

# 抄録 Abstract

基調講演

Keynote lecture

シンポジウム

Symposium

学会賞受賞講演

Awardees' lectures

一般演題（ポスターセッション） Poster presentation

ワークショップ1、2

Workshop



## ● 基調講演

**K-01 Innovation for Global Health Catalyzed by GHIT**

BT Slingsby

Global Health Innovative Technology Fund

Drugs, diagnostics, and vaccines are extraordinarily expensive to develop. For-profit companies have the experience, expertise, and infrastructure to develop and manufacture these products, but because target populations are unable to pay for them, companies take on immense risk when investing in research and development (R&D) related to malaria, tuberculosis, and NTDs. Government and research institutions are critical investors and partners, often supporting or undertaking research, but they lack the infrastructure and resources to successfully champion the development and delivery of final products. As a result, traditional market mechanisms alone do not produce the global health innovation we need.

The Global Health Innovative Technology Fund (GHIT Fund) filled a critical gap in Japan's ambition to leverage unique domestic resources and capabilities to move the dial on global health R&D. As the world's first public-private partnership (PPP) fund for global health R&D, the GHIT Fund facilitates international collaborations that bring Japan's innovation, investment, and leadership to the global fight against infectious diseases and poverty in the developing world. As both an international organization and a Japanese public interest corporation, GHIT catalyzes the creation of critically needed drugs, vaccines, and diagnostics to combat the crushing burden of infectious disease that prevents hundreds of millions in the developing world from seeking the level of prosperity and longevity now common in the industrialized world.

GHIT's nature as a PPP -manifested in how it is funded, governed, as well as how it invests- is critical to its success. By serving as a matchmaker between public- and private-sector actors, the GHIT Fund enables all partners to capitalize on their unique strengths in R&D and effectively address the diseases that affect one out of every seven people on earth and kill millions every year.



# Symposium

**November 10 (Sat) 10:00 – 12:30**

記念講堂

**Commemoration Hall**



## ●Symposium November 10

**S1-01 The Indian Ocean link to malaria incidences in South Africa and development of a climate based early warning system**

Behera Swadhin<sup>1)</sup>、Ikeda Takayoshi<sup>2)</sup>、Morioka Yushi<sup>3)</sup>、Tsuzuki Ataru<sup>4)</sup>、  
Hashizume Masahiro<sup>5)</sup>、Kruger Philip<sup>6)</sup>、Mabunda Qavanisi<sup>7)</sup>、Maharaj Rajendra<sup>8)</sup>、  
Sweijd Neville<sup>9)</sup>、Minakawa Noboru<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>JAMSTEC Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, Kanagawa, Japan,、<sup>2)</sup>Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, Yokohama, Japan,、<sup>3)</sup>JAMSTEC, Yokohama, Japan,、<sup>4)</sup> Nagasaki University, Nagasaki, Japan,、<sup>5)</sup>Nagasaki University, School of Tropical Medicine and Global Health, Nagasaki, Japan,、<sup>6)</sup>Limpopo Department of Health, Tzaneen, South Africa,、<sup>7)</sup>Malaria Control Center, Tzaneen, South Africa,、<sup>8)</sup>MRC, Durban, South Africa,、<sup>9)</sup>Applied Center for Climate and Earth Systems Science, Cape Town, South Africa

Malaria poses a great challenge for the sustenance of good public health and human wellbeing in many parts of the world. Apparently, the anthropogenic global warming has expanded the spatio-temporal coverage of the disease; incidences are now reported beyond tropics and in non-endemic seasons. This emerging trend of climate change has increased the malaria risk factor for millions more across the globe. While global warming remains a key factor to address the future adaptations and mitigation measures against the disease outbreaks, the existing association between climate and malaria prevalence needs careful observations and analyses. Such a climate association is investigated here with the available malaria case counts in the northeastern province of Limpopo in South Africa. It is found that the regional variations in seasonal rainfall and temperature, that primarily control mosquito population and thereby infection rates, are linked with a basin-scale climate phenomenon manifested as a dipole pattern in the interannual anomalies of sea surface temperature (SST) of southwestern Indian Ocean. In addition to the year-to-year variations, partly related to the basin warming, a decadal shift in the SST dipole pattern, together with a decrease in seasonal rainfall, leads to decreasing number of case counts in Limpopo during recent years as indicated by the malaria records. Based on these and some other analysis results obtained in a project under the SATREPS framework, an early warning system is developed for the affected regions of Limpopo province. The early warning system uses the observed relationships and advanced machine learning techniques to predict the probability of above normal malaria incidences in Limpopo. The obtained results will be presented and discussed.

## **S1-02 Evaluation of a nation-wide implementation of web based disease surveillance system at hospitals in Kenya**

Toda Mitsuru<sup>1)</sup>, Dejan Zurovac<sup>2,3,4)</sup>, David Kareko<sup>5)</sup>, Lyndah Makayotto<sup>5)</sup>, Matilu Mwau<sup>6)</sup>, Morita Kouichi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Nagasaki University Institute of Tropical Medicine, <sup>2)</sup>Kenya Medical Research Institute Wellcome Trust Research Programme, <sup>3)</sup>University of Oxford (Nuffield Department of Clinical Medicine), <sup>4)</sup>Boston University School of Public Health, <sup>5)</sup>Ministry of Health, <sup>6)</sup>Kenya Medical Research Institute

### **Background**

A strong health information system is crucial for a country to monitor trends and to improve health outcomes. We piloted mSOS, a text messaging based reporting system, in 2013-2014 and a cluster randomized controlled trial showed it enhanced timely notification in Kenya. The system was scaled-up as mSOS/IDSR, a web-based disease surveillance solution, in 2016 and it allowed disease surveillance focal persons at local health facilities to report notifiable diseases directly to their sub-county, county, and national authorities using their laptop and or smart phones. This study examined the changes in reporting rates before and after the implementation of mSOS/IDSR in Kenya.

### **Methods**

Data were extracted 26 weeks before and after mSOS/IDSR training implementation. Data pre-implementation (8<sup>th</sup> week to 33<sup>rd</sup> week of 2016) and post-implementation (44<sup>th</sup> week to 52<sup>nd</sup> week of 2016, and 1<sup>st</sup> week to 17<sup>th</sup> week of 2017) were extracted from an electronic system managed by the Ministry of Health. We conducted a univariate analysis and estimated odds ratios for the associations between reporting rates and various factors.

### **Results**

In the pre-mSOS/IDSR implementation period, 16% did not send any reports and none reported all 26 weeks. In the post-mSOS/IDSR implementation period, 7% did not send any reports and 11% sent reports every week. Out of 20,072 reports that were supposed to be sent 26 weeks before and after implementation, reporting rates improved from 57% to 66% (9%,  $p < 0.01$ ). Similar improvements were shown in each category of the hospital in respect to size, ownership, and location ranging from 7% to 17% improvement.

### **Conclusion**

The study evaluated whether the deployment of a mobile phone disease surveillance system to health workers in Kenya can improve reporting rates. Results showed there was moderate improvement in overall reporting rates across all health facilities in the study.



