3か月から6か月までではなく, 生後5か月から8か月に変更となっている。本症例も生後4か月時のBCG接種が発症の一因であると想像されるが, BCG感染症の発症の機序として, IL-12 / IFN- γ 経路の異常も報告されており本症例も検索中である。

P2-26 ケニア共和国Mbita地区の児童における結核菌感染と鉤虫感染の関連

井上 学¹⁾, 岡 真優子²⁾, 仁木 満美子¹⁾, 尾関 百合子^{1,3)}, 一ノ瀬 休生⁴⁾, 濱野 真二郎⁵⁾, 松本 壮吉¹⁾

¹⁾大阪市立大学大学院 医学部医学研究科 細菌学,

²⁾京都府立大学大学院 生活環境科学 食環境安全性学, ³⁾園田学園女子 人健 食栄,

⁴⁾長崎大学 熱研 ナイロビ研究拠点, ⁵⁾長崎大学 熱帯医学研究所 寄生虫学分野

結核は人類に重篤な健康被害を与える三大感染症の一つである。2010年においては880万人の新規患者が発生し, 140万人が死亡している。感染成立後, 大多数の感染者(95%)は発症せず, 無症候感染者が成立するが, その5~10%が内因性再燃によってその後に結核を発症する。それゆえに無症候の結核菌感染(latent tuberculosis infection; LTBI)は, 病原体の主要なリザーバーであり, LTBIをコントロールすることが結核対策上極めて重要である。一方, 結核の流行地域においては寄生虫の感染率が高いことから, これが結核の蔓延に影響を与える可能性が考えられる。しかしながらLTBIと寄生虫感染の関連性はこれまで殆ど報告がない。そこで本研究では, LTBIのリスク要因の特定を目的として, 結核と寄生虫感染の蔓延地域において, LTBIと寄生虫感染の関連性を検討した。ケニア共和国のビクトリア湖畔に位置するMbita地区において無作為に7小学校を選定し, その240名の生徒を対象とし, 潜在性結核と寄生虫感染の検出を行った。潜在性結核菌感染者の検出には血液サンプルを用い

た結核菌抗原刺激によるT細胞応答試験, 寄生虫感染の検出には血液サンプル, 糞鞭サンプルを用い, 顕微鏡下で行った。調査の対象とした240名の生徒中, LTBIが75名(31.3%)検出され, これら75名はAscaris lumbricoidesに2名(2.7%), hookwormに10名(13.3%), Schistosoma mansoniに52名(69.3%), Trichuris trichiuraに2名(2.7%), Plasmodium falciparumに6名(8.0%), Plasmodium vivaxに0名, Balantidiumに3名(4.0%), Blastocystisに1名(1.3%), Coccidiaに4名(5.3%), EH/ED/EMに10名(13.3%), Giardiaに2名(2.7%), Iodamoebaに0名, Entamoeba coliに6名(8.0%)に感染していた。またこれらの結果を用いて統計解析を行ったところ, 潜在性結核菌感染とhookwormとの間に有意な相関が確認された。(p=0.021)

P2-27 潜在性結核のバイオマーカーとしての抗Antigen85およびMycobacteri DNA-binding protein 1抗体

岡 真優子¹⁾, 立石 善隆^{2,3)}, 平山 幸雄³⁾, 尾関 百合子^{3,4)}, 前倉 亮次²⁾, 小林 和夫⁵⁾, 松本 壮吉³⁾

¹⁾京都府立大学 大学院 生命環境科学研究科, ²⁾国立病院機構 刀根山病院,

³⁾大阪市立大学 大学院 医学研究科, ⁴⁾園田学園女子大学, ⁵⁾国立感染症研究所 免疫部

【目的】世界保健機構の報告によれば, 新規(活動性)結核患者は, 年間900万人を超えており, さらに年間約180万人が死亡するなど, 結核は最大級の細菌感染症である。2008年における結核患者の発生率は, アジア(55%)とアフリカ(30%)の発展途上国で世界の大半を占めており, ヨーロッパやアメリカでは全体のわずか3~5%である。国内での結核患者数は, 年々減少しているが, 先進国では未だ高い罹患率を保っており, 特に65歳以上の罹患率が約70%を占める状況にある。高齢者の結核発症は, 休眠期結核菌が感染する潜在性結核の内因性再燃によるところが大きく, さらに人類の3分の1が潜在性結核と言われている。そこで, 潜在性結核に対処することが, 疾患のコントロールに不可欠である。それには, まず潜在性結核を正確に把握する必要があるが, 現在の臨床診断法は潜在性結核を十分に評価できない。そこで我々は, 休眠期結核菌に多く発現する抗原に着目してELISAを用いた診断抗原の探索を行った。

【実験方法・結果】23種類の組み換え結核菌蛋白質を作成し精製した。健常者(HC)の血清を対照とし, 結核治療歴のある患者(past TB)ならびに活動性結核患者(active TB)の血清を用いて評価を行なった。その結果, past TB群におけるAntigen85およびMycobacterium DNA binding-protein1(MDP1)に対する抗体は, HC群ならびにactive TB群と比べ高い抗体価を有することが分かった。また, 結核患者の肺肉芽腫の免疫組織染色を行ったところ, 肉芽腫内に存在する結核菌の局在とMDP1の発現が一致した。

【結論】本結果は, 結核菌が実際にAntigen85およびMDP1を潜在期に発現していることを示し, これらの抗原を組み合わせることで潜在性結核の診断が可能であることを示唆している。

P2-28 ベトナムにおける健康児と急性呼吸器感染症児の肺炎球菌定着および抗生剤耐性パターン

Serotype and drug resistant pattern of Streptococcal pneumoniae among acuterespiratory infection and healthy children in central Vietnam

Nguyen Hien Anh¹⁾, Vu Thi Huong¹⁾, 渡辺貴和雄²⁾, 有吉紅也²⁾, 吉田レイミント³⁾, Dang Duc Anh¹⁾

¹⁾国立衛生疫学研究所, ハノイ, ベトナム, ²⁾長崎大学熱帯医学研究所臨床感染症分野,

³⁾長崎大学熱帯医学研究所小児感染症分野

Background: Nasopharyngeal colonization of Streptococcal pneumoniae plays an important role in development of invasive pneumococcal disease (IPD). Information on Streptococcus pneumoniae serotype distribution and drug resistance pattern among hospitalized acute respiratory infection (ARI) and healthy children are important for appropriate pneumococcal vaccine introduction and clinical management of IPD in Vietnam. Methods: S. pneumoniae isolated from pediatric ARI cases admitted to Khanh Hoa General Hospital (KHGH) from January 2008 to December 2008, and healthy children from the community (January and July 2008, 350 each) were collected. Drug resistance (MIC) and serotype were determined by conventional and molecular assays. Information on potential risk factors for S.pneumoniae carriage were collected and analyzed. Results & Conclusion: S.pneumoniae isolates; 230 (38.85%) from 592 ARI children and 267 (38.14%) from 700 healthy children enrolled during the study period were studied. Carriage study among healthy children revealed that pneumococcal carriage in general or by resistance to penicillin or multidrug-resistant was independently associated with cool-wet season and day-care center attendance ($p < 0.0001$). High rate of β -lactams and quinolone resistance strains were detected. Majority (80%) of S.pneumoniae had high level resistance to macrolides and 32.9% had multidrug-resistant. Strikingly S. pneumoniae isolates from 28% of ARI and 22% of healthy children had a high level of Meropenem resistance. Majority of serotypes from ARI (70%) and healthy children (60-65%) were covered by current available pneumococcal conjugate vaccine (PCV). The study findings will be valuable for clinical management and future PCV introduction in Vietnam.

P2-29 中部ベトナム, ニャーチャンにおけるインフルエンザ菌タイプb予防接種導入後の小児肺炎の縮小

Early indication for a reduced burden of childhood pneumonia following Haemophilus influenzae type b vaccination in Nha Trang, central Vietnam

Laymyint Yoshida¹, Flasche Stefan², 高橋 健介³, Edmunds John², Mulholland Kim²,
Nguyen Hien Anh⁴, 渡辺 貴和雄³, 橋爪 真弘¹, Dang Duc Anh⁴, 有吉 紅也³

¹長崎大学 熱帯医学研究所 小児感染症学分野, ²ロンドン熱帯医学衛生学校, ロンドン, イギリス,

³長崎大学熱帯医学研究所 臨床感染症分野, ⁴国立衛生疫学研究所, ハノイ, ベトナム

Background: Haemophilus influenzae type b (Hib) vaccines have proven to reduce Hib meningitis. However its effectiveness on pneumonia is still controversial. In Vietnam, Hib vaccine was introduced into childhood immunisation programme from June 2010. Method: The effective of Hib vaccine introduction was assessed by conducting community-based pre and post-Hib carriage studies in June 2010 and June 2012, and an ongoing hospital-based pneumonia surveillance study conducted since February 2007 in Nha Trang, Vietnam. To measure the impact of Hib vaccine on pneumonia, we established mathematical models for radiologically confirmed pneumonia (RCP) and clinical pneumonia (CP) cases by adjusting the influence of respiratory viruses and other factors. The models were fitted and evaluated by accumulated log-likelihood for each variant. Result: Hib vaccine reduced the Hib carriage from 3% to 1%. Data from 3776 Paediatric acute respiratory infection (ARI) cases including 640 RCP and 716 CP cases less than 5 years of age were applied for the modelling. Clinical and virological data analysis revealed that influenza A increased RCP on average by 22.7% (10.6 – 37.0), influenza B by 4.1% (-2.9-12.6) and rhinovirus by 16.7% (-2.0-39.8). Better model fitting was obtained in RCP than CP. Adjusting the viral associated RCP and overall decreasing trend showed a 36.6% (12.5 – 54.0) reduction of RCP after Hib vaccine introduction. Further adjustment including post viral bacteria RCP showed a 25.9% (8.9-38.3) decrease in overall RCP. Conclusion: Early indication for a reduced burden of childhood pneumonia following Haemophilus influenzae type b vaccination was observed in Nha Trang, central Vietnam.

P2-30 ハイチにおける結核診療の現況と、日本からの支援についての考察

角 泰人^{1,2,3)}, 源 不二彦⁴⁾, 吉田 美紀²⁾, 森 安義⁵⁾, 白須 紀子^{2,3)}, 山本 太郎¹⁾, 森 亨^{3,6)}

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 国際保健学分野, ²⁾NPO法人日本リザルツ,

³⁾ストップ結核パートナーシップ日本,

⁴⁾NGO CoCoRo / 東京大学大学院新領域創成科学研究科情報生命科学専攻バイオシステム科学講座,

⁵⁾栄研化学株式会社, ⁶⁾結核予防会結核研究所名誉所長

【目的】 米州圏の最貧国ハイチはカリブ海の島国であり、保健指標はどれも低く、結核もその1つである。ハイチにおける結核の現状とその診療状況について報告し、結核高蔓延国の状況を様々な努力で脱した経験を持つ日本として、結核診療部門で最もハイチに貢献できる領域は何かを考察する。**【方法】** 2013年4月～8月にハイチ・ポルトープランス市のグレース小児病院等で行われたJICAと栄研化学株式会社による結核診断技術研究の際に、同病院と周辺地域における結核診療について、見学または医師・職員に聞き取りをした内容を総括して報告し、併せて日本からの支援について考察を加える。**【結果と考察】** グレース小児病院はポルトープランス市の中心街の北東に位置し、米国に本拠を持つInternational Child CareというNGOが運営する病院である。名前は「小児病院」であるが、実際には成人患者の方が多く、特に、結核診療に関しては地域の中核を担っている。同院の診療は1回75グールド（日本円で200円弱）であり、他の医療機関と比べ格安なので、患者数は多い。病院の常勤医師12人のうち2人が結核担当医師で、来院時に長引く咳・喀痰のある患者は、結核診断部門に振り分けられる。喀痰塗抹検査は、毎日35例以上あり、多い日は100例を超える。喀痰塗抹検査を3回受けて2回以上抗酸菌陽性の場合、医師の診察と説明の上結核としての治療が開始される。毎日の服薬の確認は訪問DOTSによって行われ、地域ごとにDOTS担当者（必ずしも医療の有資格者ではない）がいて訪問業務に従事している。都市部ではこのように結核診療システムが整備され、実際に運用されているが、ハイチ人口全体としては、30%が結核の診断が不可能な地域に居住し、診断がつかないまま亡くなっている結核患者も多数いると推測される。日本ができる支援としては、全国的な結核の実態調査と、地域保健所レベルでの結核サーベイランス体制の確立があると考えられる。

P2-31 *Vibrio cholerae*のもつCRISPR/Casの解析

竹村 太地郎, 時沢 亜佐子, 山城 哲

長崎大学 熱帯医学研究所 ベトナム拠点

コレラ毒素遺伝子はファージ感染によって外部よりコレラ菌にもたらされたと考えられ、*Vibrio cholerae*の病原性獲得機序を解明する上でファージ感染との関係を明らかにすることは重要な意義を持つ。一方で、多くの原核生物がCRISPR (clustered regularly inter-spaced short palindromic repeats) /Cas (CRISPR associated proteins) と呼ばれる、ファージやプラスミド等の外来遺伝子に対する獲得免疫を持つことが報告された。CRISPR/Casは多くの古細菌や細菌がもつことが知られており、*V. cholerae*でもO1, classical biotypeのO395株のCRISPR / Casが解析されている。しかし、その他の*V. cholerae*株におけるCRISPR/Casの有無、ならびにそれらの標的とする外来遺伝因子に対する解析はなされておらず、本研究では*V. cholerae*のCRISPR/Cas領域の解析を行った。Web上に公開されているデータベース (PATRIC ; <http://www.patricbrc.org/>) より約70株の*V. cholerae*のゲノム配列をCRISPR finder (<http://crispr.u-psud.fr/>) ならびに GENETYX-Mac (GENETYX corp)を用いて解析した。その結果、14株においてCRISPR様の配列が見出され、反復領域の配列からそれらは異なる2つのグループ (CRISPR_Aと_B) に分けられた。教室保存株 (1946年-1992年分離) を用いてPCRにて、CRISPR_Aの有無を検討したところ、O1, classical株では92% (11/12)がCRISPR_Aを保有していたのに対し、O1, El tor株では7.1% (2/28) , O139株では0% (0/12)と低い保有率であった。また、データベースからの解析では、CRISPR_BはO1/O139以外の*V. cholerae*株

に多く見出された。以上の結果は*V. cholera*がO抗原型、もしくはbiotypeにより異なる起源をもつ複数のCRISPR/Casシステムを持つことを示唆している。今後CRISPR_Bの解析を進め、*V. cholerae*の病原性獲得機序の解明を進めていく。

P2-32 インドネシアにおける腸炎ビブリオ感染症の発生とその地域間比較

中口 義次¹⁾, Abdul Aziz Djamal²⁾, Harry Fajtri Zisoni³⁾, 清水 理香⁴⁾, 勢戸 和子⁵⁾, 西瀨 光昭¹⁾
¹⁾京都大学 東南アジア研究所, ²⁾アンダラス大学 医学部, ³⁾Batu Aji Health Center,
⁴⁾京都大学大学院 医学研究科, ⁵⁾大阪府公衆衛生研究所

【目的】 現在でも下痢症は世界で年間50億人の患者が発生しており、その多くは衛生環境の整備が遅れている発展途上国で発生している。東南アジアの国々の多くが発展途上国であり、熱帯域に属し年中高温多湿な気候下にある。赤道直下に位置するインドネシアは2万を数える島々で構成され、世界第4位の人口を抱え、480を超える民族で構成される多民族国家でもあり、世界最大のイスラム教国家である。この国では現在、経済発展等の影響から食習慣に変化がみられ、健康志向の高まりから魚介類の消費が増えているが、魚介類媒介性の腸炎ビブリオ感染症の発生状況は把握されていない。このような状況から我々はこの国における本感染症の発生状況とその発生要因についてフィールド調査を実施した。

【方法】 インドネシアの2つの対照的な地域（都市部のバタムと地方都市のパダン）において、市中病院と保健所で下痢症患者から糞便サンプルを集め、腸炎ビブリオ分離選択培地を使用して、腸炎ビブリオ感染症の発生を調べた。分離株は病原性の有無を確認した後、血清型別を実施した。次に魚介類の消費に関して現地調査を実施し、この感染症発生における社会科学的要因についても検討した。

【結果と考察】 パダンの患者（244名）からは腸炎ビブリオ感染症の発生を確認できなかった。一方、バタムの患者（291名）からはその発生（1名のみ）が確認され、その患者は市中病院を訪れた12名の患者のうちの1名で、中華系の仏教徒（女性）であった。その患者に対する聞き取り調査から、加熱不十分の貝料理を食べていたことが分かった。インドネシア国内では地域により魚介類を食べる食習慣は異なり、さらに近隣諸国や多民族の影響を受けて魚介類媒介感染症の発生する要因は様々であることが分かった。またこの分離株は、*tdh*遺伝子陽性、*trh*遺伝子陰性、GS-PCR陽性の世界的な大流行株の特徴を示し、血清型はO1:K36であった。

P2-33 Risk Factors and Spatial Distribution of *Schistosoma mansoni* Infection among Primary School Children in Western Kenya

Sachiyo Nagi¹⁾, Chadeka Evans¹⁾, 砂原 俊彦²⁾, Chaves Luis Fernando²⁾, Justin Yombo K. Dan¹⁾,
 金子 聡⁴⁾, 一瀬 休生⁵⁾, 松本 壮吉⁶⁾, 嶋田 雅暁⁵⁾, 濱野 真二郎^{1,5)}

¹⁾ Department of Parasitology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ 長崎大学 熱帯医学研究所 病害動物学分野, ³⁾ ESACIPAC, KEMRI, Nairobi, Kenya,

⁴⁾ 長崎大学 熱帯医学研究所 生態疫学分野, ⁵⁾ 長崎大学ケニア拠点, ⁶⁾ 大阪市立大学 細菌学分野

The small scale heterogeneity is a typical epidemiological feature of schistosomiasis. Identification of area specific risk factors is crucial for effective design and implementation for the control of schistosomiasis. To evaluate current status of *Schistosoma mansoni* infection in Mbita district, the shore of Lake Victoria, western Kenya, we performed a cross-sectional study enrolling 310 primary schoolchildren from 8 schools. A total of 238 (76.8%)

children were infected with *S. mansoni*, while 7 (2.3%) were infected with *S. haematobium*. The prevalence of *Plasmodium falciparum*, hookworm, *Trichuris trichiura* and *Ascaris lumbricoides* were 12.0%, 6.1%, 5.2% and 2.3%, respectively. Approximately, 80% of the children were infected with two or more species of parasites. In this setting, neither other parasitic infection nor socio-economic factors were associated with *S. mansoni* infection. The extremely high prevalence and intensity of *S. mansoni* infection were marked in children living around the centre of Mbita, where road construction between mainland and island was introduced in 1985 by embayment, known as Mbita causeway. A generalized linear mixed model with negative binomial distribution family revealed that the distance from the Mbita causeway and the population density were the factors showing significant association with *S. mansoni* infection. The Mbita causeway may have changed and impeded the flow of lake water and promoted the increase in population. All of such environmental and social changes made ecological conditions favourable for the transmission of *S. mansoni* in Mbita district.