### S1-03 地球環境ビッグデータプラットフォームDIASの熱帯医学分野への活用

生駒 栄司

東京大学 地球観測データ統合連携研究機構

昨今の観測技術の進歩に伴い、地球のさまざまな面を観測した多種多様かつ膨大なデータが取得・蓄積されつつある。また、観測データを基にしてシミュレーション等の計算を実施し、人工的に生成されたデータはそれを遥かに上回るペースで増大している。これら所謂「地球観測ビッグデータ」の利用基盤として、我々はこれらを対象としたデータ統合・解析システム(Data Integration and Analysis System:DIAS)の開発と運用を行っている。DIASは地球規模／各地域の観測で得られたデータを収集、永続的な蓄積、統合、解析するとともに社会経済情報などとの融合を行い、地球規模の環境問題や大規模自然災害等の脅威に対する危機管理に有益な情報へ変換、国内外に提供することにより、我が国の総合的な安全保障や国民の安全・安心の実現に資することを目的としたシステムである。国際的にも全球地球観測システム(GEOSS: Global Earth Observation System of Systems)に参加する世界各国のデータセンターとの接続を実現しており、GEOSSへの国際貢献としても位置付けられています。さらに、現在、科学技術ファウンディング機関の会合であるベルモントフォーラムで取り組まれている学際的・超学際的協働に必要な情報基盤(e-Infrastructure)の検討作業において、DIASは最も包括的に取り組んでいる先進事例と評価されています。このDIASは2016年から文部科学省委託事業として更なる進化を遂げ、25PBを超えるストレージ基盤と2000コアを超える計算ノードを備え、国立情報学研究所の運営する100Gbps高速学術ネットワークSINET5に直結した、世界有数の超大規模地球環境情報プラットフォームとして運用が行われています。本プラットフォームはリアルタイムデータを含む膨大な地球観測データと様々なツール群を備えた開発運用環境であり、これまでも気象・気候、水、都市、防災、農業、生物多様性、健康、エネルギー等多様な分野で社会課題解決に貢献するアプリケーションが開発され運用されてきている。本発表では昨今のビッグデータおよびITの潮流を概説するとともに、これらDIASの概要と代表的なサービス・アプリケーションを紹介、熱帯医学会への適用可能性とその将来展望について述べる。

### S1-04 Serological surveillance system for multiple tropical infectious diseases using simultaneous microsphere-based multiplex assays and satellite images

金子 聡<sup>1)</sup>、サムソン ムウオ<sup>2)</sup>、マチル ムワウ<sup>2)</sup>、柴崎 亮介<sup>3)</sup>、大平 亘<sup>3)</sup>、宮崎 浩之<sup>3)</sup>、  
多賀 優<sup>1)</sup>、森保 妙子<sup>1)</sup>、濱野 真二郎<sup>1)</sup>、平山 謙二<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学熱帯医学研究所、<sup>2)</sup>ケニア中央医学研究所、<sup>3)</sup>東京大学空間情報科学研究センター

The burden of Neglected Tropical Diseases (NTDs) in Africa remains unclear since there is no functional and systematic mechanism to monitor them. As they affect communities chronically, a mechanism that can determine the infection status “communities”, the so-called “community diagnosis” system is vital for systematic monitoring of NTDs. Furthermore, the geographical distributions of several infectious diseases are overlapping in most of the endemic areas, especially in African regions; therefore, a multiple and simultaneous monitoring system of several infectious diseases would be preferable under the condition of limited budgetary and human resources monitoring should be conducted continuously. From an epidemiological point of view, antibody prevalence to target pathogens is effective for long-term monitoring and surveillance for chronic infectious diseases like NTDs. However, a simple and practical seroprevalence survey system for multiple infectious diseases has not been established to date. A project has been operated to develop a microsphere-based multiplex immunoassay system to provide multiple monitoring of several infectious diseases simultaneously, by AMED grant. Currently, multiple and simultaneous

serological assays (IgG) for thirty antigens are possible for ten tropical infectious diseases, consisting of mainly neglected tropical diseases. Furthermore, a blood sampling system in local areas for serological surveillance is essential, however, the residential registration system is not well managed in African areas. To make us conduct random sampling in such areas, we developed an automatic house-structure detection program using satellite images, which enable us to randomly select house structures in the survey areas. In this session, we will present the progress of the system developments with some examples. In addition to describing seroprevalence in survey areas, the serological data obtained from the simultaneous serological monitoring system can be modified to generate prevalence or risk maps of the target infections when integrated with using remote sensing data from satellites and population data. This final output of our system can be used for the monitoring and evaluation of NTDs. A microsphere-based multi-serological assay system can provide an opportunity to comprehensively grasp epidemiological features for tropical infectious diseases.

## **S2-01 Toward the control of viral zoonoses: Our SATREPS activity in Africa**

高田 礼人  
北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター

Aiming at understanding the ecology of zoonotic viruses, we collected biological samples from wild animals, livestock, humans, and arthropods for investigation of virus infections in Zambia (SATREPS project supported by AMED/JST and JICA). We have successfully isolated a novel bat-derived adenovirus and paramyxovirus, which are now being analyzed genetically and biologically. It is worthy to note that Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and other bunyaviruses were detected in ticks for the first time in Zambia, emphasizing the need for active surveillance of viral hemorrhagic fever in this country. Influenza A viruses with many different subtypes were isolated from fecal samples of wild aquatic birds, providing fundamental information on the ecology of avian influenza viruses in Africa. Furthermore, we have detected filovirus- and bunyavirus-specific antibodies in serum samples collected from wild and/or domestic animals. In addition, we were concurrently trying to improve Ebola virus disease (EVD) diagnostic techniques and developed a rapid diagnosis kit (QuickNavi-Ebola) in collaboration with DENKA SEIKEN Co., Ltd. and confirmed its sensitivity and specificity using ebolavirus-infected animal and human materials. Now this rapid diagnosis kit is being used in the Democratic Republic of the Congo and has contributed to EVD diagnosis during the outbreaks in 2017 and 2018.

## **S2-02 Cohort studies on infectious diseases in the Philippines for establishing future strategies**

Oshitani Hitoshi  
Tohoku University Graduate School of Medicine

Tohoku University Graduate School of Medicine established a collaborative research center at the Research Institute for Tropical Medicine (RITM) in the Philippines in 2008. Since then, we have been conducting various researches on infectious diseases, which include clinical, epidemiological and basic researches. Currently, we are mainly focusing on community-based cohort studies. Two main cohort studies are being conducted in the Philippines. One of them is a prospective cohort study on respiratory infections, for which a main target pathogen is

respiratory syncytial virus (RSV). RSV is one of the most important causative agents for acute lower respiratory tract infection (LRTI) among young children and infants. Although there are still no available vaccines for RSV, several promising candidate vaccines are under clinical trials. Severe RSV infections are most frequently observed in young infants. Two basic approaches are considered to protect young infants, including infant vaccination and maternal vaccination. More epidemiological data are required to establish effective vaccination strategies including timing of infant vaccination. Therefore we are conducting the cohort study in rural area of the Philippines to obtain important epidemiological data such as age-specific incidence rates and transmission patterns for young infants. :

Another cohort study is also being conducted in another site in the Philippines, which is focusing on diarrheal viruses such as Norovirus and Sapovirus. Although Norovirus and Sapovirus have been shown to be important pathogens for acute diarrhea in all age groups and repeated infections are common for both viruses. There are many genotypes for both Norovirus and Sapovirus. The level of the cross-protective immunity induced by different genotypes is still unknown. We are following young infants and their family members to define a frequency of repeated infections and the level of cross-protective immunity. :

The data obtained from these cohort studies can provide important data that are required for establishing better control strategies. Such data will be useful not only for the Philippines but also for other low- and middle-income countries and high-income countries including Japan.

### **S2-03 Pathway for BK-SE36 malaria vaccine development**

Horii Toshihiro

大阪大学微生物病研究所

Although there was a 10% decrease in malaria cases since 2010, WHO world malaria report for 2017 reports 5 million more cases than 2015. The three major challenges in malaria control remain artemisinin resistance, insecticide resistance and financial fragility in sustaining the needed interventions. The availability of a malaria vaccine would be a valuable arsenal in the fight against malaria, yet up to now no effective vaccine has been licensed. Since clinical illness or symptomatic malaria occurs only during blood-stage infection, a vaccine targeting the erythrocyte stage would have an important impact from a health care perspective. We have been developing BK-SE36 based from *Plasmodium falciparum* serine repeat antigen-5 (SERA5) as a blood-stage vaccine. High anti-SERA5 titers inversely correlate with malaria symptoms and severity. A recombinant form of SERA5 N-terminal domain, SE36, is the main component of the BK-SE36 malaria vaccine candidate. Studies so far show that the vaccine may likely overcome common challenges with regards to malaria vaccine antigens, particularly, extensive polymorphism and strict structural requirement of protective epitopes. In a clinical trial in Uganda, its promising protective efficacy may not be influenced by African HLAII haplotype and the immune response can be boosted by natural malaria infection. The current goal is to address some remaining challenges to move forward to proof of concept efficacy clinical trials.



# Symposium

**November 11 (Sun) 9:00 – 17:10**

記念講堂

**Commemoration Hall**



## ● Symposium November 11

**S3-01 Establishment of diagnostic methods for leprosy and trypanosomiasis**鈴木 定彦<sup>1,2)</sup>、杉本 千尋<sup>1,2)</sup>、井上 昇<sup>3)</sup>、向井 徹<sup>4)</sup><sup>1)</sup>北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、<sup>2)</sup>北海道大学国際連携教育研究局、<sup>3)</sup>帯広畜産大学、<sup>4)</sup>国立感染症研究所

Establishment of diagnostic methods for leprosy and trypanosomiasis Yasuhiko Suzuki<sup>1,2</sup>, Chihiro Sugimoto<sup>1,2</sup>, Noboru Inoue<sup>3</sup>, Tetsu Mukai<sup>4</sup> <sup>1,2</sup>Hokkaido University Research Center for Zoonosis Control <sup>3</sup>Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine <sup>4</sup>National Institute of Infectious Diseases Leprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae*, a member of the genus *Mycobacterium*. As the cultivation of the slow-growing bacillus *M. leprae* on artificial medium is still difficult, conventional bacteriological testing, such as isolation and identification, is not available particularly in resource-limited settings. Though leprosy is not a deadly disease, it causes serious physical disability at late stage. Hence, accurate diagnosis and proper treatment of leprosy at early stage is the most important issue. Human African trypanosomiasis (HAT) caused by *Trypanosoma brucei rhodesiense*, is now affecting east African countries such as Zambia, Uganda and Tanzania. HAT is sometimes misdiagnosed as malaria and treated. This causes disease progression and sometimes result in death. Accurate diagnosis and proper treatment as HAT at early stage can protect patients from death. From the reasons above, we have been trying to develop and implement low cost early diagnostic systems for leprosy and HAT by applying loop mediated isothermal amplification (LAMP). As results, we have successfully decreased the costs per diagnosis to be less than 1 US\$ by introducing Colori Fluorometric Indicator (CFI) consisted with hydroxy-naphtol blue, an indicator of divalent cations, and GelGreen, a indicator for DNA amplification. In addition, we have improved the applicability of LAMP methods by introducing the drying step. This enabled the cold chain free LAMP system and increased the applicability not only at central laboratories, but also at clinic or health center in rural areas far from the central laboratories. The evaluation study clearly demonstrated the high sensitivity and specificity by comparing with conventional diagnostic methods such as microscopic observation. And now, we are planning to introduce the LAMP for leprosy and HAT diagnosis into the field in Zambia.

**S3-02 The malaria cell disc system: Development of a portable and highly sensitive CD player-like automatic malaria diagnosis device**

橋本 宗明

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 健康工学研究部門

The gold standard for malaria diagnosis is still microscopic examination of Giemsa-stained blood smears or films (Giemsa microscopy). This method requires skilled technicians and is labor-intensive. Furthermore, considering elimination of malaria, it is essential to block its transmission by eliminating *Plasmodium* from asymptomatic infected individuals. However, microscopic examination may inadequately detect parasite infection. The development of novel diagnostic devices for malaria, which can be used for easy and quick diagnosis with high sensitivity in endemic countries, is required. We developed a fluorescence image reader applying the optical component of blue-ray disc system (MCD: malaria cell disc system). To operate the MCD system, 2  $\mu$ L of blood

was applied to a compact disc-like cassette for MCD. After setting the disc to the image reader, over 1 million erythrocytes form a monolayer on the detection area of the discs via centrifugation. More than 99% of leucocytes were eliminated by SiO<sub>2</sub> nano-fiber filters set between the site for blood application and the detection area on the disc. Furthermore, since cell-permeant fluorescent nucleic acid stains are in the detection area, the image reader detects the dye-stained parasite nuclei. Thereafter, using a software developed independently, parasitaemia were automatically calculated. Nine blood samples can be analyzed on the single disc, and it takes approximately 30 min to analyze 1 million erythrocytes for 9 samples. The image reader is portable (Size: W240xD224xH95 mm, weight: 1.5kg), and the disc is inexpensive. Together, the present findings suggest that MCD might become the next-generation gold standard for malaria diagnosis.