P2-34 Detection of canine schistosomiasis japonica using recombinant thioredoxin peroxidase-1 and tandem repeat proteins

Angeles Jose Ma.¹⁾, 後藤 康之²⁾, Leonardo Lydia R.³⁾, 桐木 雅史⁴⁾, Hakimi Hassan¹⁾,
Tongol-Rivera Pilarita³⁾, Villacorte Elena A.³⁾, 井上 昇¹⁾, 千種 雄一⁴⁾, 河津 信一郎¹⁾

¹⁾帯広畜産大学 原虫病研究センター, ²⁾東京大学大学院 農学生命科学研究科応用免疫学研究室,

³⁾Department of Parasitology, College of Public Health, University of the Philippines, Manila, Philippines,

⁴⁾獨協医大 熱帯病寄生虫病室

Humans and dogs live so close together that they share different pathogens including zoonotic parasitoses like schistosomiasis. In a previous population genetics study done for schistosomiasis in the Philippines, it was known that there is a high transmission level of *Schistosoma japonicum* among the humans and dogs proving that dogs are important reservoirs for this zoonotic parasite. Developing a more sensitive and specific canine schistosomiasis diagnostic test will therefore strengthen the zoonotic surveillance which might help in the possible elimination of this ancient disease. In this study, recombinant thioredoxin peroxidase-1 (SjTPx-1) and tandem repeat proteins (Sj1TR, Sj2TR, Sj4TR, Sj7TR) previously tested on human and water buffalo samples were used to assess its diagnostic applicability to dogs. Previous results showed that SjTPx-1 has good diagnostic potential on both humans and water buffaloes, whereas Sj1TR is good for water buffaloes and Sj7TR for humans. Forty-three dog serum and stool samples were collected in the schistosomiasis-endemic Calatrava, Negros Occidental, the Philippines and examined using microscopy, stool PCR and ELISA. Samples positive for *Babesia gibsoni* and *Dirofilaria immitis* were used to check for cross-reaction. Results showed that SjTPx-1 (100% sensitivity, 98.2% specificity) and Sj7TR (80% sensitivity, 92.9% specificity) have good potentials for diagnosing canine schistosomiasis. This proved that SjTPx-1 can be used as a 'universal' antigen that can detect schistosomiasis in many species. On the other hand, Sj7TR being good both for humans and dogs suggests that there is really high transmission level between these two mammalian hosts.

P2-35 Application of tandem repeat recombinant proteins as potential antigens for the sero-diagnostic test of *Schistosoma mansoni* infection

Kalenda Yombo Dan J¹, Kentaro Kato¹, Yasuyuki Goto², Yoshito Fujii³, Shinjiro Hamano¹

¹Department of parasitology, Nagasaki university, Nagasaki, Japan,

²Department of Molecular Immunology, University of Tokyo, Tokyo, Japan,

³Graduate School of International Health Development, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

Schistosomiasis remains a public health problem in more than 76 endemic countries with 200 millions people at risk; there remains a big concern about the control and elimination of the disease which are relying on the mass drug therapy of actively diagnosed cases. Rapid diagnostic and field applicable tool tests remain in need to successfully overcome the disease burden. In this study we accessed the use of tandem repeat recombinant proteins as a potential target for a new and affordable sero-diagnostic test of schistosomiasis in experimental animal model. Four tandem repeat genes of *Schistosoma* (*S.*) *mansoni*; SmTR1, SmTR3, SmTR9 and SmTR10; were cloned in pET28 vector and expressed in *E. coli*. The detection of specific IgG against these antigens was assessed by ELISA and compared with those against the *S. mansoni* soluble egg antigens (SEA), using sera from mice infected with *S. mansoni* cercariae within the time course of the experimentally infected mice. The SmTR9 and SmTR10 antigens showed an increase of IgG titer by 3-5 weeks post infection compared to SEA, 7 weeks, which presented the highest IgG titer as compared with the tandem repeats. The SmTR3 showed the lowest IgG titer in uninfected mice, and has no homology with other parasites; it might have an advantage of no or less cross reactivity. Our study confirms the immunogenicity of tandem repeats in animal model and their use in the diagnosis of human infection cases, our ongoing work, and further study for the characterization of these proteins yet considered as hypothetical proteins.

P2-36 日本住血吸虫ゲノム中に見出された新規遺伝子ファミリーはウニ精子蛋白質, エンテロキナーゼ及びアグリリン (SEA) ドメインを共有し, グリカンおよびヘムに対する結合性を有している

Characterization of a gene family encoding SEA-domain proteins with lectin-like and heme-binding properties from *Schistosoma japonicum*

Mbanefo Evaristus Chibunna¹, 菊池 三穂子¹, Nguyen Tien Huy¹, Shuaibu Mohammed Nasir¹,

Cherif Mahamoud Sama¹, Yu Chuanxin², 若尾 雅広³, 隅田 泰生³, 平山 謙二¹

¹ Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, Wuxi 214064, China, ³鹿児島大学大学院理工学研究科

We previously identified a novel gene family dispersed in the genome of *Schistosoma japonicum* by retrotransposon-mediated gene duplication mechanism. Although many transcripts were identified; no homolog was readily identifiable from sequence information. Here, we utilized structural homology modeling and biochemical methods to identify remote homologs, and characterized the gene products as SEA (sea-urchin sperm protein, enterokinase and agrin)-domain containing proteins. A common extracellular domain in this family was structurally similar to SEA-domain. SEA-domain is primarily a structural domain, known to assist or regulate binding to glycans. Recombinant proteins from three members of this gene family specifically interacted with glycosaminoglycans with high affinity; with potential implication in ligand acquisition and immune evasion. Similar

approach was used to identify a heme-binding site on the SEA-domain. The heme-binding mode showed heme molecule inserted into a hydrophobic pocket, with heme iron putatively coordinated to two histidine axial ligands. Heme-binding properties were confirmed using biochemical assays and UV-visible absorption spectroscopy, which showed high affinity heme-binding ($KD = 1.605 \times 10^{-6} M$) and cognate spectroscopic attributes of hexacoordinated heme iron. The native proteins were oligomers, antigenic, and are localized on adult worm teguments and gastrodermis; major host-parasite interfaces and site for heme detoxification and acquisition. The results suggest potential role, at least in the nucleation step of heme crystallization (hemozoin formation), and as receptors for heme uptake. Survival strategies exploited by parasites, including heme homeostasis mechanism in hemoparasites, are paramount for successful parasitism. Thus, assessing prospects for application in disease intervention is warranted.

P2-37 日本住血吸虫スポロシト期を標的としたRNAiによる遺伝子ノックダウン

熊谷 貴, 山邊 将史, 下河原 理江子, 関 文典, 太田 伸生
東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 国際環境寄生虫病学分野

日本住血吸虫は中国・フィリピンを中心に分布しており、腸管や肝臓を中心に虫卵の塞栓による病害を引き起こす。特に、日本住血吸虫は産卵数の多さから、他の住血吸虫よりも病害性が高いことも知られている。日本住血吸虫の中間宿主はミヤイリガイであり、その貝内でヒトへの感染幼虫であるセルカリアへと発育する。しかし、貝内でのスポロシト期の幼虫がどのように貝体内で発育し、エネルギー産生を行っているのかについては、あまり研究されていない。その理由として、日本住血吸虫スポロシト期では遺伝子の機能解析等の研究がほとんど行われていないことが挙げられる。今回、このスポロシト期を標的としたRNAi法を確立することを目指す。初めに、日本住血吸虫スポロシトの適切な培養法を検討した。マンソン住血吸虫スポロシトで行われているCBSS培養液を用いた方法よりもRPMI1640の方が、生存率が高いことがわかった。すでに、マンソン住血吸虫のスポロシトでは、dsRNAのsoaking法によりRNAiが誘導できることが報告されているので、同様に日本住血吸虫スポロシトでもsoaking法を試みた。しかし、本法では、遺伝子発現の抑制は誘導できなかった。そこで、新たにエレクトロポレーション法を試みた。条件検討を行った結果、50nM以上の濃度で100V 20msの条件であれば50%程度の遺伝子発現抑制を誘導できた。そこで、酸化ストレス防御でのレドックス機構の中心となるthioredoxin glutathione reductase (TGR)を標的としたRNAiを試みた。我々は、この分子の特異的阻害剤であるAuranofinがスポロシトへの殺滅効果が高いことを確かめた。しかしながら、RNAiによって、その生存率、過酸化水素への抵抗性を減少することはできなかった。今後は、RNAi効果の増強を目指して行く予定である。

P2-38 マンソン住血吸虫感染時にマウスの肝臓内で増加する、ユニークなサイトカイン産生能を有するT細胞集団について

Unique T cells with unconventional cytokine profiles induced in the livers of mice during *Schistosoma mansoni* infection

Keishi Adachi^{1,2,4)}, 長田 良雄³⁾, 中村 梨沙¹⁾, 玉田 耕治⁴⁾, 濱野 真二郎^{1,2)}

¹⁾ Department of Parasitology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ グローバルCOEプログラム, ³⁾ 産業医科大学 医学部 免疫学・寄生虫学,

⁴⁾ 山口大学 大学院医学系研究科 細胞シグナル解析学分野

During infection with *Schistosoma*, serious hepatic disorders are induced in the host. The liver possesses unique immune systems composed of specialized cells that differ from those of other immune competent organs or tissues. Host immune responses change dramatically during *Schistosoma mansoni* infection; in the early phase, Th1-related responses are induced, whereas during the late phase Th2 reactions dominate. Here, we describe unique T cell populations induced in the liver of mice during the period between Th1- and Th2-phases, which we term the transition phase. During this phase, varieties of immune cells including T lymphocytes increase in the liver. Subsets of CD4⁺ T cells exhibit unique cytokine production profiles, simultaneously producing both IFN- γ and IL-13 or both IFN- γ and IL-4. Furthermore, cells triply positive for IFN- γ , IL-13, and IL-4 also expand in the *S. mansoni*-infected liver. The induction of these unique cell populations does not occur in the spleen, indicating it is a phenomenon specific to the liver. Thus, our studies show that *S. mansoni* infection triggers the induction of hepatic T cell subsets with unique cytokine profiles.

P2-39 マンソン住血吸虫感染がマウス自然発症関節炎に及ぼす相反的影響

長田 良雄¹⁾, 中江 進²⁾, 須藤 カツ子³⁾, 金澤 保¹⁾

¹⁾産業医科大学 医学部 免疫学・寄生虫学,

²⁾東京大学 医科学研究所 システム疾患モデル研究センター システムズバイオロジー研究分野,

³⁾東京医科大学 動物実験センター

【背景と目的】 蠕虫感染は他のさまざまな疾患の発症や進行に影響を与えることが知られている。熱帯地において蠕虫感染は極めて普通であり、蠕虫の他疾患への影響を把握することは公衆衛生上重要である。我々は、マンソン住血吸虫 (Sm) がマウスのコラーゲン関節炎の四肢腫脹を抑制し、その際に関節炎促進サイトカインと抗コラーゲン抗体の産生が抑制されることを報告してきた。今回我々は自然発症関節炎に対する住血吸虫感染の影響を見る目的で、Th17依存性自己免疫性関節炎を発症するIL-1受容体アンタゴニストKO (IL-1RaKO) マウスにSmを感染させ、影響を検討した。**【方法】** IL-1RaKOマウスに50隻または100隻のSmセルカリアを経皮感染させ、2週おきに足肢の腫れを盲検によるスコアリングで評価した。感染後10週に採血、足肢採取および脾細胞の培養を行った。**【結果】** 感染初期においては関節炎スコアに影響はみられなかったが、雄性マウスでは感染後8週および10週において関節炎スコアの抑制 (5週令に100隻感染) または抑制傾向 (3週令に50隻感染) が観察された。雌性マウスでは同様の傾向は観察されなかった。感染マウス脾細胞では関節炎抑制サイトカイン (IL-4, IL-10) 産生が顕著に上昇し、関節炎促進サイトカイン (IL-17, TNF- α) の産生は抑制されていた。一方で、自己抗体であるリウマチ因子 (RF) および抗核抗体 (dsDNA抗体) の産生量は感染によって顕著に増加していた。これらのメディエーターの変化はマウスの雌雄を問わず観察された。**【考察】** Sm感染はIL-1RaKOマウスにおいてサイトカイン産生の面では関節炎を抑制する方向に働くが、一方で自己抗体の産生を増強し、相反する二面的効果をもつことが明らかになった。

P2-40 日本住血吸虫虫卵抗原刺激が自然発症クローン病モデルマウスSAMP1/Yitの小腸炎発症に及ぼす影響

荒井 俊夫¹⁾, 関 丈典¹⁾, 熊谷 貴¹⁾, 下河原 理江子¹⁾, 太田 伸生¹⁾, 松本 敏²⁾

¹⁾東京医科歯科大学 国際環境寄生虫病学分野, ²⁾ヤクルト本社中央研究所

【背景】 クローン病は原因不明の慢性炎症性腸疾患であるが、近年、Th1細胞を中心とした病態と考えられている。マウス実験において、これまで日本住血吸虫、マンソン住血吸虫の虫卵投与によるクローン病モデルマウスの炎症改善報告があるが、使用された炎症性腸疾患モデルマウスは、トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) またはデキストラン硫酸 (DSS) 投与による薬剤誘発性モデルである。これらは大腸炎を主体としたモデルであり、ヒト・クローン病に特徴とされている小腸、特に回腸末端を中心とした非連続性の縦走潰瘍や病理組織における全層性炎症像、肉芽腫の出現を必ずしも呈さない。今回、我々は生後30週で回腸末端を中心とした小腸炎を100%発症するクローン病自然発症モデルであるSAMP1/Yitマウスを用いて、日本住血吸虫虫卵が小腸炎の発症に及ぼす影響を検討した。**【方法】** 9週齢から30週齢にかけて1週毎に凍結保存した日本住血吸虫虫卵を1個体5000個、リン酸緩衝塩類溶液 (PBS) に浮遊させ腹腔内投与した。また、コントロール群には同量のPBSを投与した。投与効果については30週齢に回腸末端組織像及び腸管膜リンパ節における各種サイトカイン値を測定し解析した。**【結果】** 虫卵投与群では回腸炎組織像の有意な改善はみられなかった。虫卵投与によりTh2サイトカインであるIL-4は強く誘導された一方で、Th1サイトカイン、IL-10は共に上昇しなかった。**【まとめ】** 小腸炎自然発症モデルにおいて、日本住血吸虫虫卵投与による効果を初めて検討した。日本住血吸虫虫卵はTh2応答を誘導するが、腸炎の改善効果は観察できなかった。これまで住血吸虫虫卵が示した薬剤誘導性腸炎の抑制効果と比較して自然発症モデルの免疫病理学的機序について考察を試みる。

P2-41 マンソン住血吸虫の雌雄成虫に対するアモジアキンの5 $\mu\text{g/ml}$ 以下でのインヴィトロの効果

In vitro effects of amodiaquine on paired *Schistosoma mansoni* adult worms at concentrations of less than 5 $\mu\text{g/ml}$

Yoshinori Mitsui¹⁾, 加藤 健太郎¹⁾, 三浦 光政¹⁾, 青木 克己²⁾

¹⁾ Department of Parasitology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ 長崎大学 大学院国際健康開発研究科

In this study, the *in vitro* effects of amodiaquine (AQ) monotherapy on the egg output of paired adult *Schistosoma mansoni* worms and their survival during *in vitro* culture were investigated. In addition, the gross morphological alterations of male and female worms caused by AQ were visually observed under a dissecting microscope. AQ significantly reduced the daily egg output of paired adult *S. mansoni* worms at concentrations of 1 - 5 $\mu\text{g/ml}$, but not at 0.5 $\mu\text{g/ml}$, for 14 days incubation compared with the control group. AQ also reduced the survival of male and female worms at 2 and 5 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Moreover, exposure to 5 $\mu\text{g/ml}$ AQ caused severe swelling and/or localization of black content in the body of all male and female worms within one or two days of incubation. Subsequent incubation caused shrinkage in the male worms and elongation in the female worms. The initial morphological alterations caused by AQ occurred along the intestinal tract of the male and female worms. To our knowledge, this is the first study to report not only the efficacy of AQ at concentrations lower than 5 $\mu\text{g/ml}$ on paired adult *S. mansoni* worms, but also the effects of AQ on intestinal tracts of worms in *in vitro* culture.