### **S3-03 Development of a sensitive and specific Point-of-Care Diagnostics (POCT) for *Schistosoma japonicum* infection in humans**

Angeles Jose Ma<sup>1,2)</sup>、Goto Yasuyuki<sup>3)</sup>、Leonardo Lydia<sup>2)</sup>、Moendeg Kharleezelle<sup>1)</sup>、  
Danh Trinh Minh Anh<sup>1)</sup>、Reyes Dindo<sup>4)</sup>、Villacorte Elena<sup>2)</sup>、Rivera Pilarita<sup>2)</sup>、  
Kirinoki Masahi<sup>5)</sup>、Chigusa Yuichi<sup>5)</sup>、Houghton Raymond L.<sup>4)</sup>、Kawazu Shin-ichiro<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>帯広畜産大学 原虫病研究センター、<sup>2)</sup>College of Public Health, University of the Philippines, Manila、<sup>3)</sup>東京大学大学院 農学生命科学研究科、<sup>4)</sup>InBios International Inc., Seattle, USA.、<sup>5)</sup>獨協医科大学 熱帯病寄生虫病学講座

Zoonotic schistosomiasis continues to be a public health problem in Asian countries including China, the Philippines and Indonesia. Improving the diagnostic tools for surveillance and monitoring in areas which have reached elimination level will help hasten the possible elimination of this disease. There is a critical need therefore for a rapid, low cost and highly sensitive point-of-care test (POCT) for the detection of specific antibodies in the parasite infected and/or exposed individuals. For the development of the POCT, 19 schistosome proteins were screened for their antigenicity. Serological evaluation was done by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with different serum panels. ELISA results showed that thioredoxin peroxidase (SjTPx-1) and tandem repeat protein-7 (Sj7) have the highest sensitivity and specificity, in which SjTPx-1 was the best antigen, can be complemented by the other antigens for better diagnostic performance. Out of six fusion proteins produced, SjTP7 (SjTPx-1, phytochelatin synthase (SjPCS) and Sj7 fusion protein) and SjT47 (SjTPx-1, the major egg protein Sjp40 middle fragment (Sjp40M) and Sj7 fusion protein) showed the highest diagnostic potentials. However, as compared to the single antigens, SjTPx-1 remained to be the best antigen for the diagnosis of human schistosomiasis. The POCT prototype with SjTPx-1 was therefore produced. The format in which SjTPx-1 striped on the nitrocellulose membrane in combination with either gold conjugated anti-human IgG4 or IgG sprayed on the treated conjugate pad. Using this format to test for IgG, a panel of 38 samples, of which 26 made the ELISA cut-off was used to evaluate sensitivity of the rapid test. Only 19 sera tested positive in the panel (sensitivity 73.1%). Overall, it was concluded that SjTPx-1 alone is not effective in rendering the rapid test sensitive. Future efforts should focus on generating recombinant fusion proteins with improved yields and robust performance in the rapid test format.



**S3-04 Putting genomics at the heart of epidemic response: Ebola and beyond**

Goodfellow Ian  
University of Cambridge

The Ebola viral disease (EVD) epidemic in West Africa was unprecedented. The combination of urbanisation and lack of health infrastructure created a “perfect-storm” , enabling levels of intense human-to-human transmission to occur that have never been observed. The consequence of extensive human-to-human transmission on viral pathogenesis and sequence variation was unknown. Despite this, during the early stages of the epidemic there was a significant lack of sequence data of the circulating viruses. Notably all sequencing was taking place outside of Sierra Leone and in a time frame that made it impossible to use the data to track ongoing chains of transmission. Therefore, there was an urgent need for in-country sequencing capabilities. With this in mind we deployed an Ion Torrent sequencer within the Mateneh Ebola Treatment Centre in Sierra Leone to provide real-time sequence data. We processed >1200 samples leading to the generation of >600 full length genomes. During the latter stages of the epidemic we were an integral part of the response and provided rapid turnaround sequencing in a time frame as short as 24 hours. Real-time sequencing enabled the linkage of clusters of cases allowing the prompt identification of transmission networks. This work also highlighted the potential utility of real-time genomics on epidemic response as well the practical and technical challenges associated with rapid sequencing during epidemics. This work led to the formation of the ARTIC project funded by the Wellcome Trust which seeks to develop an end-to end solution to allow rapid sequencing of patient samples in viral outbreaks. This project aims to produce a cheap, mobile virus sequencing system, supported by statistically rigorous analysis frameworks, and information sharing platforms, to prepare for the next outbreak and ensure that viral genome sequencing is positioned to have full impact on the public health response.

**S4-01 Memorial symposium for Professor Tsutomu Takeuchi: Biosecurity study and BSL-4 research in Japan**

安田 二郎<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所、<sup>2)</sup>長崎大学 感染症共同研究拠点

Professor Tsutomu Takeuchi passed away on 20 March 2018. He had experienced a lot of positions including a Professor and a Professor Emeritus at Keio University, a former Dean of the Institute of tropical Medicine at Nagasaki University, and a specially appointed Professor at the Graduate School of Public Health at St Lukes International University and also led the Japanese Society of Tropical Medicine. He had major contributions to the development of various science fields including Parasitology, Neglected Tropical Diseases, Global Health and Biosecurity. This symposium will be held to honor his great achievements.

#### **S4-02 Biosecurity studies under the Professor Takeuchi's leadership and beyond**

Tomoya Saito

国立保健医療科学院 健康危機管理研究部

Biosecurity is an emerging field to address the global biological risk and threats to protect human society. As the biological risk landscape is becoming more complexed and diverse, the concept of biosecurity should be interdisciplinary, not limited to that in public health that has confronted the infectious disease outbreaks for years. Professor Takeuchi developed the Global Health Security Study group in the Global Security Research Institute (G-SEC), which was newly established in the Keio University in early 2000s, to form a basis for interdisciplinary research and education to encounter emerging biological threats. The funding from the Project for a Safe and Secure Society led by the Ministry of Education, Culture, Sports and Science since 2007 added his group a networking function for biosecurity and shaped a unique and innovative platform for discussing biological risks and threats partnering with public sectors, academia and private sectors. Professor Takeuchi also led the Japanese delegate for the biodefense working group under the US-Japan Framework Initiative for a Safe and Secure Society (FIS3) and hosted US-Japan Biodefense Medical Research Symposiums ten times (2007-2017) to enhance the US-Japan science and technology cooperation for advanced medical research in this field. In this symposium, his achievement and beyond in biosecurity in Japan will be discussed.

#### **S4-03 Molecular mechanisms of Hemorrhagic fever viruses' replication and propagation**

浦田 秀造、安田 二郎

長崎大学熱帯医学研究所

Many viruses transmit from wild animals to humans, and some of them cause severe diseases to humans. Ebola virus is one of the best known examples. The problems of these virus infections are not only their high mortality, but also the lack of licensed vaccines or antivirals. A better understanding of these viruses-host interactions will not only inform about fundamental cellular processes exploited or subverted by these viruses, but could also help identify such intervention strategies. The bottleneck of the development of these vaccines and antivirals is that handling these infectious viruses have to be in the BSL-4 facility to protect the environment and the scientists. To circumvent this obstacle, scientists developed some methods which can proceed in BSL-2 laboratory including viral mini-genome assay and virus-like particle (VLP) assay to mimic the virus replication mechanisms inside the cell without handling infectious viruses in BSL-4 facility.

Our main focus is to reveal the process of building the virus particle in a molecular level. Since we could not work infectious BSL-4 agents in Japan, we have utilized VLP system and have reported cis- and trans-factors involved in particle production of hemorrhagic fever viruses.

In this symposium, some of our current works on hemorrhagic fever viruses, such as Ebola and Lassa viruses, will be introduced. In addition, results from the BSL-4 facility in National Institute for Communicable Diseases (NICD) in South Africa will be also introduced.

**S4-04 Attempted Marburg virus transmission by bat-associated flies in the Egyptian fruit bat**

Paweska Janusz T., Kemp Alan, van Vuren Petrus Jansen

Centre for Emerging Zoonotic and Parasitic Diseases, National Institute for Communicable Diseases of the National Health Laboratory Service, Sandringham, South Africa

Results of ecological, epidemiological and experimental studies implicate the Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*) as a natural reservoir host for marburgviruses. However, identification of natural entry and exit portals for marburgviruses in *R. aegyptiacus* bats remains elusive. Knowledge on natural transmission cycles of filoviruses would help to understand the mechanisms involved in zoonotic spill-over and aid public health control measures. Relatively long viremias observed in *R. aegyptiacus* bats after experimental subcutaneous infection with Marburg virus (MARV) suggests that blood-sucking ectoparasites might be involved in maintenance and perpetuation of the virus. Our study is the first experimental attempt to determine the potential transmission of MARV by bat-associated flies (*Eucamsipoda africana*) in *R. aegyptiacus* bats.

In MARV-infected bats, viremia was detectable from day 3 to day 12 post subcutaneous inoculation. In bat flies collected from MARV-infected bats on days 3-29 post infection (p.i.), only flies tested on day 5 and day 7 p.i. were positive by RT-PCR. Seroconversion was not detected in un-infected control bats exposed to viremic bats infested with ectoparasites. In bat flies inoculated by thoracic administration of MARV and tested on days 0-29 post inoculation, only flies assayed on day 0 and day 7 post inoculation were positive by RT-PCR. None of the bats infested with MARV-inoculated bat flies seroconverted. F1 (1st filial generation) pupae collected at different times during the experiment in bat cages with MARV-inoculated bat flies and in bat cages with MARV-infected bats, and F1 bat flies tested shortly after emergence were all negative by RT-PCR.

The MARV concentration in all RT-PCR positive bat flies was consistent with the virus concentration in administered inoculum, suggesting no replication of the virus. Results of this study indicate that bat flies do not act as biological vectors but do not exclude their potential role in mechanical transmission of MARV.

**S5-01 Innovation in Education and Training programme for Tropical Medicine and Global Health**有吉 紅也<sup>1,2)</sup>、コックス シャロン<sup>1,2)</sup>、スミス クリス<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学・グローバルヘルス研究科

The aim of this symposium is to present the current activities and progression of the Nagasaki University (NU) and London School of Hygiene and Tropical Medicine (LSHTM) strategic partnership. School of Tropical Medicine and Global Health (TMGH) was established in NU, October 2015 as the first ever post-graduate school specifically for tropical medicine and global health in Japan with significant support from LSHTM. Two professors, Sharon Cox and Chris Smith, have been seconded from LSHTM and facilitating some new education and training programme. S Cox will present some new epidemiology and statistics modules in TMGH. C Smith will present a newly planned clinical tropical medicine course, Diploma of Tropical Medicine and Hygiene (DTMH) in Asia and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene's accreditation of the Nagasaki University Master of Tropical Medicine course as an approved diploma course. Furthermore, we will commence the NU-LSHTM Joint PhD programme in October 2018: <https://www.lshtm.ac.uk/study/research/nagasaki-lshtm-phd> <http://www.tmgh.nagasaki-u.ac.jp/>

study\_at\_tmgh/courses/jd?lang=ja.This is the first Joint PhD programme with an overseas University in LSHTM s one hundred year history. No other Japanese University has a Joint PhD programme with such a high-ranked overseas University in the field of medical sciences. Some achievements and impacts will be presented by K Ariyoshi. Actual students will present their research plans.The strategic partnership between LSHTM and NU has brought much innovation in education and training programme for tropical medicine and global health.

## **S6-01 Effectiveness of pneumococcal conjugate vaccines in developing countries**

Mulholland Kim

London School of Hygiene & Tropical Medicine

The first pneumococcal conjugate vaccine (PCV) to be licenced was the 7-valent product produced by Wyeth Vaccines (now Pfizer) known as Prevnar-7 or PCV7. This vaccine proved to be highly effective in developed countries, with substantial reductions in vaccine type invasive pneumococcal disease (IPD) offset by some degree of serotype replacement. Ecological studies in the US and Australia showed significant reductions in childhood pneumonia admissions. It was used in only two African countries, with some reduction in overall IPD but no clear impact on radiological pneumonia incidence. The second generation of PCVs, Synflorix (PCV10, GSK) and Prevnar-13 (PCV13, Pfizer) were licensed in 2009 and 2010 respectively. Both vaccines have proved to be highly, and similarly effective in preventing IPD caused by vaccine types. In developing countries PCV10 has been evaluated in Kenya and Brasil, while PCV13 has been evaluated in South Africa and Gambia. Effectiveness/impact studies in Asia are underway in Nepal, Laos and Mongolia (all PCV13). Effectiveness against vaccine type IPD in these settings is comparable to that in more developed countries. PCV13 has three additional serotypes compared with PCV10-3, 6A and 19A. For 6A and 19A there is evidence that PCV10 (which contains the cross reacting serotypes 6B and 19F) is also protective against IPD, but probably to a lesser degree than PCV13. Serotype 3 was a component of the earlier version of PCV10, but was removed as the vaccine was shown to be ineffective against serotype 3. At this time there is no conclusive evidence that PCV13 is effective against IPD due to serotype 3. Both vaccines reduce nasopharyngeal carriage of vaccine types, leading to herd immunity, but PCV10 does not appear to generate herd immunity against the cross reactive serotypes 6A and 19A. As the public health utility of these vaccines in developing countries is dependent on their ability to prevent pneumonia and pneumonia mortality, it is important to evaluate their effectiveness against pneumonia. This is being done in several settings where pneumonia surveillance is underway, including Gambia and Kenya. Serotype replacement is already evident with the new vaccines in developed countries. The extent to which this erodes the effectiveness of the vaccines in developing countries remains to be seen.

## S6-02 ベトナムの肺炎球菌コンジュゲートワクチン (PCV) 未導入地域におけるPCVスケジュールの評価

吉田 レイミント  
長崎大学熱帯医学研究所

**Background:** WHO currently recommends giving PCVs as 3 doses, either 2 primary infancy doses with a booster (2p+1) or 3 primary infancy doses (3p+0). However, many low and middle income countries are unable to introduce the vaccine due to its high cost. We introduced herd immunity against vaccine type pneumococci in the community and are investigating the non-inferiority of reduced dosing schedules (1p+1, 0p+1) as means to sustain herd immunity compared to currently recommended schedules (2p+1, 3p+0). **Method:** A clustered randomized study including 4 PCV10 intervention arms; 2p+1, 3p+0, 1p+1 and 0p+1 is ongoing in Nha Trang, Vietnam. Six communes were randomly allocated into each arm. Cross-sectional carriage surveys among, infants, toddlers and mothers was conducted before the study, 4 months after the catch-up campaign of children younger than 3 years old and annually thereafter. Nasopharyngeal carriage of vaccine type pneumococci will be used as a primary endpoint. Also, incidence of pediatric clinical and chest X-ray positive pneumonia from ongoing hospital surveillance will be used to explore the impact of the different schedules on pneumonia. **Results:** This project, if successful could enable many low and middle income countries to introduce or sustain pneumococcal vaccines they could not otherwise afford. **Conclusion:** The study outcome may help Gavi to free up a significant amount of resources as currently a major portion of their budget is allocated towards the purchase of PCV.