P2-42 マラリア原虫感染赤芽球によるCD8 T細胞の活性化

久枝 一, 今井 孝

群馬大学 医学系研究科 国際寄生虫病学分野

マラリアが今もなお猛威を振っている原因として、特効薬であったクロロキンに対する耐性原虫が拡散したことに加え、有効なワクチンが皆無であることが挙げられる。ワクチン開発のためには、マラリア原虫に対する防御免疫応答を詳細に理解する必要があるが、真に重要な免疫応答の理解は不十分である。赤血球ステージのマラリアに対しては、抗体による防御が重要であるとされてきた。一方で、赤血球はMHC class I分子を発現しないことからCD8 T細胞の防御への関わりはないとされてきた。しかしながら、我々はこれまでにCD8 T細胞の赤血球ステージのマラリアに対する防御的役割を明らかにしてきた。本報告では、CD8 T細胞が如何にしてマラリア原虫の排除にメカニズムを、赤芽球感染との関連を中心に検討した。まず、GFPと卵白アルブミン(OVA)を発現する組換えネズミマラリア原虫*Plasmodium yoelii* 17XNL (PyNL-GFP-OVA)を作製した。赤芽球は骨髓あるいは脾臓細胞中の核の存在、グライコフォリンAの発現で検出でき、GFPを感染の指標として赤芽球感染を確認できた。さらには赤芽球感染原虫が次の感染源になることも明らかにした。赤芽球は感染の有無を問わず、MHC class I分子を発現していたことから、感染赤血球はマラリア抗原を提示しCD8 T細胞によって認識されることが想定された。そこで、PyNL-GFP-OVA感染赤芽球を精製して、OVA特異的CD8 T細胞であるOT-I細胞と共培養して、OT-I細胞のIFN- γ 産生を検討した。OVAを発現しないPyNL-GFPの感染赤芽球はIFN- γ 産生を誘導しなかったが、PyNL-GFP-OVA感染赤芽球の存在下でOT-IはIFN- γ を産生した。以上、ネズミマラリア原虫が赤芽球に感染することを世界で最初に報告でき、さらには感染赤芽球がCD8 T細胞を活性化できることも明らかにした。この知見から、CD8 T細胞活性化を基盤とする新規ワクチン戦略の一步となると期待できる。

P2-43 プロテアソームサブユニットLMP7欠損マウスにおける赤血球の貪食亢進によるマラリア抵抗性

Resistance to Malaria by Enhanced Phagocytosis of Erythrocytes in LMP7-deficient Mice

Hajime Hisaeda, 段 学鋒

群馬大学 医学系研究科 国際寄生虫病学分野

General cellular functions of proteasomes occur through protein degradation, whereas the specific function of immunoproteasomes is the optimization of antigen processing associated with MHC class I. We and others previously reported that deficiency in subunits of immunoproteasomes impaired the activation of antigen-specific CD8⁺ T cells, resulting in higher susceptibility to tumor and infections. We demonstrated that CD8⁺ T cells contributed to protection against malaria parasites. In this study, we evaluated the role of immunoproteasomes in the course of infection with rodent malaria parasites. Unexpectedly, *Plasmodium yoelii* infection of mice deficient in LMP7, a catalytic subunit of immunoproteasomes, showed lower parasite growth in the early phase of infection and lower lethality compared with control mice. The protective characteristics of LMP7-deficient mice were not associated with enhanced immune responses, as the mutant mice showed comparable or diminished activation of innate and acquired immunity. The remarkable difference was observed in erythrocytes instead of immune responses. Parasitized red blood cells (pRBCs) purified from LMP7-deficient mice were more susceptible to phagocytosis by macrophages compared with those from wild-type mice. The susceptibility of pRBC to phagocytosis appeared to correlate with deformity of the membrane structures that were only observed after infection. Our results suggest that RBCs of LMP7-deficient mice were more likely to deform in response to infection

with malaria parasites, presumably resulting in higher susceptibility to phagocytosis and in the partial resistance to malaria.

P2-44 IL-23による抗マラリア作用はマクロファージからのIL-17に依存する
IL-23 protection against *Plasmodium berghei* infection in mice is dependent on IL-17 from macrophages

Hajime Hisaeda, 石田 英和, 今井 孝
群馬大学 医学系研究科 国際寄生虫病学分野

Although IL-12 is believed to contribute to protective immune responses, the role played by IL-23 (a member of the IL-12 family) in malaria is elusive. Here, we show that IL-23 is produced during infection with *Plasmodium berghei* NK65 (PbNK). Mice deficient in IL-23 (p19KO) had higher parasitemia and died earlier than wild-type (WT) controls. Interestingly, p19KO mice had lower numbers of IL-17-producing splenic cells than their WT counterparts. Furthermore, mice deficient in IL-17 (17KO) suffered higher parasitemia than the WT controls, indicating that IL-23-mediated protection is dependent on induction of IL-17 during infection. We found that macrophages were responsible for IL-17 production in response to IL-23. We observed a striking reduction in splenic macrophages in the p19KO and 17KO mice, both of which became highly susceptible to infection. Thus, IL-17 appears to be crucial for maintenance of splenic macrophages. Adoptive transfer of macrophages into macrophage-depleted mice confirmed that macrophage-derived IL-17 is required for macrophage accumulation and parasite eradication in the recipient mice. We also found that IL-17 induces CCL2/7, which recruit macrophages. Our findings reveal a novel protective mechanism whereby IL-23, IL-17 and macrophages reduce the severity of infection with blood-stage malaria parasites.

P2-45 マラリア感染と治療を繰り返すことにより制御性のCD19陽性B細胞が生じ実験的脳マラリアの発症が抑制される
CD19(+) B cells Confer Protection Against Experimental Cerebral Malaria In Semi-immune Rodent Model

Lam Quoc Bao¹⁾, Nguyen Tien Huy²⁾, 菊池 三穂子¹⁾, 柳 哲雄¹⁾, 千馬 正敬³⁾, Shuaibu Mohammed Nasir¹⁾, 本間 季里⁴⁾, 由井 克之⁵⁾, 平山 謙二¹⁾

¹⁾ Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ Department of Clinical Product development, NEKKEN, Nagasaki University,

³⁾ 長崎大学 熱帯医学研究所 病理学分野,

⁴⁾ 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 リーディング大学院,

⁵⁾ 長崎大学大学院 医学部 医学科 基礎医学 免疫学

Adults are less vulnerable to cerebral malaria than children in African endemic areas, probably because of acquired partial immunity or semi-immune status. Here, we developed an experimental cerebral malaria (ECM) model for semi-immune mice. C57BL/6 (B6) mice underwent one, two and three cycles of infection and radical treatment (1-cure, 2-cure and 3-cure, respectively) before being finally challenged with 104 *Plasmodium berghei*

ANKA without treatment. Our results showed that 100% of naïve (0-cure), 67% of 1-cure, 37% of 2-cure and none of 3-cure mice succumbed to ECM within 10 days post challenge infection. In the protected 3-cure mice, significantly higher levels of plasma IL-10 and lower levels of IFN- γ than the others on day 7 post challenge infection were observed. High proportion of IL-10 positive cells in 3-cure mice was CD19(+) B cells. Passive transfer of splenic CD19(+) cells from 3-cure mice protected naïve mice from ECM. In conclusion, mice became completely resistant to ECM after three exposures to malaria. CD19(+) B cells are one of determinants in protective mechanism of semi-immune mice against ECM possibly via modulatory IL-10 for pathogenic IFN- γ production.

P2-46 妊娠マラリアの病態に関わる新たな宿主因子の探索

峯尾 松一郎^{1,2)}, 新倉 保¹⁾, 井上 信一¹⁾, 井上 愛美¹⁾, 黒田 雅彦²⁾, 小林 富美恵¹⁾

¹⁾杏林大学 医学部 感染症学講座, ²⁾東京医科大学 分子病理学講座

妊婦はマラリア原虫に対する抵抗性が低下していることから、マラリアの病態が重症化しやすい。また、マラリア原虫に感染した妊婦では流産や死産、胎児の発育遅延が頻発することが知られている。妊娠中のマラリアにおける病態生理や病態発症機構は未解明な部分が多い。本研究では、マラリア流行地に住む女性が妊娠し、マラリア原虫に感染した場合の症状を反映する妊娠マラリアモデルを樹立し、妊娠マラリアにおける母体・胎児の病態と胎盤病理について解析することを目的とした。

弱毒化マウスマラリア原虫 *Plasmodium berghei* (*Pb*) XATに感染後治癒したマウスは、強毒株 *Pb* NK65に対する防御免疫を獲得する。そこで本研究では、*Pb* XATの感染・治癒により *Pb* NK65に対する免疫を賦与したマウスを交配させ、交配後1日目に *Pb* NK65を感染させた。

免疫を賦与した非妊娠マウスに *Pb* NK65を感染させると、原虫血症は低レベルで推移し、最終的にマウスは自然治癒した。一方、免疫を賦与した妊娠マウスに *Pb* NK65を感染させると、マウスは妊娠後期（感染後16-18日目）において原虫血症の増悪および貧血を示すことを見出した。この妊娠マウスでは、非感染の妊娠マウスと比較して死産仔が高率に認められ、胎盤にはヒト妊娠マラリアの典型的な病態である多数の感染赤血球の蓄積と胎盤絨毛構造の異常が認められた。さらに、この妊娠マウスは妊娠後期に肝細胞内に脂肪蓄積を伴う重度の肝障害を発症することを見出した。肝障害を発症した妊娠マウスの血漿中のIFN- γ および一酸化窒素(NO)を測定したところ、非妊娠マウスと比較して有意な増加が認められた。そこで、iNOS-KOマウスを用いてNOと肝障害の関係について解析したところ、妊娠iNOS-KOマウスで肝細胞中の脂肪蓄積が抑制された。この結果から、妊娠中のマラリア原虫感染における肝細胞中の脂肪の蓄積には、NOが重要な役割を担っていることが示された。

P2-47 コレラトキシンB鎖と三日熱マラリア伝搬阻止ワクチン抗原Pvs25の融合体構築とそのワクチン機能解析

原國 哲也¹⁾, 宮田 健¹⁾, 坪井 敬文²⁾, Jetsumon Sattabongkot³⁾, 橘 真由美⁴⁾, 鳥居 本美⁴⁾, 新川 武¹⁾

¹⁾琉球大学・熱帯生物圏研究センター・分子感染防御学分野,

²⁾愛媛大学・無細胞生命科学工学研究センター,

³⁾Mahidol Vivax Research Center, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University,

⁴⁾愛媛大学・医学部・寄生病原体学分野

マラリア等の寄生原虫に対するワクチン開発では、組換えタンパク質を利用しなければならない場合があるが、その際、免疫賦活物質やキャリア分子との併用が必須となることが考えられる。今回、コレラトキシンB鎖蛋白質（CTB）をマラリアワクチン抗原のキャリアタンパク質として利用した。すなわち、三日熱マラリア伝搬阻止ワクチン抗原（Pvs25）をピキア酵母（*Pichia pastoris*）で発現させ、CTBと化学結合させた。まず、*P. pastoris* 発現Pvs25は、A-form, B-form, そして、2-3量体とそれ以上の多量体が混在した状態で発現されたが、天然の高次構造をもつA-form（Pvs25H-A）だけを精製する方法を確立した。このPvs25H-AをCTBと化学的に結合させ、構築された融合分子をマウスに皮下および経鼻投与した結果、Pvs25H-A単独投与よりも高い抗原特異的血中IgGを誘導した。さらに、この抗血清は、タイ国の三日熱マラリア感染患者血液由来の原虫に対し、ほぼ完全な伝搬阻止効果を示した。これらの結果は、1) Pvs25H-AはCTBと融合化することによってマラリア原虫に対し、粘膜ワクチンのように機能するようになること、また、2) CTBは皮下ワクチンのキャリアタンパク質にもなりうることを示唆している。本研究は生研センターイノベーション創出事業の支援によるものである。

P2-48 マラリアワクチン抗原搭載三部構成免疫賦活システム（TIPS）のマラリア伝搬阻止ワクチン機能解析

玉城 志博¹⁾, 宮田 健¹⁾, 原國 哲也¹⁾, 坪井 敬文²⁾, Sattabongkot Jetsumon³⁾, 橘 真由美⁴⁾,
鳥居 本美⁴⁾, 新川 武¹⁾

¹⁾琉球大学 熱帯生物圏研究センター 分子感染防御学分野,

²⁾愛媛大学 無細胞生命科学工学研究センター,

³⁾Mahidol Vivax Research Center, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University,

⁴⁾愛媛大学 医学部 寄生病原体学分野

寄生虫疾患はウイルスや細菌感染症と異なり、不活化や弱毒化等の方法でワクチン開発が困難な場合があるため、組換えタンパク質を基にしたワクチン開発が必要となる場合がある。しかし、これらの組換えコンポーネントワクチンは、生ワクチンや不活化ワクチンに比べ副作用も少なく、安全性が高い半面、免疫原性が極めて低いのが難点である。よって、特に寄生虫疾患に対するワクチンには、自然免疫系を活性化する強いアジュバントや抗原提示細胞へ抗原を運搬するキャリアタンパク質が必要となる。近年我々は、「三部構成免疫賦活システム（Tricomponent immunopotentiating system: TIPS）」という独自のワクチンプラットフォームを開発した。TIPSは、(1) ワクチン抗原、(2) コアモチーフ、(3) リガンドの三部から構成され、その何れも換装可能なシステムである。今回、TIPSの機能を評価するため、モデル抗原として三日熱マラリア伝搬阻止ワクチン候補（Pvs25）を用いた。その結果、TIPSは、抗原にAlumを併用した免疫法より効果が高く、IFAを併用した免疫法に匹敵する伝搬阻止効果が認められた。すなわち、TIPSによって誘導された抗血清は、タイ国の三日熱マラリア感染患者血液由来の原虫に対し、ほぼ完全な伝搬阻止効果を示した。さらに、TIPSの免疫増強機能の作用機序は、(1) ワクチン抗原のコアモチーフとの結合による高分子量化、(2) リガンドによるキャリア（運搬）効果、そして、(3) 標的細胞の細胞生理学的活性化といった少なくとも複数の要素の相乗効果であることが示唆された。本研究は生研センターイノベーション創出事業の支援によるものである。

P2-49 ナノボールに封入したマウスマラリア新規DNAワクチン (GPI8pトランスアミダーゼ関連タンパク遺伝子) は樹状細胞を活性化しIL-12産生を亢進することで防御効果を増強する

Protective nanoparticles-coated PYGPI8p-transamidase related protein (PyTAM) DNA vaccine in *Plasmodium yoelii* malaria model enhanced the Dendritic Cells maturation and production of IL-12
Cherif Mahamoud Sama¹⁾, Shuaibu Mohammed Nasir¹⁾, 兒玉 幸修²⁾, 菊池 三穂子¹⁾, 柳 哲雄¹⁾, 佐々木 均²⁾, 由井 克之³⁾, Nguyen Huy Tien⁴⁾, Laothavorn Karbwang Juntra⁴⁾, 平山 謙二¹⁾

¹⁾ Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ 医歯薬学総合研究科 医療科学専攻 臨床医療科学講座 臨床薬物動態学,

³⁾ 長崎大学 医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻 感染免疫学講座 免疫機能制御学,

⁴⁾ 長崎大学 熱帯医学研究所 臨床開発学分野

We have previously reported the new formulation of polyethylimine (PEI), gamma polyglutamic acid (γ -PGA) nanoparticle (NP) provided *Plasmodium yoelii* Merozoite surface protein-1 (PyMSP-1) plasmid DNA vaccine with enhanced protective cellular and humoral immunity in the lethal mouse malaria model. PyGPI8p-transamidase-related protein (PyTAM) was detected as a possible candidate vaccine antigen by using DNA vaccination screening from 20 GPI anchor and signal sequence motif positive genes picked up by the bioinformatics though the protection was not complete. Here, we found the augmented protective vaccine effect by PyTAM DNA by using PEI and γ -PGA complex as delivery system. NP-coated PyTAM plasmid immunized mice showed a significant survival rate from lethal *Plasmodium yoelii* challenge infection compared with non coated PyTAM plasmid or with NP-coated blank plasmid group. Antigen specific IgG1 and IgG2b subclass antibody levels, proportion of CD4 and CD8 T cells producing IFN- γ in the splenocytes and IL-4, IFN- γ , IL-12 and TNF- α levels in the sera and in the supernatants from ex vivo splenocytes culture were all enhanced by the NP-coated PyTAM DNA vaccine. These data indicate that NP augments PyTAM protective immune response by inducing DCs maturation and concomitant IL-12 production.