## S6-03 An Enveloped-Modified Tetraivalent Dengue Virus-Like-Particle Vaccine Induced Highly Immunogenicity in Nonhuman Primates

赤畑 渉<sup>1)</sup>、Moi Meng Ling<sup>2)</sup>、野村 拓志<sup>3)</sup>、Ngwe Tun Mya Myat<sup>2)</sup>、俣野 哲朗<sup>3)</sup>、森田 公一<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>VLP Therapeutics、<sup>2)</sup>長崎大学、<sup>3)</sup>国立感染症研究所

デング熱は世界で最も深刻な公共保健問題の1つで、世界人口の半数が脅威となっている。現在も有効な治療法はなく、ライセンスされたDengvaxiaワクチンは9歳以上に適用される。また、このワクチンは、接種時にデングウイルスに対して血清反応陰性だとデングの重篤化の可能性が高くなることが分かった。そのため、次世代のデングワクチン開発は必要である。ウイルス状微粒子 (VLP) 技術をもとにしたワクチン開発は、非常に魅力的である。VLPワクチンは、ウイルスのゲノムがないが、本来のウイルスと似た構造をもっているため、安全でかつ免疫反応が非常に高いことが示されている。また、VLPワクチンは、最も脆弱な乳幼児や子供などを含めたすべての人に接種できる。そのため、我々は、新しいデングVLPワクチンを開発した。デング1-4血清型のprecursor membrane (prM) とフュージョンループ領域にF108Aの変異を入れたenvelope (E)を発現させて、デングVLPの産生能を高めた。デング1-4血清型VLPをそれぞれ混合して、マウスとサルに接種し、4血清型すべての対して、非常に高い中和抗体を誘導することができた。また、DNAワクチン、Eリコンビナント蛋白質の接種に比べてより高い抗体価を誘導していることが示された。我々の4血清型デングVLPワクチンは、次世代のデングワクチンになるうること、またこの方法で、他のフラビウイルスVLPワクチンへの応用できる可能性があることを示す。

## S6-04 Dengue Vaccines

園田 憲悟

KMバイオロジクス株式会社

Dengue is a mosquito-borne viral infectious disease caused by four distinct, but closely related, serotypes of dengue virus (DENV1-4) that has spread in tropical and sub-tropical climates worldwide, mostly in urban and semi-urban areas in recent decades. The latest number of dengue infections is 390 million per year according to Bhatt S., Nature 2013. Dengue poses a threat to both residents and travelers to endemic regions, and is a major public health issue. For these reasons, there are high expectations for a safe and effective vaccine. The history of Dengue vaccine development begins about 70 years ago. Although some mouse brain attenuated, chicken embryo propagated vaccine candidates were evaluated in human subjects, these approaches were not pursued into development like the yellow fever vaccine 17D. In the 1970s, tissue culture techniques became available and the development of live attenuated vaccines (traditional) using fetal rhesus lung and/or primary dog kidney cells were conducted. Once bio molecular techniques became available in the 1990s, new vaccine candidate developments were initiated, such as chimera, subunit, viral vectored, and DNA vaccines. At the end of 2015 and beginning of 2016, a candidate vaccine using chimera techniques was registered in South East Asia and South American countries. However, this vaccine can only be used in individuals 9-45 years of age living in endemic areas. WHO recommends that countries should consider introduction of the dengue vaccine only in geographic settings where epidemiological data indicate a high burden of disease. WHO indicate that they will continue to provide technical advice and guidance to countries and private partners to support vaccine research and evaluation.

## S7-01 八丈小島のフィラリアは、なぜマレー糸状虫だったのか？

飯島 渉

青山学院大学文学部史学科

In the history of lymphatic-filariasis in Japan, we still have a big mystery. Why was *Brugia malayi* in the Hachijyo-kojima which M. Sasa, Prof. of the Institute for Infectious Diseases, Tokyo University, discovered? There were prevalent of lymphatic-filariasis in many districts in Japan such as Kagoshima, Nagasaki, Ehime. In the Ryukyu-Okinawa islands there were also prevalent of lymphatic-filariasis especially in Miyako-islands. But those were prevalent of *Wuchereria bancrofti*. In the research works on lymphatic-filariasis, many Japanese scholars including Prof. D. Katamine, Prof. of the Institute for Endemic Disease, Nagasaki University paid much attention to the prevalence of the disease and how to control lymphatic-filariasis after WW2. Based on much effort by these scholars, lymphatic-filariasis was completely eliminated. The *Brugia malayi* of Hachijyo-kojima also disappeared by the migration of all people moved to other islands due to the policy by Tokyo local government. In the Japanese history on the lymphatic-filariasis, why was *Brugia malayi* in the Hachijyo-kojima is still a big mystery. In this paper, I will submit a hypothesis on this issue.



**S7-02 Integrating Korean Parasite Control Program into ‘Asian’ history**

KIM OckJoo, JUNG Junho

Department of the History of Medicine and Medical Humanities, College of Medicine, Seoul National University

During 1969 to 1995, Korea Association of Parasite Eradication (KAPE) conducted total number of 356,382,559 stool examination from school children to local people and military personnel. This program not only changed the peoples everyday life and perception towards parasite, but the legacy still has significant influence on neglected tropical diseases control in international development program through Korean government. In December 2017, Korean Association of Health Promotion (formerly KAPE) opened first Parasite Museum in Korea. This museum contains not only the parasitological specimens, but large number of historical materials from 1960s to 1980s national parasite eradication program. This shows the need for historicizing the past experience in parasitology and tropical medicine in Korea. Past and present of Korean experience offers opportunity for wide range of historical research. As development of field of parasitology, tropical medicine, and national eradication program was closely intertwined with transnational professional network between Japan, Taiwan and Korea, and geopolitical issues such as post colonial legacy and Vietnam War. Although placing the Korean history of parasitology and tropical medicine in broader perspectives of modernization, social changes, nation building has recently begun, there are need for integrating such analysis to Asian history. This presentation aims to discuss the current challenges in historicizing Asian parasite control activities as social history, and possibilities that can be provided through transnational archives.

**S7-03 Historical materials and a brief history of overseas medical cooperation of Japan in the 1960s: A project of “the Archives of Infectious Diseases History”**井上 弘樹  
青山学院大学

This paper aims to discuss an importance of preservation of historical materials regarding tropical medicine, global health, and so on, and to explain with the example of social history of medicine. I mention the following two topics.

(1) I introduce our project “the Archives of Infectious Diseases History” (AIDH). The AIDH has collected and preserved many kinds of historical materials regarding tropical medicine, global health, parasitology, and so on for some years. For example, there are some parasitologists’ private documents such as research records, letters, photographs, articles and books. Moreover, the AIDH has interviewed about 20 parasitologists, doctors, technicians, and health care workers. Part of these historical materials are available on a web site of the AIDH and at some institutions.

(2) I pick up a historical material which we preserved, and discuss a brief history of overseas medical cooperation of Japan in the 1960s. In those days, the Japanese government and an association of parasite control began to promote overseas medical cooperation to globalize the benefits of its experience in the field of parasitic diseases control.

We already started to collect, preserve, and open historical materials, and to study history. Our next issue is to consider and practice how social history of medicine can contribute to the field of medicine.





**学会賞受賞講演**

**Awardee's Lectures**

**November 10 (Sat) 14:10 – 15:25**

記念講堂

**Commemoration Hall**



## ●受賞講演

## — 日本熱帯医学会賞 —

**PL-01 西アフリカのHIV-2感染病態におけるHIV-2ウイルス量の役割;MRCガンビアではじまった熱帯医学研究者人生**

有吉 紅也  
長崎大学 熱帯医学研究所

HIV-2は、細胞変性やレセプターなど*in vitro*のウイルス学的性質がHIV-1に近似しているにもかかわらず、流行分布が西アフリカや元ポルトガル領などの地域に限局し、HIV-2感染者の生命予後は比較的良い。しかし、90年代初頭、ウイルス量の役割も含め、HIV-2の低病原性・低感染性のメカニズムは全く不明であった。また、HIV-2の臨床疫学像や、西アフリカで後から急速に流行が拡大したHIV-1感染に対するクロス防御免疫の可能性についても情報が限られていた。演者は、1992年から1998年までの6年間西アフリカの英国医学研究協議会(MRC)ガンビア研究所のエイズ実験室長として、臨床疫学からウイルス学・免疫学を連携させた学際的研究を推進し、HIV-2ウイルスの低病原性・低感染性のメカニズムを解明し、また、HIV-1感染との相互作用やHIV-2の臨床疫学的特徴を明らかにした国際研究チームに参加し、37本の論文に貢献した。今回の日本熱帯医学会賞受賞は、これらのHIV-2に関する一連の研究業績が評価されたものである。HIV-2は第2のエイズウイルスである。しかし、全世界に人類史上類のない負の遺産をもたらしたHIV-1の陰で、ネグレクトされてきたウイルスでもある。さらに、HIV-2は演者の博士プロジェクトのテーマであり、本演題のタイトル”The Role of Viral Load in the Pathogenesis of HIV-2 Infection in West Africa”は、博士論文のタイトルでもある。本受賞講演では、HIV-2について、若干の学術解説を加えながら、演者の代表的な研究成果を、現地での苦労話を交えて紹介する。また、演者にとって、研究者として多感な30歳代(研究生活3年目～9年目)を過ごした西アフリカは、アフリカのリアルな医療現場や、かけがいのない同僚や師匠たちとの出会いがあり、その後の研究者としての、また教育者としての自らのキャリア形成に決定的な影響を与えた所である。当時を振り返りながら、これから世界で活躍しようとする若い研究者に向けてエールを送りたい。

## — 相川正道賞 —

**PL-02 マラリア原虫の寄生赤血球への分子輸送**

金子 修  
長崎大学 熱帯医学研究所

マラリア原虫は寄生赤血球内では寄生胞膜内で発育するが、多くの原虫分子が原虫細胞膜、寄生胞膜を越えて赤血球細胞質内に輸送され、赤血球の膜構造の変化に寄与することが知られている。例えば、熱帯熱マラリア原虫では、PfEMP-1と呼ばれる原虫リガンドにより、寄生赤血球は脳の末梢血管内壁に接着したり、マラリア原虫非寄生正常赤血球に接着(ロゼット形成)し、患者に昏睡などの重篤な症状を引き起こす。PfEMP-1以外にも熱帯熱マラリア原虫寄生赤血球には様々な分子が局在するが、これらの分子の多くがアミノ末端側に粗面小胞体移行シグナル様配列とそれに続くPEXEL (Plasmodium EXport ELEMENT; RxLx(D/E/Q))と呼ばれる特徴的な配列を持ち、原虫由来の分泌装置Plasmodium Translocon of EXported proteins (PTEX)により寄生胞膜寄

生胞膜を通過し、赤血球内へ輸送されると提唱されている。一方、粗面小胞体移行シグナル様配列やPEXEL配列を持たないにも関わらず、寄生赤血球内へ輸送されるSURFINと言った一群の原虫タンパク質も存在し、PEXEL非依存性の輸送機序の存在が示唆される。本講演ではPEXEL非依存性のマラリア原虫タンパク質の赤血球細胞質への輸送に加えて、人獣共通感染症の二日熱マラリア原虫による赤血球改変等について背景とともにご紹介する。

## — 女性賞 —

### PL-03 マラリアの創薬研究—過酸化物を用いた抗マラリア薬開発の現況

金 恵淑

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 (薬)

私のグループは1990年代後半より薬剤耐性マラリアに有効な新薬候補の探索研究を行い、種々のシズ化合物の中からペルオキシド構造を持つ有機合成過酸化物 (N-89、N-251) を見出した。これら化合物は作用機序の解析研究で、マラリアの治療に用いられているアルテミシニンと同様のフリーラジカルを産生するものの、マラリア原虫タンパク質 (ER に局在するカルシウム結合タンパク質) を特異的に阻害する結果より、アルテミシニンとは異なる機構で殺原虫作用を示す化合物であると考えている。

発表者・金 恵淑は新薬開発の初期から当プロジェクトに参画し、天然物から有機合成品に至る 8,000 を超える化合物を用いて薬効を評価し、その中から N-89、N-251 を臨床開発できる有力候補として選抜した。これら化合物は、過酸化物を有するカテゴリーの800種の過酸化物誘導体の中から構造-活性相関の結果より、最終候補として選抜された。私はこれら2つの化合物を用いた薬効評価・完治効果試験 (*P. falciparum* を用いた *in vitro*, *P. berghei*感染マウスを用いた *in vivo*)、臨床開発するために必要な毒性・安全性試験、大量製造法の確立、及び製剤の基礎的研究も行っている。研究当初はマラリア流行地の状況を鑑み、経口剤として開発研究を行っていたが、途中の研究でこれら化合物が肝臓で代謝を受け、分解される予備結果を得たため、現在は肝代謝を受けない非経口剤として開発を試みている。