P2-50 Quantitative Whole Genome Resequencing and Genetic Linkage Analyses To Identify Genes Controlling Virulence in Malaria Parasites

Hussein Abkallo¹⁾, 井上 愛美^{1,2)}, Hunt Paul³⁾, 三高 隼人¹⁾, 金子 修²⁾, Illingworth Chris⁴⁾, Martinelli Axel⁴⁾, Shwen Ho Y⁵⁾, Pain Arnab⁵⁾, Culleton Richard¹⁾

¹⁾ Malaria Unit, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ Department of Protozoology, NEKKEN, ³⁾ エジンバラ大学感染症研究所,

⁴⁾ ウェルカムトラストサンガー研究所 ゲノムキャンパス,

⁵⁾ キングアブドラ工科大学 化学生命科学・工学部 コンピュータ生物科学研究所

Background: Malaria parasites exhibit genetically controlled differences in their intrinsic virulence, or pathogenicity, to their hosts. These differences are most apparent between species, but are also manifest at the strain level. Discovering the genetic determinants of virulence differences between strains will enable the design of anti-virulence measures which could lead to a reduction in the severity of malaria infections, and protect against severe disease

Methods: Using the rodent malaria parasite *Plasmodium yoelii*, we identified parasite strains that differ in their

virulence (i.e. the severity of disease they cause in mice). Genetic crosses were then performed with these strains, and the resulting progeny grown in mice so that the fast growing, virulent parasites outcompeted the slower growing, less virulent parasites. Whole genome sequencing at greater than 200 times coverage was then performed on both parental strains, and on the progeny pre- and post-selection, 30, 000 SNP markers quantified and genomic regions under growth rate selection were identified.

Results:We show that a major difference in growth-rate phenotypes between two *P. yoelii* strains is controlled exclusively by a gene on chromosome 13, the most likely candidate being *Pyeb1*. We are currently performing replacement transfection of this allele in order to formally prove the involvement of this gene in the virulence phenotype.

Conclusions:Combining the rodent malaria system, classical genetic linkage analyses and next generation sequencing technologies offers a powerful approach to dissecting the genetic determinants of medically important phenotypes in malaria parasites.

P2-51 内臓リーシュマニア症患者尿中抗原検出ELISAの治療評価への応用

An enzyme-linked immunosorbent assay to detect *Leishmania donovani* antigen in urine samples: follow up after treatment

Deloer Sharmina¹⁾, Samad Sohel Mohammad¹⁾, Eamudomkarn Chatanun^{1,2)}, 野入 英世³⁾, 伊藤 誠¹⁾

¹⁾愛知医科大学 医学部 感染・免疫学講座,

²⁾Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University,

³⁾東京大学 医学部付属病院 血液浄化療法部

Despite the clear need to control visceral leishmaniasis (VL), the existing diagnostic tests have shortcomings with difficulties of sample collection, evaluation and distinguish between active VL from prior exposure. Here we introduce an innovative approach to directly detect *Leishmania donovani* antigens circulating in leishmaniasis patients. We optimized an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), which was developed to detect *L. donovani* antigen in urine samples. Then applied the ELISA to evaluate the effect of treatment. Urine samples were collected from 50 active VL patients at Mymensingh Medical College Hospital, Bangladesh. The infection was confirmed by splenic aspiration. All the patients were treated with sodium stibogluconate. Urine samples were collected before the treatment, weekly after initiation of the treatment (4 weeks) and two months after that. Forty urine samples from healthy Japanese were used as negative controls. Anti-*L. donovani* IgG obtained from a rabbit immunized with *L. donovani* promastigotes were used to coat ELISA plates. Urine samples diluted (2 fold) were applied and incubated overnight. Biotin bound anti-*L. donovani* IgG was applied followed by avidin-peroxidase and ABTS substrate. The sensitivity and specificity of the ELISA were 88% and 100%, respectively. The antigen positive rates became lower after the treatments; 66% (1 week), 36% (2 weeks), 18% (3 weeks), 14% (4 weeks) and 0% (2 months). This method could be a useful tool not simply for the diagnosis of VL but monitoring effects of treatment.

P2-52 *Toxoplasma gondii* infection: Relationship between seroprevalence and risk factors among primary schoolchildren in the capital areas of Democratic Republic of Sao Tome and Principe, West Africa

Chia-Kwung Fan¹⁾, Lin-Wen Lee²⁾, Chien-Wei Liao¹⁾, Ying-Chieh Huang¹⁾, Yueh-Lun Lee²⁾, Yu-Tai Chang³⁾, Angela dos Santos Ramos Jose da Costa⁴⁾, Vilfrido Gil⁵⁾, Li-Hsing Chi³⁾, Takeshi Nara⁶⁾

¹⁾Department of Parasitology and Center for International Tropical Medicine, Taipei Medical University, Taiwan,

²⁾Department of Microbiology and Immunology, College of Medicine, Taipei Medical University,

³⁾Taiwan Medical Mission in Sao Tome, Democratic Republic of Sao Tome and Principe,

⁴⁾Ministry of Health and Social Affairs, Sao Tome, Democratic Republic of Sao Tome and Principe,

⁵⁾National Global Fund Program, Democratic Republic of Sao Tome and Principe,

⁶⁾Juntendo University Graduate School of Medicine, ⁷⁾Nigerian Institute of Medical Research, Nigeria

The status of *Toxoplasma gondii* infection among primary schoolchildren (PSC) of the Democratic Republic of Sao Tome and Principe (DRSTP), West Africa, remains unknown to date. A serologic survey and risk factors associated *T. gondii* infection among PSC in the DRSTP was assessed by the latex agglutination (LA) test and a questionnaire interview was conducted in October 2010. Schoolchildren (9.8 ± 1.4 yrs) from 4 primary schools located in the capital areas were selected, in total 255 serum samples were obtained by venipuncture. The overall seroprevalence of *T. gondii* infection was 63.1% (161/255). No significant gender difference in seroprevalence was found between boys (62.6%, 77/123) and girls (63.6%, 84/132) (p = 0.9). The older age group of 10 years had insignificantly higher seroprevalence (69.9%, 58/83) than that of the younger age group of 8 year olds (67.7%, 21/31) (p = 0.8). It was noteworthy that the majority of seropositive PSC (75.8%, 122/161) had high LA titers of ≥1:1024, indirectly indicating acute or repeated *Toxoplasma* infection. Parents whose jobs were non-skilled workers (73.1%) showed significantly higher seroprevalence than that of semiskilled- (53.9%) or skilled workers (48.8%) (p < 0.05). Children who had a history of raising cats also showed significantly higher seroprevalence than those who did not (p < 0.001). Children who claimed to have had recent ocular manifestation or headache, i.e. within 1 month, seemed to have insignificantly higher seroprevalence than those who did not (p > 0.05).

P2-53 タイのヒトとマカクにおける腸管寄生アメーバの感染状況と*Entamoeba nuttalli*分離株の性状解析

橋 裕司¹⁾, 柳 哲雄²⁾, 小林 正規³⁾, Wang Ting⁴⁾, Feng Meng¹⁾, 平山 謙二²⁾, Thongaree Siriporn⁵⁾, Pattanawong Urassaya⁶⁾, Putaporntip Chaturong⁶⁾, Jongwutiwes Somchai⁶⁾

¹⁾東海大学 医学部 基礎医学系, ²⁾長崎大学 熱帯医学研究所 免疫遺伝,

³⁾慶応義塾大学 医学部 感染症, ⁴⁾東海大学 教育研究支援センター, ⁵⁾ハラバラ野生生物研究所,

⁶⁾チュラロンコン大学 医学部 寄生虫

赤痢アメーバなどの腸管寄生アメーバはヒト以外の霊長類にも感染すると考えられており, また, 我々はマカク類から赤痢アメーバとは異なる新種の病原アメーバ*Entamoeba nuttalli*を分離している。従って, ヒトやマカクにおける*Entamoeba*の感染状況を明らかにすることは, 人獣共通感染症対策の見地からも重要である。今回, タイ最南端のNarathiwatにおいて, 住民から93検体, 飼育ブタオザルから122検体, 飼育カニクイザルから20検体の糞便を収集した。また, タイ東部のAmnat ChaoenとYasothonにおいて, 野生カニクイザルの糞便をそれぞれ43検

体と38検体収集した。これらの検体について、各種*Entamoeba*の陽性率をPCR法によって調べた。Narathiwatの住民では*Entamoeba*の感染率は低く、赤痢アメーバは1検体、*E. dispar*は3検体のみが陽性であった。*E. nuttalli*は検出されなかったが、*E. chattoni*が1検体に認められ、ヒトへのサルアメーバの感染が起きていることが判明した。一方、飼育ブタオザルでは、*E. chattoni*、大腸アメーバ、*E. nuttalli*の感染率が低かったにもかかわらず、これまでタイの野生カニクイザルでは検出されなかった赤痢アメーバの感染が認められた。従って、ヒト由来の赤痢アメーバがサルに感染している可能性が考えられた。東部の野生カニクイザルは、*E. chattoni*と大腸アメーバに高率に感染し、*E. nuttalli*の感染も半数以上に認められた。しかし、赤痢アメーバや*E. dispar*は検出されなかった。また、Amnat CharoenとYasothonの野生カニクイザルからそれぞれ5株と4株の*E. nuttalli*を分離培養した。セリンリッチ蛋白質遺伝子やtRNA関連の反復配列においては、2つの地域で異なる遺伝子型が認められ、それぞれの地域に特徴的な遺伝子型が存在すると考えられた。

P2-54 NTDs創薬ターゲットタンパク質選択のためのデータベースiNTRODBの開発

石田 貴士¹⁾、蓮実 梢²⁾、伴 兼弘¹⁾、秋山 泰^{1,3)}

¹⁾東京工業大学 大学院情報理工学系研究科 計算工学専攻、²⁾東京工業大学 工学部 情報工学科、

³⁾東京工業大学 情報生命博士教育院

現在、我々はアステラス製薬、東京大学、長崎大学などと共同で「顧みられない熱帯病 (NTDs)」治療のための創薬研究を行っている。創薬の実施にあたっては様々な課題が存在するが、薬剤のターゲットとなるタンパク質をどのように選択するかは重要な課題である。ターゲットとして最適なタンパク質の条件としては、まずそれを制御することによって対象となる疾患を治療可能となることは必須であるが、それだけではなく、その他に創薬のし易さも重要な観点となる。例えば、近年ではタンパク質構造情報ベースの創薬 (Structure-Based Drug Design, SBDD) 技術の発達により、タンパク質立体構造情報があればインシリコ・スクリーニングや化合物構造の最適化といった効率的な創薬が可能となるため、結晶化が容易であるか、類似のタンパク質の立体構造が既に解明されているかといった情報もSBDDによる創薬ターゲットの選択では重要な観点である。そこで本研究ではトリパノソーマ科寄生原虫によって引き起こされる3つの熱帯病、リーシュマニア症、シャーガス病、ヒトアフリカ睡眠病を対象とし、良い薬剤ターゲットタンパク質候補をゲノムワイドに選定するためのデータベースシステムであるiNTRODBの開発を行った。現在のiNTRODBは3種の寄生原虫 (*Leishmania major*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei*) のゲノム上にコードされた全てのタンパク質について、関連する立体構造情報、寄生原虫内での保存性、関連する既知化合物情報など、創薬ターゲットの選定に役立つ情報を付加しており、指定された条件に満たす創薬ターゲット候補の検索が可能となっている。本発表では、このiNTRODBの詳細とその使用方法について説明し、またこのiNTRODBによって得られる創薬ターゲット候補について議論を行う。

P2-55 Fragment Evolution法を活用した「顧みられない熱帯病 (NTDs)」治療のための創薬共同研究

生田目 一寿¹⁾、山口 智彦¹⁾、割鞘 雅一¹⁾、本坊 和也¹⁾、田辺 英紀¹⁾、萩原 陽介¹⁾、大野 一樹¹⁾、伊東 真二¹⁾、新美 達也¹⁾、石原 司¹⁾、折田正弥¹⁾、阪下日登志¹⁾、渡辺俊博¹⁾、古川功治²⁾、山崎和彦²⁾、久保田智巳³⁾、広川貴次⁴⁾、谷修²⁾、稲岡ダニエル健⁵⁾、北潔⁵⁾

¹⁾アステラス製薬株式会社 研究本部 化学研究所 リード化学研究室、

²⁾独立行政法人 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門、

- ³独立行政法人 産業技術総合研究所 糖鎖医工学研究センター,
⁴独立行政法人 産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター,
⁵国立大学法人 東京大学 大学院 医学系研究科 国際保健学専攻 生物医化学教室

顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Diseases:NTDs) は寄生虫や細菌, ウイルスによる感染症で, 世界で10億人以上が感染していると言われ, 世界の保健医療において深刻な問題となっており, その新規治療薬の開発が切望されている。その中でも医薬品の研究開発ニーズが特に大きいトリパノソーマ症などのNTDsに対して, 演者らは本治療薬の効率的探索を目的に創薬共同研究をすすめている。Fragment Evolution (FE) 法とは, Fragment Based Drug Discovery法の一つであり, この方法は以下3つの主要ステップからなる。[ステップ1: フラグメントヒットの探索]アステラス製薬が保有するフラグメントと呼ばれる分子量150-300程度の小さな化合物を集めた化合物ライブラリー (フラグメントライブラリー) を活用し, 大量・高純度で取得した標的蛋白を用いたバイオアッセイとNMR (核磁気共鳴装置) 等の物理化学的手法を利用し, フラグメントヒットを探索する。[ステップ2: フラグメントヒットの結合様式解明]ハイスループット化されたX線結晶解析により, フラグメントヒットと標的蛋白の結合様式を多数解明する。[ステップ3: フラグメントヒットの進化 (Evolution)] X線結晶解析により得られた三次元構造情報を活用し, 活性ポケットを埋め尽くすコンビナトリアル合成 (自動合成機を用いたハイスループット誘導體合成) を行い, 活性値と結合様式を確認しながらフラグメントの活性を向上させる。この「ステップ3」の進化 (フラグメントの活性向上) を繰り返す事により, 最終的にリード化合物を取得する事ができる。演者らは, FE法を活用し, トリパノソーマ症の原因寄生原虫などに関与する標的蛋白質に対する創薬研究をすすめており, 本会ではこれらの進捗について最新の知見を紹介する。

P2-56 分子設計の新しいアプローチで得られたTrypanosoma cruziのジヒドロオロト酸脱水素酵素の強力かつ特異的阻害剤
Potent and selective inhibitors of Trypanosoma cruzi dihydroorotate dehydrogenase designed through new approach

Daniel Ken Inaoka¹, 橋本 哲², 本間 光貴³, 松岡 茂², 倉永 健史², 奈良 武⁴, 田仲 昭子³, 井上 将行², 原田 繁春⁵, 北 潔¹
¹東京大学 医学部 生物医化学, ²東京大学 薬学部 有機反応化学,
³理化学研究所 制御分子設計研究チーム, ⁴順天堂大学 医学部 熱帯医学・寄生虫学講座,
⁵京都工芸繊維大学 工芸科学研究科 構造生物学

Many open form structure of a drug target was obtained “*a posteriori*” to empirically discovered inhibitors, which were unexpectedly found binding to the open form after obtaining co-crystal structures. By reverse thinking, obtaining the open form structure of a drug target “*a priori*” should be useful to develop potent inhibitors. We found evidence that *Trypanosoma cruzi* dihydroorotate dehydrogenase (TcDHOD), a validated drug target, is unusually active in its monomeric form, making the protein-protein interaction inhibitor approach useless. In addition, the small volume of TcDHOD active site pocket (178 Å³) has made the conventional structure and ligand based drug design approach unrealistic. Since the design of nanomolar order inhibitors by conventional approaches was inappropriate, we developed new approach in order to obtain “*a priori*” the active site in open form. The new approach is based on designing an “open form inducer”, which is predicted to bind to the target causing steric repulsion with flexible regions nearby the target site, consequently forcing it to open. We provide the first proof-of-concept of this approach by co-crystallizing TcDHOD with the “open form inducer”. The binding of “open form inducer” caused an expansion of the active site volume to 694 Å³, exposing hydrophobic and hydrophilic residues

surrounding the active site which were specific for TcDHOD. The obtainment of open form structure “*a priori*” allowed us to design nanomolar order inhibitors with extremely high selectivity index. We believe that this new approach can be extended for drug targets in which conventional drug-design approaches are not applicable.

P2-57 原虫由来IA型ジヒドロオロト酸脱水素酵素：FE法を用いた創薬のターゲット分子として

古川 功治¹⁾, 山崎 和彦¹⁾, 久保田 智巳¹⁾, 広川 貴次¹⁾, 谷 修¹⁾, 山口 智彦²⁾, 本坊 和也²⁾,
割鞘 雅一²⁾, 生田目 一寿²⁾, 阪下 日登志²⁾

¹⁾産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門, ²⁾アステラス製薬 化学研究所

IA型ジヒドロオロト酸脱水素酵素(DHOD)は「NTD治療のための創薬共同研究」のターゲット分子の1つである。我々はFE法を用いて本酵素の阻害剤を新規に設計する。DHODはジヒドロオロト酸(DHOA)からオロト酸(OA)への脱水素反応を触媒するフラビン酵素であり、ピンポンBi-Bi機構に従う(前半：フラビンモノヌクレオチド(FMN)を介したDHOAからOAへの酸化反応, 後半：フマル酸による還元型FMNの酸化反応)。既知の立体構造から, DHODの基質結合ポケットは狭く, FE法による阻害剤設計が困難であると予想された。そこで我々はDHODの基本特性を精査し, FE法の効率化を支援する。

*Trypanosoma brucei*由来のDHODについて以下の知見が得られた。1) 酵素反応：後半の反応において, 分子状酸素が還元型FMNを酸化することがわかり, このことが阻害剤スクリーニングの成績を低下させている。2) 立体構造：精密な立体構造解析の結果, 還元型酵素でFMNがより屈曲することを見だし, QM/MM計算結果からOA解離への関与が示唆された。還元型酵素に対する独自の化合物設計の可能性を示している。さらに, 2量体化による活性部位ループの動きの制限が示唆され, 初期化合物の選抜に影響すると考えられた。3) アポ体：アポ体の分離に成功し, 構造解析を行ったところ, アポ化に伴う蛋白質主鎖構造の変化を見いだした。アポ体に対する化合物設計が可能と考えられた。これらに対し, 我々は1) NMRを用いた結合解析に基づく化合物スクリーニング, 2) 空気酸化を抑制する変異体の作製, 3) 還元型酵素の安定化法開発, 4) 蛋白工学的手法による単量体化, 5) アポ体を安定化する変異体の作製を行い, 阻害剤設計の初期の困難打開を試みている。大会ではこれらの進捗について最新の知見を紹介する。

P2-58 微生物代謝産物由来の抗トリパノソーマ原虫活性物質の探索研究(3)

石山 亜紀¹⁾, 岩月 正人^{1,2)}, 稲橋 佑起²⁾, 松本 厚子^{1,2)}, 大下 純²⁾, 廣瀬 友靖^{1,2)}, 砂塚 敏明^{1,2)},
高橋 洋子^{1,2)}, 乙黒 一彦¹⁾, 大村 智¹⁾

¹⁾北里大学 北里生命科学研究所, ²⁾北里大学 大学院 感染制御科学府,

³⁾マヒドン大学 理学部 生命工学科

Human African Trypanosomiasis (HAT)はneglected diseasesの一つであり, アフリカ睡眠病として知られている。HATは*T. brucei rhodesiense* 及び*T. brucei gambiense*によって引き起こされる病気であり, サハラ以南のアフリカにおける年間罹患者は30-50万人, 死亡者が5万人と推定されている。既存の治療薬は経口投与が出来ない, 重篤な副作用, さらには薬剤耐性原虫の増加といった問題から新しい治療薬の開発が望まれている。

我々は *in vitro* および *in vivo* 抗トリパノソーマ原虫活性の評価系を構築し^{1,2)}, 北里生命科学研究所が保有する抗生物質ライブラリー及び微生物代謝産物等の天然素材のスクリーニングを行うことで, KS-505a および leucinostatin 類が *in vivo* においても治療効果を示すことを報告してきた^{2,3)}。

今回、タイの植物組織から分離した放線菌培養液のケミカルスクリーニングによって新たな薬剤シード化合物を見出した。新たに単離した希少放線菌 *Actinoallomurus* 属 MK10-036株の培養液より新規化合物群, Actinoallolide A-Eを単離した。これら化合物群は分子量546～566を示すマクロライド化合物であり, *in vitro* で強力な抗トリパノソーマ原虫活性 (IC_{50} : 0.0049～1.01 μ g/ml)を示すことが新たに見出された。本大会では見出した化合物群の発酵, 精製, 構造決定および生物活性について詳細を報告する。

- 1) Otoguro K., *et al.*, *J. Antibiot.*, **61**, 372-378(2008), 2) Ishiyama A., *et al.*, *J. Antibiot.*, **61**, 627-632 (2008)
3) Ishiyama A., *et al.*, *J. Antibiot.*, **62**, 303-308 (2009)

P2-59 ベンズニダゾールによる治療中に末梢神経炎と肝障害をきたしたシャーガス病の一例

今井 一男¹⁾, 前田 卓哉¹⁾, 南雲 盛親¹⁾, 三沢 和央¹⁾, 三木田 馨¹⁾, 藤倉 雄二¹⁾, 佐山 勇輔²⁾,
川名 明彦¹⁾, 倉根 一郎³⁾, 三浦 左千夫²⁾

¹⁾防衛医科大学校 内科学 (感染症・呼吸器),

²⁾日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所 感染症解析部, ³⁾国立感染症研究所 ウイルス1部

ベンズニダゾールは *Trypanosoma cruzi* 感染症 (シャーガス病) に対する有効な薬剤として, これまで世界各地の多くの国と地域で使用されてきた。しかしながら, 若年者のシャーガス病に対する治療では, その有効性と安全性は極めて高い一方, 50歳を超える中高年者には, 多彩な有害事象を高率に生じうる薬剤として注意喚起がなされている。本報告では, ベンズニダゾールによる治療中に肝障害と末梢神経炎を来し, 治療中止後にも神経炎の症状に増悪がみられた1例について, 過去の有害事象に関する文献的考察を交えて報告する。ベンズニダゾールは, 本邦で入手が困難な国内未承認薬であり, 中高年者に対する国内での使用は本症例が最初の症例である。

症例) 55歳女性, ブラジル・パラナ州出身。既往歴に発作性心房細動に対するカテーテル・アブレーション治療がある。血清学的にシャーガス病と診断し, その合併症としてNYHA III度およびModified Kuschner Classification class IIIの心不全を診断した。心臓超音波検査では心筋リモデリングに乏しく, 心臓合併症の進展阻止を目的として, ベンズニダゾール5mg/kg/day (60日間)の内服投与を開始した。

内服開始後およそ30日目で肝障害が出現。その後は次第に肝障害が増悪したが, 軽度であったため内服治療は継続した。内服開始45日目頃には, 両手先のしびれと安静時の疼痛が出現し, 53日目に当科外来を受診。ベンズニダゾールによる末梢神経炎を疑い, 薬剤の内服中止を指示した。その後, 肝障害については速やかに軽快したものの, 投与中止4週後まで四肢のしびれと疼痛は増悪した。

P2-60 A background information of hospitalized children in Nam Dinh Children' s Hospital, Northern Vietnam

Asako Tokizawa¹⁾, Vu Dinh Thiem²⁾, Nguyen Conh Khanh²⁾, Pham Duc Tho^{1,2)}, 竹村 太地郎¹⁾,
山城 哲¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 アジア・アフリカ感染症研究施設 ベトナム拠点,

²⁾National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam

A hospital based study to determine a broad range of etiological agents for childhood diarrhea at Nam Dinh Children' s Hospital in Nam Dinh province has been conducted since December 2012. The objective of this study is to elucidate an outline of childhood diarrhea which requires hospitalization, using data on distribution of 25

different categories of enteropathogens and questionnaire-based information relevant to diarrhea, in this area. An interim data on the study is shown in this paper.

Four hundred and twenty-three questionnaires were collected together with a pair of diarrheal stool samples in a period between 10 Dec 2012 and 23 Jul 2013. The analysis revealed that the mean age of the enrolled patients was 9 months, and 64% of those were boys. Ninety percent of the enrolled children have 3-5 members in a household, with 0-2 siblings (99%). More than half of the enrolled patients visited the hospital in 2-4 days after the onset of diarrhea. Approximately 70% of the patients excreted stools <5 times per day, and vomiting was observed in 60% of the patients. Watery diarrhea was shown in nearly 60% of the patients, followed by muddy stools in 30% and dysenteric stool in 2%. Approximately 30% of the patients used antibiotics before admission. As a source of drinking water, a majority (78%) of the patients used tap water, 8% used water from well (closed style or open style) and 14% used rain water. The analysis indicated that more than 95% of the patients boiled water before drinking.

P2-61 Etiologies of childhood diarrhea in Nam Dinh province, northern Vietnam

Tokizawa Asako¹, Nguyen Binh Minh², Nguyen Van Trang², Vu Dinh Thiem², Vu Van Thuyen³,
Do Duc Luu⁴, Nguyen Thi Phuong Lan⁵, Takemura Taichiro¹, Yamashiro Tetsu¹

¹Institute of Tropical Medicine Nagasaki University,

²National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam, ³Nam Dinh Children' s Hospital,

⁴Nam Dinh Preventive Medical Center, Vietnam, ⁵Pasteur Institute of HCMC, Vietnam

It is estimated that more than 100, 000 hospitalizations and approximately 5, 000 deaths occur annually due to diarrhoea among children <5 years of age in Vietnam, representing 15-20% of deaths in this age group. A hospital based study to determine a broad range of etiological agents for childhood diarrhea at Nam Dinh Children' s Hospital in Nam Dinh province has been conducted since December 2012. The objective of the study is to determine etiologies of acute childhood diarrhea in the region. A pair of diarrheal stool and questionnaire was collected from 423 patients who hospitalized for the treatment of diarrhea in the period between December 2012 and July 2013.

Enteropathogenic bacteria were isolated in 8.0% (34/423) of the specimens tested. Of those, any categories of diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC) were the most frequently isolated bacteria (29 isolates) (EPEC, 17; ETEC, 2; EAEC, 5; EIEC, 4). Isolation frequency of *Salmonella* spp., *Shigella* spp., and *Aeromonas* spp. was 1.9% (8/423) in total, indicating their less significance as etiologies in acute childhood diarrhea in northern Vietnam. No *Vibrio* spp. were isolated in the study. Rotavirus and norovirus was detected in 54.3% (189/348) and 39.7% (138/348), respectively, of the samples tested. Emergence of G2P[4] rotavirus after 10 years interval was notable. Detection rate of each of adenovirus, sapovirus, and astrovirus was approximately 1% of the samples tested. Diarrheal protozoa were relatively frequently detected in the study, accounting *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium* for 20% (19/94), 3.2% (3/94), and 2.1% (2/94), respectively.

P2-62 Hospital based analysis of a broad range of etiological agents of diarrhea in southern Vietnam

Nguyen Hoang Vu¹, Diep The Tai¹, Ha Van Thieu², Nguyen Thi Thu Hong¹, An Khac Huy¹, Tokizawa Asako³, Takemura Taichiro³, Nguyen Trong Noi², Nguyen Thi Phuong Lan¹, Yamashiro Tetsu³

¹Pasteur Institute HCCM, Vietnam, ²Dong Nai Pediatric Hospital, Vietnam,

³Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University

Approximately 100, 000 hospitalizations due to diarrhea occur annually among >5 years old children in Vietnam. Understanding of the circulating diarrheal pathogens will provide meaningful information for clinical and public health sectors in the area. A hospital based study to determine a broad range of etiological agents for childhood diarrhea at Dong Nai Children's Hospital in Dong Nai province, southern Vietnam has been conducted since January 2013. Stool specimens were collected twice in a week from patients who have 3 times of diarrhea within last 24 hour. Standard bacterial identification procedures were used for the identification of bacterial enteropathogens including *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Aeromonas* spp., *Campylobacter* spp., and diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC). ELISA commercial kits were used for the detection of rotavirus, adenovirus, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium*.

As of July 2013, a total of 421 samples were collected. Enteropathogenic bacteria were detected in 21% (87/421) of the samples, in which any categories of DEC, *Salmonella* spp., *Shigella sonnei*, *Aeromonas* spp., and *C. jejuni* accounted for 76%, 11.5%, for 8.0%, 3.4%, and 1.1%, respectively. No *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis* were found in the study. Rotavirus and Adenovirus was detected in 39% (109/282), and 4.3% (12/282) of the samples tested. *E. histolytica*, *G. lamblia*, and *Cryptosporidium* was detected in 20% (19/94), 3.2% (3/94), and 2.1% (2/94), respectively, in the samples tested.

A wide variety of enteropathogens were detected, and diarrheal specimens containing multiple pathogens were frequently found in the study.

P2-63 昭和後期における結核菌の薬剤耐性を探る—抗結核薬の変遷とその影響に関する考察

飛永 祥平¹, 松本 充生¹, 吉田 志緒美², 北市 正則², 鈴木 克洋², 露口 一成², 岡田 全司², 林 清二², 山本 太郎¹, 和田 崇之¹

¹長崎大学 熱帯医学研究所 国際保健学分野, ²国立病院機構近畿中央胸部疾患センター

【背景】 結核は全世界で年間約880万人が新規に発症し, 200万人が死亡している。結核治療には抗結核薬が用いられるが, その多用によって出現する耐性菌の拡散が懸念されている。現在最も有効な結核薬として, リファンピシン (RFP) が挙げられる。RFPが我が国で1971年に基準収載された後, それまで主要薬であったストレプトマイシン (SM) は使用量が減り, 現在は多剤耐性結核菌を対象とした第二選択薬となっている。SM耐性結核菌の出現頻度は現在約8%であるが, SM使用量が多かった時代における耐性株の蔓延状況については不明である。

【目的】 1971年前後の結核患者から抽出された病理標本から結核菌DNAを抽出し, 薬剤耐性関連遺伝子の変異を調べることによって当時の耐性率について検証する。

【方法】 1966年～1980年において結核と診断された214症例を対象とした。このうち, 残存が確認された病変部のパラフィン標本 (168検体) からDNA抽出を行い, IS6110を標的としたPCRを行って結核菌DNAの有無を確認した。陽性検体についてSM耐性遺伝子 *rpsL* (K43R) およびRFP耐性遺伝子 *rpoB* (81 bp hotspot領域) における変異

を確認した。

【結果および考察】 88検体 (52.4%) について結核菌DNA陽性と判定された。このうち42検体 (25.0%) について *rpsL* が分析可能であり、耐性変異は15検体 (35.7%) で認められた。耐性株は1971年から75年のサンプルに集中していることがわかった。*rpoB* の変異は分析可能であった45検体中2検体で確認され、いずれも1971年以降の患者であった。SM耐性株の *rpsL* 変異頻度は国内では約60%と推計されていることから、当時は半数以上がSM耐性であったことが推察される。

P2-64 わが国における結核分子疫学と伝搬経路推定：結核中蔓延国としての役割について

和田 崇之, 山本 太郎

長崎大学 熱帯医学研究所 国際保健学分野

結核分子疫学は、結核菌の遺伝的多様性をマーカーとして患者由来株の異同または相同性を判定し、感染源や伝搬経路を推定することを目的とする。患者からの聞き取り調査や接触者検診といった実地疫学からのアプローチを裏付ける科学的根拠を提供するとともに、多剤耐性結核菌の拡がりや未知の蔓延株の発見など、地域的狀況に即した結核公衆衛生に様々な知見を与えうる。結核菌遺伝型別には反復数多型 (VNTR) 解析が主流である。本解析では、結核菌ゲノム上に点在する反復配列領域 (1ユニットあたり約50~100 bp) を調べることで菌株の異同判定を行う。国際的にはSupplyらが提唱した15ないし24領域からなる組み合わせを分析する手法が標準法として定着しつつある。しかし、我が国では臨床分離株のおよそ8割が東アジア定着系統である「北京型」に属するため、これらが必ずしも最適解を与えないことを経験してきた。我が国は、かつて国民病とさえ呼ばれた結核高蔓延時代を経験したが、現在は結核罹患率19.7 (10万人当たりの患者数, 2012年) まで低下し、世界的には中蔓延国に位置付けられる状況となった。若年者層では外国人患者が約3割を占めており、公衆衛生上の結核対策として新しい局面に差し掛かっていると見てよい。一方、世界的には多剤耐性結核菌の拡散やHIV共感染といった、より複雑な事象に対処することが不可欠であると同時に、高い罹患率を呈する地域ではより優先度の高い対策を講じる必要があるだろう。本発表では、我が国における結核分子疫学の取り組み、経緯、および問題点を総括し、型別法の標準化と地域最適化の意義、罹患率の違いと分子疫学の利用価値について議論し、現代の高蔓延国における導入の可能性について考えたい。

P2-65 Molecular epidemiology of group A rotavirus from the Philippines

八尋 隆明¹⁾, Sydney N. Fajardo Lindsay²⁾, Luisa G. Daroy Maria²⁾, C. Ribaya Victoria³⁾,
F. Natividad Filipinas²⁾, 松本 昂¹⁾, 西園 晃¹⁾, Ahmed Kamruddin¹⁾

¹⁾大分大学 医学部 微生物学講座, ²⁾Research and Biotechnology, St. Luke' s Medical Center,

³⁾Department of Pediatrics, St. Luke's Medical Center

Introduction : Globally, rotavirus diarrhea is a major cause of child mortality. Most of these deaths occur in developing countries. Recently rotavirus vaccines have been introduced. However studies are needed before the introduction of vaccine to determine whether the circulating genotypes are compatible with the vaccine strains and to monitor the after effects of vaccine introduction. Therefore this study was carried out to determine the rotavirus strains and genotypes circulating in the Philippines.

Materials and Methods : Stool samples were collected from children <5 years of age attending at Philippine

Children' s Medical Center and St. Luke' s Medical Center in Quezon City, the Philippines. Genomic dsRNA was extracted from stool samples for electropherotyping by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and G and P typing by RT-PCR. Phylogenetic analysis of the VP7 gene was performed.

Results and Conclusion : From January 2010 till April 2013, a total of 103 samples were collected, among which 34/103 (33%) were positive for rotavirus by ELISA. A total of 34 samples were subjected to PAGE which revealed 7 different electropherotypes (E1-E7). Among them E1 type was 65.4%, followed by E4 type (11.5%) and E5 type (7.7%). Each of the E2, 3, 6, and 7 type was 3.8%. RT-PCR was done on a total of 34 samples. G1P[8] was the dominant genotype 22/34 (64.7%), followed by G2P[4]: 6/34 (17.6%), G3P[8]: 3/34 (8.8%), G9P[8]: 2/34 (5.88%) and G4P[8]: 1/34 (2.94%). Expanded surveillance of circulating genotypes is of utmost importance before the introduction of universal rotavirus vaccine in the Philippines.

**P2-66 ニャチャン出生コホート研究 - 前向き研究による小児呼吸器感染の遺伝的危険因子同定
Nha Trang Birth Cohort Study: a population-based study identified innate immunity-related genetic risk factors for childhood acute respiratory infection in Vietnam**

Michio Yasunami¹⁾, 宮原 麗子¹⁾, 吉田 レイミント¹⁾, 中村 仁美¹⁾, 高橋 健介¹⁾, Vu Dinh Thiem²⁾, Trinh Xuan Mai³⁾, Dang Duc Anh²⁾, Le Huu Tho⁴⁾, 有吉 紅也¹⁾

¹⁾ Department of Clinical Medicine, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE), Hanoi, Vietnam,

³⁾ Pasteur Institute Nha Trang, Nha Trang, Vietnam,

⁴⁾ Khanh Hoa Health Service Department, Nha Trang, Vietnam

The differential susceptibility to certain infectious disease is attributable to genetically-determined variations in responsiveness to microbial pathogens in part. The genetic polymorphisms associated with the functional variations in Toll-like receptors (TLRs) are candidates for risk factors. We conducted a population-based association analysis for the better understanding of genetic predisposition to infectious diseases. 1, 999 newborn babies, who were born in Khanh Hoa Provincial Hospital, a principal medical facility in Nha Trang City, central Vietnam from May 2009 to May 2010, were enrolled to a longitudinal study. Genomic DNA samples were prepared from umbilical cord blood collected at the entry. 26 SNPs in 9 genes for TLR2- and TLR4-related pattern recognition were genotyped by Sequenom MassARRAY system. The events of severe diseases were passively but comprehensively identified by admissions to the pediatric ward of the hospital. The cohort children were invited to medical check at community health stations at 24 months of age and the past history of major diseases was confirmed. 1, 494 children were responded to the invitation to 24-month medical check. The incidence of severe acute lower respiratory tract infection (LRTI) was 77.3/1000 persons/year (231 events in 1, 494 persons in two years). Homozygote for the major allele of a SNP in the TLR10 locus was associated with acute LRTI; hazard ratio of 1.72, $p < 1 \times 10^{-3}$. Haplotype analysis for TLR10-TLR1-TLR6 gene cluster in 4p14 and gene expression analysis using blood samples collected at 24 month medical check will provide deep insights into this genetic risk for acute LRTI.

P2-67 スリランカ・ラトナプラ県におけるデング熱流行予防に対する媒介蚊発生源対策の有効性と持続可能性に関する研究

Effectiveness and sustainability of a source reduction strategy embedded in a routine vector control programme for prevention of dengue fever outbreak in the Ratnapura district, Sri Lanka

Panditharathne Nugegoda Gabadage Sujeewa^{1,2)}, Kannangara K.B.¹⁾, 後藤 健介²⁾, 金子 聡^{2,3)}

¹⁾Ministry of health, Sri Lanka, ²⁾長崎大学熱帯医学研究所生態疫学分野,

³⁾長崎大学大学院国際健康開発研究科

Background: Endemic dengue is a major public health problem in Sri Lanka. To assess the effectiveness of a community-based larval source reduction campaign, we analysed the data from the official intervention and dengue surveillance data between 2010 and 2012 in a district of Sri Lanka. Methods: According to the dwelling coverage percentage of the larval source reduction campaign, 575 divisions were categorized into four groups and epidemiological analysed to evaluate the effectiveness and sustainability of the campaign. Additionally, we calculated the cost for the campaign operation and avoidable costs for dengue patient management. Findings: Since the commencement of campaign, there were two outbreaks in 2011 and 2012. Both outbreaks were observed only in lower campaign coverage groups and no outbreak was observed in high coverage area. Incidence rate ratios in lower-coverage areas were about three or four times higher with significance in the major outbreak year of 2012 compared with the high coverage area. In the lower-coverage areas, 60 to 70% (total of 2456) of cases may have been avoided by the clean-up program, which is at least equivalent to US\$ 159, 645 in hospital admission cost. The initial cost of cleaning, programme embedding and subsequent maintenance cost in the study area was estimated at US\$139, 651 and US\$ 88, 999, respectively. Interpretation: Because 70% of maintenance clean-up cost would be recovered by revenue from recycling of the materials collected by the campaign and considerable avoidable cost of dengue patients, the maintenance of the clean-up activities would be sustainable.

P2-68 海外研修病院との連携による長崎大学熱帯医学修士課程の新たな試みー文科省「組織的な大学院教育改革推進プログラム(GPプログラム)『国際連携による熱帯感染症専門医の養成』」平成21年度採択事業ー

佐藤 光¹⁾, 中込 治²⁾, 有吉 紅也¹⁾, 平山 謙二¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所, ²⁾長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

プログラムの概要：長崎大学では、熱帯医学の知識、技術さらに研究を、国際環境下でのリーダーシップも持ちつつ行うことのできる医師の養成を目的とし、2006年、臨床経験2年以上の医師（日本人、外国人）を対象に熱帯医学専攻（修士課程）を開設した。しかし数年を経て、熱帯病の実際の新鮮症例を学ぶ機会が少ない、海外の熱帯病現場を足場にした研究活動の場がないという2つの課題が明らかとなった。これに対して、「オンライン臨床症例講義」および「海外臨床研修・研究」の2つを、フィリピンサンラザロ国立感染症病院（マニラ市）、ベトナムバクマイ病院感染症科（ハノイ市）との密な連携のもとに導入した。成果：導入により3点の成果を得た。（1）テレビ会議システムによるオンライン臨床症例講義：導入前は年平均8回、数年前の同一症例の反復利用もあったが、同プログラム導入の2年間は、症例提示は18回（うち16例は過去1－5ヶ月の間に上記2協力病院へ入院した症例）であった。実際に最近入院した患者について現地主治医が発表者となったことから、より身近かつ真剣に臨床事例に向かうことができた。（2）臨床経験値の増加：2010-11年度の2年間で計7名が最大4ヶ月間、上記

2協力病院での研究活動を行った。研究活動の一環として、3-4ヶ月にわたり定期的に病棟を訪問し、患者の診察、病歴聴取、同意を得ての研究用検体を採取する作業等を通して、臨床経験を深めることができた。(3) 研究経験値の増加：海外臨床研修・研究を終えた多くの学生が、「入学当初は臨床活動にだけ関心があったが、現場の医学的問題の解決につながる病態、疫学、治療に関する研究への意欲が高まった。」と述べ、博士課程進学した数が7名中4名(全員2協力病院での研究テーマを選択)となった。海外研修病院との連携を通し、研究分野での人材を輩出することがより可能になった。

P2-69 米国熱帯医学会の臨床熱帯医学研修および認定制度について

水野 泰孝

東京医科大学病院 感染制御部・渡航者医療センター

日本では熱帯医学の臨床を学ぶ機会がきわめて少ないが、米国熱帯医学会 (The American Society of Tropical Medicine and Hygiene;ASTMH) では臨床部門 (American Committee on Clinical Tropical Medicine and Travelers' Health)が中心となり、定期的な臨床熱帯感染症の講習会 (Intensive update course) の開催や認定制度 (Certificate program) を設けて、知識の習得と向上を目指している。今回私はASTMHのIntensive update courseとCertificate programを経験したのでその内容を紹介する。

Intensive update courseは毎年の米国感染症学会 (IDSA) に先駆けて開催され、2日間かけて寄生虫学を中心とした熱帯感染症の基礎的な内容や症例検討、トラベルワクチンや高地医学・潜水医学などの渡航医学関連のトピックまで多岐にわたる講義が行われる。認定試験のための講習会という位置付けのように理解されているが、実際は最新知識のアップデートとしても有用である。Certificate programは偶数年のASTMH meeting前日に認定試験として行われる。問題はマークシート方式200問、制限時間4時間半で、熱帯医学の基礎から臨床および渡航医学領域まで幅広く出題される。基準点を超えれば学会認定医 (CTropMed[®]) として登録される。

熱帯医学に興味を持つ臨床医が少なからず存在するものの、日本では知識を習得する場所や方法を見つけるのは困難である。このような背景を踏まえ、ASTMHのシステムを見習い、国内における研修システムの構築に寄与したいと考えている。

P2-70 フィリピン、マニラの国立感染症病院における中枢神経感染症の現状

北庄司 絵美¹⁾, Putong Nimfa²⁾, Dimaano Efren²⁾, 神白 麻衣子¹⁾, 鈴木 基¹⁾, Villarama Benito²⁾, 有吉 紅也¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 臨床感染症学分野, ²⁾San Lazaro Hospital, Metro Manila, the Philippines

中枢神経感染症は低～中所得国において、依然高い死亡・罹患率の原因である。臨床管理向上および公衆衛生学的介入のために、中枢神経感染症全体の概要を明らかにする事は不可欠である。本研究の目的は、フィリピンにおける中枢神経感染症の現状を記述する事である。2008年1月1日から2011年9月30日までにフィリピン首都マニラに位置する国立感染症病院であるサンラザロ病院に入院した、中枢神経感染症を疑われた全症例を対象とした。病院記録より入院時もしくは退院時に中枢神経感染症の診断がなされた患者および、全ての入院患者で中枢神経感染症を疑われ髄液検査を行った患者を抽出した。HIV病棟に入院している患者は除外した。解析の対象となった1264例中、最終診断で中枢神経感染症と診断されたのは937例であった。男性が多く (62%)、小児 (12歳以下) は43%であった。診断は臨床診断に基づいており、原因疾患は、結核性髄膜炎と狂犬病が最も多かった；

結核性髄膜炎312人(27%), 狂犬病217人(19%), 細菌性髄膜炎169人(15%), ウイルス性脳炎135人(12%)。死亡率は狂犬病では100%であり, これを除いた中枢神経感染症患者全体では238/703(33.9%)であった。187人(16%)の患者は, 入院時中枢神経感染症と診断されたが, 最終診断では異なっていた。その中では, 熱性痙攣や発作性痙攣が最も多くみられた。入院時は診断されていなかったが, 最終的に中枢神経感染症と診断された患者は131(11%)であった。その入院時診断では, 腸チフスやデング熱が最も多くみられた。髄液検査は277人(22%)で施行されていたが, 比較的遅い段階で施行されており, 細菌培養は全て陰性であった。このようなフィリピンにおける中枢神経感染症における疾患の分布は特徴的であり, 熱帯感染症が診断を難しくしているといえると考えられた。

P2-71 フィリピン, マニラ市の国立感染症病院に入院した肺結核患者に合併した細菌性肺炎に関する前向き研究

Prospective study of bacterial pneumonia co-infection among HIV-negative pulmonary tuberculosis patients, in San Lazaro Hospital, the Philippines

島崎 貴治¹⁾, Saludar Naomi Ruth D.²⁾, 鈴木 基¹⁾, 谷口 智宏^{1,3)}, Dimaano Efren M.²⁾, Villarama Jose Benito²⁾, 有吉 紅也¹⁾

¹⁾長崎大学 熱帯医学研究所 臨床感染症学分野, ²⁾サンラザロ病院, ³⁾沖縄県立中部病院

Background: The Philippines is ranked the 9th highest TB endemic country. In 2010, we conducted a retrospective chart review at a national infectious disease referral center for Metro Manila. The in-hospital TB mortality was extremely high as 37.5% (151/403). Bacterial pneumonia co-infection substantially increased the risk of in-hospital TB death (AOR: 4.53, 95% CI: 2.65 to 7.72). Our pilot study showed 42.4% (65/153) TB patients were positive for bacterial DNA based on multiplex PCR. **Objective:** To establish the etiological patterns of bacterial pneumonia among Pulmonary TB (PTB) patients and to explore the association between the in-hospital PTB deaths and bacterial pneumonia co-infection. **Methods:** A prospective observational study was conducted in the National Infectious Disease Hospital, Manila. Our target patients were all adolescents and adults who were suspected HIV-negative PTB and admitted to the TB ward from Dec 2012 through May 2013. Demographic and clinical information was collected. Sputum samples were tested for multiplex PCR detecting *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*. Primary outcome was mortality within 2 weeks after hospitalization. **Result:** A total of 874 patients were hospitalized and 508 cases submitted sputum specimens, of which 316 cases were eligible for the analysis. The median age of the patients was 48 years and 70% were male. 123 cases were AFB positive and 42 (34.1%) died, but of 193 cases who were AFB negative, 24 (12.4%) died (p=0.0001). **Conclusion:** We're currently conducting multiplex-PCR to reveal the etiological patterns of bacterial pneumonia among PTB and its impact on PTB mortality.

P2-72 アフガニスタンにおける小児肺炎の死亡率, リスク因子および肺炎球菌定着率に関する研究

Mortality, Risk factor and role of pneumococcal colonization among pediatric pneumonia cases in Mazar-e-Sharif, Afghanistan

Dhoubhadel Bhim Gopal¹⁾, Zabihullah Rahamani¹⁾, Ferogh Alhaj Abdul Rauf²⁾, Sahab Ahmad Shafiq²⁾, Rabi Alhaj Mirwais³⁾, Suzuki Motoi¹⁾, Yasunami Michio¹⁾, Yoshida Lay Myint¹⁾, Watanabe Kiwao¹⁾,

Ariyoshi Koya¹⁾

¹⁾ Department of Clinical Medicine, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University,

²⁾ Department of Paediatrics, Mazar-e-Sharif Regional Hospital, Mazar-e-Sharif, Afghanistan,

³⁾ Public Health Department, Balkh Province, Afghanistan

Background: Pneumonia is the leading cause of death among under-5 children. Afghanistan is said to have high mortality rate but no data has been published so far. Objective of this study is to determine mortality rate, risk factors for death and prevalence of nasopharyngeal colonisation of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* among pediatric pneumonia cases. **Methods:** A hospital based prospective study was conducted in Mazar-e-Sharif regional hospital from 24/12/2012 to 9/03/2013. Under-5 children who met the WHO criteria of pneumonia were recruited. Nasopharyngeal samples were tested for the three bacteria by multiplex PCR, and molecular serotyping and quantification of *S. pneumoniae* was done by nanofluidic real time PCR system. **Results:** A total of 639 children were recruited and nasopharyngeal samples were collected from 326 children. High mortality rate: 12.1% (75/639) was observed. Risk factors associated with death were: age less than 1 month (OR 11, 95%CI 3.3-36.3), unable to breastfeed (OR 6.1, 95%CI 6.1-17.2), cyanosis (OR 7.2, 95%CI 3.7-13.7), hypothermia (OR 30.4, 95%CI 3.3-276), hypoxia (OR 2.1, 95%CI 1.2-3.5), and acute malnutrition (OR 12.1, 95%CI 3.1-47.1). *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* were detected in 41.1%, 31.2%, and 22.7% respectively. PCV13 covered 38.1% of the prevalent serotypes. Pneumococcal load was higher in death cases than survived cases: 4.6 log₁₀/μL versus 3.1 log₁₀/μL (p=0.08). **Conclusions:** The mortality rate of pneumonia is high in Afghanistan, and ARI cases with the risk factors should be provided medical care with priority. Vaccination of PCV13 may reduce pneumonia cases.

P2-73 成田空港検疫所の健康相談室に来室した有症者の渡航期間に着目した特徴及び今後の課題

鈴木 裕子¹⁾, 藤井 誠²⁾, 飯塚 宏美¹⁾, 亀田 将司¹⁾, 中山 真由子¹⁾, 外崎 郁実¹⁾, 本馬 恭子¹⁾,
三宅 智³⁾

¹⁾厚生労働省 成田空港検疫所 検疫課,

²⁾厚生労働省 名古屋検疫所中部空港検疫所支所 検疫衛生課, ³⁾厚生労働省 成田空港検疫所 所長

目的

成田国際空港では、LCC運行や国際線増便など、その役割やニーズは、変革の時期を迎えている。本空港を利用する渡航者にとっては、航空会社や路線の選択肢が広がり、渡航先や渡航目的も今後さらに多様化することが考えられ、同時に感染症をはじめ、様々な健康問題リスクが増加することが懸念される。そこで、より効果的な検疫業務へ発展させるための基礎資料を得ることを目的とし、成田空港検疫所の健康相談室に来室した有症者の渡航期間や渡航先などの属性及び主症状等を分析し考察した。

対象

2011年7月～2012年6月に成田空港検疫所の健康相談室に来室した有症者3827人

方法

- 有症者を男女別に、滞在期間は5日ごと、年齢は10歳ごとに階層化し有病率を推定した。
- 滞在期間と主症状（発熱、下痢、倦怠感等）、推定感染地域等についてクロス集計し、 χ^2 乗検定を用いて有意差を検定した。
- 倫理的配慮：個人名・帰国日・搭乗便は削除し、個人が特定できないように配慮した。

結果

有症者は3,827人（日本人入国者10万人あたり46.8人）であり、男性54.8%、女性45.2%、年代は、20代37.2%、30代24.9%、40代12.6%であった。有症者の67%がアジアへ渡航しており、インド11.4%、インドネシア9.8%、タイ8.0%であった。主症状（複数回答）は、発熱56.0%、下痢52.7%、倦怠感45.9%、その他であった。渡航期間は6-10日間が42.7%、1-5日間が27.0%であった。

考察

日本人渡航者の59%は5日間以内の短期渡航者である一方、有症者の渡航期間は6-10日間が最も多かった。渡航期間が長くなれば慣れない環境下での健康被害や感染の機会が増えること、また短期渡航者は感染症等の潜伏期間内に帰国していることが考えられた。短期渡航者に対して、入国後の健康問題発生時の速やかな受診と渡航後相談が可能な医療機関などの情報提供が必要であることが示唆された。

P2-74 Social dimensions of response to HIV and AIDS : A study of Manila-based Filipino deaf college youth

Sasaki Tatsuro¹, Cambli Janice², Poquiz Shermalin³, Beduya Noel⁴, Maehara Yasuhiro¹

¹Department of Anesthesiology, National Center for Global Health and Medicine,

²De La Salle - College of St. Benilde, ³Department of Internal Medicine, The Medical City,

⁴Philippines Graphic Magazine

Though Philippines is a country with low HIV-prevalence, the 2010 U.N. Global AIDS Report shows an alarming 25% increase in HIV incidence in less than 10 years. According to the Philippine National AIDS Council, the 4,424 reported cases in 2009 is projected to become 46,505 by 2015. Despite the institution of a national policy on the prevention and control of AIDS since 1998, the Deaf youth remains to be one of the most marginalized stakeholders in HIV risk reduction due to society's general apathy for the sector. This research done in August 2013 is aimed at gauging their knowledge about HIV/AIDS. Data collection was facilitated by separate group discussions on HIV/AIDS with two self-contained classes of 30 sophomore and junior Metro Manila based Deaf College coed respondents aged 19-27. Their primary mode of communication is Filipino Sign Language. Major findings include that though Deaf youth starts engaging in sexual intercourse at ages 12-23, 60% find it embarrassing to buy condoms. Despite 100% affirmation of familiarity with HIV and AIDS, none knows exactly what these are. 13% believe they are curable while 37% are clueless. Aside from sex, majority answered HIV/AIDS can be transmitted through kissing, casual contacts, and dining with infected people, as well as air borne means. 80% personally know someone positive with HIV. Everyone manifested highly discriminatory attitudes towards them. Only one student went through voluntary HIV testing. After the discussion, 97% confessed being a little worried that they might already be infected.

著者索引 Author Index

S	：シンポジウム	Symposium
PL	：学会賞受賞講演	Awardees' lecture
Sem	：セミナー	Seminar
P	：一般演題（ポスター）	Poster presentation

【あ】

青木 康太郎 P2-12,P2-17
 青木 克己 P2-41
 秋山 泰 P2-54
 明田 幸宏 Sem-3,P1-67
 安達 圭志 P2-38
 荒井 俊夫 P2-40
 新川 武 P2-10,P2-11,
 P2-47,P2-48
 有吉 紅也 P1-07,P1-08,
 P1-26,P1-28,
 P2-06,P2-28,
 P2-29,P2-66
 P2-68,P2-70,
 P2-71

【い】

飯塚 宏美 P2-73
 猪飼 桂 P1-25
 池田 秀樹 Sem-1
 伊佐 睦実 P2-08
 石井 明 P1-54
 石上 盛敏 P1-43
 石田 貴士 P2-54
 石田 英和 P2-44
 石原 司 P2-55
 石丸 由佳 P1-50
 石山 亜紀 P2-58
 泉川 公一 P1-22,Sem-2
 磯沼 弘 P1-44
 一瀬 昭豊 P1-24
 一瀬 休生 P2-26,P1-01,
 P1-03,P2-33
 一盛 和世 P1-33
 井戸 栄治 P2-03
 伊東 真二 P2-55
 伊藤 壽啓 P1-18
 伊藤 啓史 P1-18
 伊藤 誠 P1-34,P1-36,
 P1-40,P1-41,
 P2-51
 伊藤 (高山) 睦代 P2-14
 稲岡 ダニエル健 P2-56,P2-55
 稲橋 佑起 P2-58
 井上 学 P2-26
 井上 信一 P2-46

井上 真吾 P1-09,P1-24,
 P2-17
 井上 昇 P2-34
 井上 将行 P2-56
 井上 愛美 P2-46,P2-50
 伊吹 謙太郎 P2-03
 今井 一男 P2-59
 今井 孝 P2-42,P2-44
 今井 智里 P1-63,P1-64
 今村 圭文 Sem-2
 伊従 光洋 P1-54
 岩下 華子 P1-55
 岩月 正人 P2-58

【う】

上里 博 P1-50
 上地 玄一郎 P2-07
 薄田 大輔 P1-28
 内田 玲麻 P1-14,P2-09,
 P2-13
 内海 孝子 P2-18
 鶴沼 直穂子 Sem-3
 宇野 有紀子 P1-18
 宇野 直輝 P1-32
 梅崎 昌裕 P1-25
 梅田 浩二 P1-02
 浦田 秀造 P1-21,P1-23

【え】

江島 啓介 P1-49
 遠藤 弘良 P1-44

【お】

大石 和徳 Sem-3,S6-01,
 P1-67
 大下 純 P2-58
 太田 伸生 P2-37,P2-40
 樗木 俊聡 P1-20
 大西 健児 Sem-3
 大野 一樹 P2-20,P2-21,
 P2-55
 大前 比呂思 P1-35,P1-68
 大村 智 P2-58
 岡 慎一 P2-02
 岡 真優子 P2-26,P2-27
 岡田 全司 P2-63

岡本 健太 P1-24,P2-09,
 P2-13,P2-19
 小熊 恵二 P1-02
 尾崎 弘一 P1-18
 長田 良雄 P2-38,P2-39
 押谷 仁 P2-16
 尾関 百合子 P2-26,P2-27
 乙黒 一彦 P2-58
 小原 博 P1-27,P1-66,
 P2-01
 折田 正弥 P2-20,P2-21,
 P2-55

【か】

甲斐 雅亮 P2-04
 垣内 五月 P2-14
 角 泰人 P2-30
 湯永 博之 P2-02
 加藤 健太郎 P2-41
 加藤 大智 P1-50
 金澤 保 P2-39
 金子 明 P1-62
 金子 修 P1-47,P2-50
 金子 聡 P1-37,P2-33,
 P2-67
 狩野 繁之 P1-43,P1-72
 椛島 力 P2-04
 亀田 将司 P2-73
 川合 覚 P1-40,P1-41,
 P1-42
 川島 歌織 P2-04
 川田 均 P1-52
 河津 信一郎 P2-34
 川名 明彦 P2-59
 川元 康嗣 P1-32
 神田 哲郎 Sem-1

【き】

菊池 三穂子 P1-10,P2-05,
 P2-36,P2-45,
 P2-49
 北 潔 P1-46,P2-56,
 P2-55
 北市 正則 P2-63
 北庄司 絵美 P1-28,P2-70
 木村 英作 P1-34
 切替 照雄 P1-27

桐木 雅史 P1-35,P1-68,
P2-34

【く】

久保田 智巳 P2-57,P2-55
熊谷 貴 P2-37,P2-40
倉永 健史 P2-56
倉根 一郎 P1-16,P2-14,
P2-59
栗原 慎太郎 P1-22,Sem-2
黒崎 陽平 P1-21
黒田 雅彦 P2-46

【こ】

小泉 信夫 P1-26,P1-28
神白 麻衣子 P1-28,P2-70
河野 茂 P1-22,Sem-2,
P1-32
河本 聡志 P1-01,P1-02,
P1-03
郡山 一明 S7-02
小谷 真吾 P1-25
兒玉 幸修 P2-49
後藤 健介 P2-67
後藤 康之 P2-34
小西 英二 P1-15
小林 治 S6-02
小林 和夫 P2-27
小林 潤 P1-43
小林 正規 P2-53
小林 信之 P1-19,P1-34,
P2-07
小林 富美恵 P2-46
小松谷 啓介 P1-46

【さ】

西條 政幸 P1-16
斉藤 美加 P2-08
齋藤 肇 P1-29,P1-30
齊藤 麻理子 P2-16
坂口 美亜子 P1-24
阪下 日登志 P2-57,P2-55
櫻田 紳策 P2-01
佐々木 均 P2-49
佐竹 暁子 P1-62
佐藤 昭裕 Sem-1

佐藤 光 P2-68
佐山 勇輔 P2-59
澤口 明日香 P1-54

【し】

柴田 健輔 P1-20
柴田 孝之 P2-04
島崎 貴治 P2-71
嶋田 聡 P2-12
嶋田 雅暁 P2-33
島田 瑞穂 P1-56
清水 理香 P2-32
下河原 理江子 P2-37,P2-40
朱 欽昌 P2-04
白須 紀子 P2-30
城谷 茜 P2-02
新宅 治夫 P2-25
神馬 征峰 P1-72

【す】

鈴木 基 P1-08,P1-28,
P2-70,P2-71
鈴木 克洋 P2-63
鈴木 重雄 P1-46
鈴木 裕子 P2-73
鈴木 亮介 P1-15
隅田 泰生 P2-36
須藤 カツ子 P2-39
砂塚 敏明 P2-58
砂原 俊彦 P1-24,P1-34,
P1-55,P2-33

【せ】

関 丈典 P2-37,P2-40
関 雅文 Sem-3,P1-67
関嶋 政和 P2-20,P2-21
勢戸 和子 P2-32
瀬戸 俊之 P2-25
千馬 正敬 P2-45

【そ】

蔣 宏偉 P1-41
曾田 公輔 P1-18
外崎 郁実 P2-73

【た】

高園 貴弘 Sem-2
高橋 究 P1-46
高橋 健介 P2-29,P2-66
高崎 智彦 P1-16,P2-14
高橋 延之 P1-44
高橋 宗康 P1-61
高橋 洋子 P2-58
高橋 里沙 P1-58,P1-59
高松 由基 P2-09,P2-13
武居 修 P2-23
竹内 壇 P1-67
竹村 太地郎 P1-04,P2-31,
P2-60
田崎 駿平 P2-08
田島 茂 P2-14
只野 昌之 P2-08,P2-10,
P2-11
橘 真由美 P2-47,P2-48
橘 裕司 P2-53
立石 善隆 P2-27
田所 聖志 P1-25
田仲 昭子 P2-56
田中 徹 P1-46
田辺 英紀 P2-55
谷 修 P2-55,P2-57
谷川 智洋 P1-37
谷口 孝喜 P1-01,P1-02,
P1-03
谷口 智宏 P2-71
田沼 順子 S6-03,P2-02
田福 宣治 P2-10,P2-11
玉城 和美 P2-08
玉城 志博 P2-48
玉田 耕治 P2-38
段 学鋒 P2-43

【ち】

千種 雄一 P1-35,P1-68,
P2-34
千葉 峻太郎 P2-20,P2-21

【つ】

塚本 美鈴 Sem-2
辻 孝雄 P1-02
都築 中 P1-52

角田 隆 P1-53
坪井 敬文 P2-47,P2-48
露口 一成 P2-63

【て】

寺尾 徹 P1-65

【と】

時沢 亜佐子 P1-04,P2-31,
P2-60
時政 定雄 P2-25
戸田 彩季 P2-25
飛永 祥平 P2-63
富田 万祐子 P1-01,P1-02
富塚 江利子 P1-25
朝野 和典 P1-67
鳥居 本美 P2-47,P2-48

【な】

内藤 俊夫 P1-44
内藤 裕一 P1-25
永井 泰子 P1-18
中江 進 P2-39
中口 義次 P2-32
中込 治 P1-05,P1-07,
P2-68
中込 とよ子 P1-05,P1-07
中澤 秀介 P1-40,P1-41,
P1-42
中島 元夫 P1-46
中村 造 Sem-1
中村 茂樹 Sem-2
中村 創 P1-29
中村 仁美 P2-66
中村 (内山) ふくみ Sem-3
中村 梨沙 P1-20,P2-38
中山 真由子 P2-73
風 幸世 P1-37,P2-33
南雲 盛親 P2-59
夏原 和美 P1-25
鍋島 武 P1-09,P1-17,
P1-24,P2-09,
P2-13,P2-17
生田目 一寿 P2-55,P2-57
奈良 武 P2-56

【に】

新倉 保 P2-46
新美 達也 P2-55
仁木 満美子 P2-26
西浦 博 P1-49
西園 晃 P1-06,P2-65
西湖 光昭 P2-32
西村 典孝 P1-32
西本 太 P1-41

【の】

野入 英世 P2-51

【は】

萩原 陽介 P2-20,P2-21,
P2-55
橋口 義久 P1-50
橋爪 真弘 P1-63,P1-64,
P1-65,P2-29
橋本 哲 P2-56
蓮実 梢 P2-54
長谷川 慎 P2-23
長谷川 寛雄 P1-32
長谷部 太 P1-17,P1-52,
P2-09
秦 亮 P2-24
蜂谷 敦子 P2-02
羽石 弓子 P1-27
馬場 淳 P1-25
濱口 重人 P1-67
濱口 杉大 P1-26
濱野 真二郎 P1-37,P2-26,
P2-33,P2-38
早坂 大輔 P1-22,P2-12,
P2-13,P2-17
林 清二 P2-63
林 尚子 P1-35,P1-68
林 昌宏 P1-16,P2-14
林 祥剛 P2-18
原國 哲也 P2-10,P2-47,
P2-48
原田 繁春 P2-56
原田 陽介 P1-32
春山 貴弘 P2-07
伴 兼弘 P2-54

【ひ】

彦坂 健児 P1-46
久枝 一 P2-42,P2-43,
P2-44
久岡 英彦 P1-44
菱田 沙裕理 P1-30
平山 謙二 P1-10,P1-11,
P1-13,P1-34,
P1-38,P2-05,
P2-36,P2-45
P2-49,P2-53,
P2-68
平山 幸雄 P2-27
平山 隆則 P2-01
広川 貴次 P2-57,P2-55
廣瀬 友靖 P2-58

【ふ】

藤井 誠 P2-73
藤井 仁人 P1-37
藤倉 雄二 P2-59
藤田 恵 P1-50
藤吉 里紗 P1-54
二見 恭子 P1-55
古川 功治 P2-57,P2-55
古田 隆久 P2-05

【ほ】

外間 沙里菜 P1-42
堀田 こずえ P1-18
堀田 博 P2-18
本城 慶多 P1-62
本田 靖 P1-64
本坊 和也 P2-55,P2-57
本間 季里 P2-45
本間 光貴 P2-56
本馬 恭子 P2-73

【ま】

前倉 亮次 P2-27
前田 卓哉 P2-59
前田 直良 P1-20
前野 芳正 P1-01,P1-03,
P1-40,P1-41,
P1-42

益田 岳 P1-57
 松井 太衛 P1-02
 松岡 茂 P2-56
 松岡 裕之 P1-54,P1-56
 松田 淳一 P1-32
 松田 尚樹 P1-38
 松田 肇 P1-35
 松本 敏 P2-40
 松本 厚子 P2-58
 松本-高橋 エミリー P1-43,P1-72
 松本 壮吉 P2-25,P2-26,
 P2-27,P2-33
 松本 昂 P1-06,P2-65
 松本 哲哉 Sem-1
 松本 充生 P2-63

【み】

三浦 左千夫 P2-59
 三浦 雅史 P1-37
 三浦 光政 P2-41
 三木田 馨 P2-59
 三沢 和央 P2-59
 水本 憲治 P1-49
 美田 敏宏 P1-44
 三高 隼人 P2-50
 三井 孝広 P1-06
 三井 義則 P2-41
 皆川 昇 P1-52,P1-53,
 P1-55,P1-62
 源 不二彦 P2-30
 峯尾 松一郎 P2-46
 水野 泰孝 Sem-1,P2-69
 三森 龍之 P1-50
 宮川 雅美 P2-06
 三宅 智 P2-73
 宮田 健 P2-10,P2-47,
 P2-48
 宮原 麗子 P2-66

【む】

村井 謙治 P1-44
 村田 美香 P1-32

【も】

門司 和彦 P1-41
 本村 和嗣 Sem-3

本村 秀樹 P2-06
 森 亨 P2-30
 森 安義 P1-41,P2-30
 森 康介 P2-23
 森内 浩幸 P2-06
 森岡 翠 P1-33
 守口 匡子 P1-02
 森田 彩子 P1-25
 森田 公一 Sem-2,P1-09,
 P1-12,P1-14,
 P1-17,P1-22,
 P1-24,P2-05
 P2-09,P2-12,
 P2-13,P2-17,
 P2-19,P2-22,
 PL-01
 森永 芳智 Sem-2,P1-32

【や】

矢ヶ部 良太 P2-04
 安尾 信明 P2-21
 安田 二郎 P1-21,P1-23
 安波 道郎 P2-05,P2-06,
 P2-66
 柳 哲雄 P2-45,P2-49,
 P2-53
 柳原 克紀 Sem-2,P1-32
 矢野 嘉彦 P2-18
 矢幡 一英 P1-47
 八尋 隆明 P1-06,P2-65
 山岡 昇司 P2-03
 山口 幸恵 P2-14
 山口 類 P2-10
 山口 智彦 P2-55,P2-57
 山崎 和彦 P2-57,P2-55
 山下 俊一 S7-01
 山城 哲 P1-04,P1-18,
 P2-31,P2-60
 山田 清太郎 P2-11
 山田 久方 P1-20
 山中 敦史 P1-15
 山邊 将史 P2-37
 山本 大介 P1-56
 山本 太郎 P1-49,P1-61,
 P2-24,P2-30,
 P2-63,P2-64
 山本 倫久 P1-67

【ゆ】

由井 克之 P2-45,P2-49

【よ】

余 福勲 P1-17,P1-22,
 P2-22
 吉開 泰信 P1-20
 吉田 志緒美 P2-63
 吉田 栄人 P1-54
 吉田 美紀 P2-30
 吉田 レイミント P1-07,P1-08,
 P1-26,P2-06,
 P2-28,P2-29,
 P2-66
 吉野 龍ノ介 P2-21

【わ】

若尾 雅広 P2-36
 和久田 光毅 P1-03
 和田 昭裕 P2-23
 和田 崇之 P1-61,P2-63,
 P2-64
 渡辺 貴和雄 P2-29,P2-28
 渡邊 健 P1-19
 渡辺 恒二 P2-02
 渡辺 俊博 P2-55
 渡辺 直熙 P2-05
 渡邊 治雄 P2-14
 渡部 久実 P1-43
 渡邊 浩 P2-24
 渡邊 峰雄 P1-29,P1-30
 割鞘 雅一 P2-55,P2-57

【サ】

サトウ 恵 PL-02

【シ】

ジャンモ サンゲイ P1-06
 ショフィカー ラーマン
 P1-02

【ツ】

ツエリン キンレイ P1-06

【テ】

デン ヅク アン P1-08

【ト】

ドルジ ツエリン P1-06

【ヌ】

ヌエン ヒエンアン P1-08

ヌグエン ・バン・サー
P1-02

【バ】

バログン エマニュエル
P1-46

【リ】

リ フー ト P1-08

リ マイ P1-18

【ワ】

ワンチュク ソナム P1-06

【A】

A.Villacorte Elena P1-72

Abdul Aziz Djamal P2-32

Agbosu Esinam P2-03

Ahmed Kamruddin P2-65,P1-06

Alonzo Maria Terrese P1-12

Amin Mochamad P2-18

Ampofo William P2-03

An Khac Huy P2-62

Anderson Suzanne P1-60

Angela Dos Santos Ramos Jose Da Costa
P2-52

Angeles Jose Ma. P2-34

Anh Dang Dug P1-31

Anh Nguyen Hien P1-31,P1-08

Anjali Bilkis Ara P1-63

Antoinette A.Grobbelaar
S5-03Apondi Ernest, Wandera
P1-03

Archer Brett S5-03

Artaria Tjempakasari P2-18

Aung Kyaw Kyaw P2-17

Aziati Ishmael P2-03

【B】

Bam Dirgh P2-01

Beduya Noel P2-74

Behzad Nadjm S3-05

Bottomley Christian P1-60

Brooks W. Abdullah P1-63

Bumduuren Tuvshintulga
P1-48

【C】

C. Ribaya Victoria P2-65

C. Suarez Lady-Anne P1-09

Calistus Wilunda P1-59

Cambli Janice P2-74

Cao Minh Thang P1-13

Cao Thi Hong Nhung P1-13

Cao Thi My Nhon P1-13

Cao Thi Phi Nga P1-11,P2-05

Chadeka Evans P2-33

Char Meng Chour P1-35,P1-68

Chaves Luis Fernando P1-65,P1-62,
P2-33,P1-51

Cheong Hae-Kwan P1-64

Cherif Mahamoud Sama
P2-49,P2-36

Chia-Kwung Fan P2-52

Chien-Wei Liao P2-52

Chuang Ting-Wu P2-15

Chung Yeonseung P1-63

Corazon C. Buerano P1-09,P2-13

Culleton Richard P1-40,P1-42,
P2-50

【D】

Dang Thi Dinh P1-17

Dang Anh Duc P1-07,P1-04,
P2-28,P2-29,
P2-66,P2-06

Dang Thi Thu Thao P2-09

Daniel G. Colley S2-02

DeLoer Sharmina P2-51

Deng Changsheng S2-03

Dewan Ashraf P1-63

Dhoubhadel Bhim Gopal
P1-31,P2-72

Diep The Tai P2-62

Dimaano Efren P1-28,P2-70,
P2-71

Dinh Ha Duy Thuy P1-10

Do Duc Luu P1-04,P2-61

Do Kien Quoc P1-13

Do Thien Hai P2-09

Doan Yen Hai P1-05

Duc Tuan Dinh P2-13

Duong Sochet P1-68,P1-35

【E】

Eamudomkarn Chatanun
P1-36,P2-51

Edmunds John P2-29

Eiji Konishi S4-01

Ekisariyaphorn Rattthakhet
Sem-3

Ernest Wandera P1-01

Espada-Murao Lyre Anni
P1-14

Eum Jinhee P1-64

【F】

F. Natividad Filipinas P1-09,P1-24,
P2-65

Faruque Asg P1-65

Feng Meng P2-53

Fengthong Taypasavanh
P1-64

Ferdinand Adungo P1-22,P2-22

Feroqh Alhaj Abdul Rauf
P2-72

Ferreira Pedro E P1-42,P1-47

Flasche Stefan P2-29

Fuxun Yu P2-13

【G】

G. Alonzo Maria Terrese
P1-09

Gabriel O Dida P1-55

Gauchan Punita P1-05,P1-07

George Sonye P1-55
Gomez Eduardo A. P1-50
Goswami Doli P1-63

【H】

H. Guillermo Posadas P1-24
Ha Manh Tuan P1-11
Ha Van Thieu P2-62
Hahn Beatrice P1-42
Hakimi Hassan P2-34
Harry Fajtri Zisoni P2-32
Hermann Feldmeier S1-03
Hideki Tani S5-01
Hitoshi Oshitani S3-02
Hongvanthong Bouasy
P1-43
Howard Engers S1-01
Huffman Michael P1-42
Hunt Paul P2-50
Hussein Abkallo P1-42,P2-50

【I】

Igarashi Ikuo P1-48
Illingworth Chris P2-50
Istimagfiroh Anittagwa
P2-18

【J】

Javier Zamora P1-10
Jetsumon Sattabongkot
P2-47
Jiraporn Sithithaworn P1-69
Jochim Ryan C. P1-50
Jongwutiwes Somchai P2-53
Juniastuti P2-18
Juntra Karbwang S1-02,P1-11,
P1-38,P2-49,
P1-39
Justin Yombo K. Dan P2-33

【K】

Kalenda Yombo Dan J P2-35
Kannagara K.B. P2-67
Karhemere Stomy P2-03
Kayumba Joseph P2-03

Kazuyo Ichimori S2-01
Kentaro Kato P2-35
Kesara Na-Bangchang S1-02,P1-39
Kho Weon-Gyu P1-45
Kim Clara Tammy P1-64
Kim Ho P1-63,P1-64
Kim Jinseop P1-64
Kim So-Hee P1-45
Kim Yoohnee P1-64
Koenraad Constantianus
S4-02
Koonrunsesomboon Nut
P1-39
Koya Ariyoshi P1-31,P2-72
Kulhida Kopolrat P1-70
Kyaw Zin Thant P2-17

【L】

Lacuesta Talitha P1-28
Lam Quoc Bao P2-45
Lamsal Aashis P2-15
Laymyint Yoshida S3-03
Le Chi Thanh P1-13
Le Huu Tho P2-66
Le Minh Nhat P1-08
Le Nghia P1-52
Le Thi Quynh Mai P1-17
Lee Ga-Young P1-45
Lee Han-Na P1-45
Lemoine Maud P1-60
Leonardo Lydia R. P2-34
Li-Hsing Chi P2-52
Lin-Wen Lee P2-52
Liu Yi P2-15
Lochoro Peter P1-59
Lui Weimin P1-42
Luis F Chaves P1-55
Luisa G. Daroy Maria P2-65
Luong Chan Quang P1-13
Lupisan Socorro P2-16
Lusida Maria I P2-18
Luxana Laithavewat P1-71

【M】

Machand Ron P P1-40
Maehara Yasuhiro P2-74

Makau Juliann Nzambi
P1-19
Manenti Fabio P1-59
Martinelli Axel P2-50
Mbanefo Evaristus Chibunna
P2-36
Medado Inez Andrea P2-16
Mercado Edelwisa P2-16
Mihoko Kikuchi P1-13
Minh Le Nhat P1-31
Moi Meng Ling P1-16
Moon Chi-Sook P1-45
Morimoto Konosuke P1-31
Mukedi Joachim-Massa
P2-03
Mulholland Kim P2-29
Muth Sinuon P1-35,P1-68
Muyembe Jean-Jacques
P2-03
Mwau Matilu P1-37
Mya Myat Ngwe Tun P2-12,P2-17

【N】

Na-Bangchang Kesara P1-38
Nadda Kiatsopit P1-70
Naoto Ito S5-02
Natividad Filipinas P1-12
Ngo Chi Cuong P1-26
Nguyen Conh Khanh P2-60
Nguyen Binh Minh P2-61
Nguyen Co Thach P1-17
Nguyen Cong Khanh P1-04
Nguyen Hien Anh P2-28,P2-29
Nguyen Hoang Vu P2-62
Nguyen Quang Truong
P1-13
Nguyen Thanh Hong Thao
P1-11
Nguyen Thi Mai P1-13
Nguyen Thi Phuong Lan
P1-11,P1-13,
P2-05,P2-61,
P2-62
Nguyen Thi Thu Hong
P2-62
Nguyen Thi Tuyet P2-09

Nguyen Tien Huy P1-10,P2-49,
P1-11,P1-13,
P2-05,P2-36,
P2-45
Nguyen Tran Chinh P2-02
Nguyen Trong Noi P2-62
Nguyen Tuyen Quang P1-40
Nguyen Van Thuong P1-13
NguyenVan Trang P1-04,P2-61
Nguyen Van Vinh Chau
P2-02
Ngwe Tun Mya Myat P1-09
Njie Ramou P1-60
Nonglak Laoprom P1-70
Nyan Ousman P1-60
Nzou Samson P1-37

[O]

Owiny Vincent P1-59

[P]

Paiboon Sithithaworn P1-69,P1-70,
P1-71
Pain Arnab P2-50
Pandey Kishor P1-47
Panditharathne Nugegoda Gabadage Sujeewa
P2-67
Park So-Jung P1-45
Pattanawong Urassaya
P2-53
Paul Brey P1-43
Paweska Janusz T S5-03
Petrus Jansen Van Vuren
S5-03
Pham Duc Tho P2-60
Pham Hoai Linh Ly P1-17
Pham Thanh Thuy P1-26
Phan Thi Thanh Nga P2-09,P1-11
Phompida Samlane P1-43
Phu Bui P1-52
Plengsuriyakarn Tullayakorn
P1-38
Pokhrel Bharat P1-27
Poquiz Shermalin P2-74
Pranawa Aditiawardana
P2-18
Puangrat Yongvanit P1-71

Putaporntip Chaturong
P2-53
Putong Nimfa P2-70
Putoto Giovanni P1-59

[R]

R. Matias Ronald P1-09
Rabi Alhaj Mirwais P2-72
Rathnapala Upeksha P1-34
Reza Mohamad P1-56
Rinonce Hanggoro T P2-18
Ruenweerayut Ronnatrai
Sem-3

[S]

Sabally Saihou P1-60
Sahab Ahmad Shafiq P2-72
Salama Akram P1-48
Saludar Naomi Ruth D. P2-71
Samad Sohel Mohammad
P2-51
Sasaki Tatsuro P2-74
Satoh Megumi P1-41
Sattabongkot Jetsumon
P2-48
Shah Mohammad, Monir
P1-03
Shalekof Sharon S5-03
Sherchan Jatan P2-01
Sherchan Jeevan P2-01,P1-27,
P1-65
Shin Jeong-Hwang P1-45
Shinjiro Hamano P2-35
Shrestha Ram P1-27
Shuaibu Mohammed Nasir
P2-36,P2-45,
P2-49
Shwen Ho Y P2-50
Siripanich Sangchom P1-58
Sithithaworn Jiraporn P1-36
Sithithaworn Paiboon P1-36
Sivakumar Thillaiampalam
P1-48
Soetjipto P2-18
Song Jianping S2-03
Sripa Banchob P1-36
Streatfield Kim P1-65

Suzuki Motoi P1-31,P2-72
Sy Ava Kristy P2-16
Sydney N. Fajardo Lindsay
P2-65

[T]

Takao Yuki P1-60
Takemura Taichiro P2-61,P2-62
Takeshi Nara P2-52
Tandoc Amado P2-16
Thein Tun Linn P1-58
Thewarach Laha P1-69
Thi Tar P2-17
Thi Thu Thuy P1-17
Thidarut Boonmars P1-69
Tho Le Hoo P1-31
Tho Le Huu P2-06
Thongaree Siriporn P2-53
Thursz Mark P1-60
Tiengkham Pongvongsa
P1-41
Tin Myint P2-17
Tokizawa Asako P2-61,P2-62
Tongol-Rivera Pilarita P1-72,P2-34,
PL-03
Tran Anh Thi Lan P1-07
Tran Chi Cuong P1-53
Tran Duc Dong P1-53
Tran Thi Ngoc Ha P1-11,P1-13,
P2-05
Tran Thi Thuy P1-11,P2-05
Tran Tinh Hien P1-10
Tran Ton P1-13
Tran Van Giang P1-10
Tran Van An P1-13
Tran Van Dat P1-11
Tran Vu Phong P1-53,P1-52
Trinh Xuan Mai P2-66

[U]

U. Angluben Ray P1-72
Ulanday Gianne P2-19

[V]

Valenzuela Jesus G. P1-50

Vasquez Velasquez Clara Alejandra P2-05
 Wilfrido Gil P2-52
 Villacorte Elena A. P2-34
 Villarama Benito P1-28,P2-70,
 P2-71
 Vo Dinh Tham P2-05
 Vo Minh Quang P2-02
 Vo Van Tuong P1-11
 Vu Dinh Thiem P2-60,P1-04,
 P2-61,P2-66
 Vu Thi Huong P2-28
 Vu Thiem Dinh P1-07
 Vu Duoc P1-52
 Vu Thi Bich Hau P1-04
 Vu Thi Que Huong P1-11,P1-13,
 P2-05
 Vu Thien Thu Ngu P1-13
 Vu Van Chuyen P1-04
 Vu Van Thuyen P2-61

【Z】

Zabihullah Rahamani P2-72,

【W】

Wahyuni Rury M P2-18
 Wang Ting P2-53
 Watanabe Kiwao P2-72
 Weerasoriya Mirani V P1-34
 Wilunda Calistus P1-58,P1-59
 Wimberly Michael P2-15

【Y】

Yahathugoda T Channa P1-34
 Yamaguchi Takashi P1-60
 Yamashiro Tetsu P2-61,P2-62
 Yasunami Michio P1-31,P2-72
 Yasuyuki Goto P2-35
 Ying-Chieh Huang P2-52
 Yokoyama Naoaki P1-48
 Yoshida Lay Myint P1-31,P2-72
 Yoshito Fujii P2-35
 Yoshiyuki Nagai S3-01
 Yu Chuanxin P2-36
 Yu Fuxun P1-24
 Yueh-Lun Lee P2-52
 Yunus Md P1-65
 Yusuke Shimakawa S3-04,P1-60
 Yu-Tai Chang P2-52