第一回女性賞の受賞講演では今まで私が行ってきた日本でのマラリア新薬開発の現況を最新のデータを含めて発表したい。

# 一般演題 (ポスターセッション)

## Poster Presentation

**November 10 (Sat) 17:00 – 18:30**

第1ポスター会場：

ポンペ会館

**Poster 1 : Pompe Hall**

P-01～P-65

第2ポスター会場：

良順会館1階専齋ホール

**Poster 2 : Sensai Hall,**

**Ryojun Auditorium**

P-66～P-96



## ●一般演題（ポスターセッション）

## 第1会場：ポンペ会館

**P-01 Administration of *Lactococcus lactis* strain Plasma is effective against dengue virus infection in mice**鈴木 弘章<sup>1)</sup>、辻 亮平<sup>1)</sup>、菅又 美穂<sup>1)</sup>、山本 直樹<sup>2)</sup>、山本 典生<sup>3)</sup>、金内 理<sup>1)</sup><sup>1)</sup>キリン（株）健康技術研究所、<sup>2)</sup>東京医科歯科大学、<sup>3)</sup>順天堂大学大学院医学研究科感染制御科学

Dengue virus (DENV), a mosquito-borne flavivirus, causes an acute febrile illness that is a major public health problem in the tropics and subtropics worldwide. However, methods to prevent or treat DENV infection have not been well established. We previously showed that *Lactococcus lactis* strain Plasma (LC-Plasma) has the ability to stimulate plasmacytoid dendritic cells (pDCs). Because pDCs are key immune cells that control virus infection by producing large amounts of type I interferons, we evaluated the effect of LC-Plasma on DENV infection using a mouse infectious DENV. The relative virus titers were apparently lower in DENV-infected tissues when LC-Plasma was orally administered prior to DENV infection. Furthermore, the expression of inflammatory genes related to DENV infection was also reduced by LC-Plasma administration. To investigate how LC-Plasma administration controls DENV infection, we examined anti-viral gene expression, which is critical for viral clearance induced by type I interferons. Oral intake of LC-Plasma enhanced anti-viral gene expression in DENV-infected spleen tissue. Moreover, in vitro studies revealed that this LC-Plasma effect was dependent on type I interferons that were induced by LC-Plasma. Based on these results, LC-Plasma may be effective against DENV infection by stimulating pDCs, which leads to increased production of anti-viral factors.

**P-02 Molecular Characteristics of Dengue Virus in Myanmar 2017**Aung Min Soe<sup>1,2)</sup>、Mya Myat Ngwe Tun<sup>1)</sup>、Theingi Win Myat<sup>3)</sup>、Htin Lin<sup>3)</sup>、Mo Mo Win<sup>3)</sup>、Nabeshima Takeshi<sup>1)</sup>、Inoue Shingo<sup>1)</sup>、Kyaw Zin Thant<sup>3)</sup>、Hasebe Futoshi<sup>1)</sup>、Kouichi Morita<sup>1)</sup>、Sujan Shresta<sup>4)</sup>、Hlaing Myat Thu<sup>3)</sup>、Moi Meng Ling<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine and Leading Program, Nagasaki University1、<sup>2)</sup>Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University、<sup>3)</sup>Department of Medical Research, Myanmar、<sup>4)</sup>La Jolla Institute of Allergy and Immunology

In 2017, a total of 29,597 Dengue cases including 180 deaths has been reported. The epidemiological and molecular characteristics of the virus in Dengue and severe Dengue patients in Myanmar was evaluated in this study. A total of 97 samples were collected from 86 dengue patients and 3 severe dengue patients from Yangon General Hospital and Yangon Children Hospital between April to September 2017. DENV RNA was detected in a total of 60 cases (DENV-1=15, DENV3=21, DENV-4=24) and a total of 28 dengue virus strains (DENV-1=9, DENV-3=10 and DENV-4=9) was isolated. Among the patients, 72 patients (80%) were positive for DENV IgM antibodies and 62 patients (69%) were positive for DENV IgG antibodies. A total of 24 patients had primary DENV infection (26.9%) and 21 had secondary DENV infection (23.5%). Interestingly, there were no DENV-2 patients. All isolates of DENV-1 and DENV-4 belonged to the DENV1 genotype-1 and DENV-4 genotype-1 lineages. The DENV-3 isolates belonged to genotypes -1 and -3, in which genotype-1 has not been detected previously in Myanmar. Phylogenetic analyses of the E-protein gene revealed that the isolates possess high homology (96%-100%) to previously reported

isolates from Myanmar and those from neighboring countries. A high proportion of DENV-4 cases was detected in the 2017 epidemic and epidemic patterns revealed continued circulation of existing strains and the introduction of a new DENV-3 genotype.

### **P-03    Virological characterization of DENV circulating in Metro Manila during the 2015-2016 outbreaks**

Luz Mark Anthony<sup>1</sup>、Moi Meng Ling<sup>1,2</sup>、Dimamay Maria Terrese<sup>3</sup>、Nabeshima Takeshi<sup>3</sup>、Pangilinan Lady Anne<sup>3</sup>、Mapua Cynthia<sup>3</sup>、Dimamay Mark Pierre<sup>3</sup>、Mathias Ronald<sup>3</sup>、Inoue Shingo<sup>2</sup>、Buerano Corazon<sup>3</sup>、Edith Tria<sup>4</sup>、Filipinas Natividad<sup>3</sup>、Maria Luisa Daroy<sup>3</sup>、Hasebe Futoshi<sup>1,2</sup>、Morita Kouichi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine and Leading Program, Nagasaki University、

<sup>2</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University、<sup>3</sup>Research and Biotechnology, St. Luke's Medical Center, Philippines、<sup>4</sup>San Lazaro Hospital, Manila, Philippines

Dengue (DEN) is endemic in the Philippines. In 2015, there were 213,930 reported cases of dengue while in 2016 there were 211,108 cases. This number decreased to 131,827 in 2017. While the number of cases in 2016 and 2017 decreased, the fraction of fatalities increased with 1,019 (0.48%) and 747 (0.55%) deaths respectively compared to only 647 (0.30%) in 2015. DENV virus (DENV), the causative agent, has four antigenically distinct serotypes (DENV1-4). In this study, we determined the circulating serotypes in the Philippines during the 2015-2016 outbreaks in Metro Manila. A total of 678 serum or plasma samples were collected from 536 individual DEN patients. The serotype distribution was 20.6% (n=29) DENV1, 19.9% (n=28) DENV2, 18.4% (n=26) DENV3, and 18.4% (n=26) DENV4. Interestingly, there had been an increase of DENV4-infected patients as compared to previous years. While other serotypes have been found to cause epidemics worldwide, there are limited reports on DENV4 as the dominant serotype in an epidemic. Global and local phylogenetic analysis demonstrated that all the DENV4 isolated from the Philippines belonged to genotype II, and formed a clade consisting of locally isolated strains. These strains shared 95-99% homology to those circulating in South East Asia and were most likely imported from the Americas. The results demonstrated that all four serotypes of DENV were co-circulating in Metro Manila in 2015-2016. The results differed from prior reports in which a single serotype dominated during outbreaks and suggested a changing pattern of circulating serotypes in the Philippines



**P-04 A single amino acid substitution in the NS4B protein of Dengue virus confers enhanced virus growth and fitness in human cells in vitro**

Bui Thuy Thu<sup>1)8)</sup>, Moi Meng Ling<sup>1)</sup>, Nabeshima Takeshi<sup>1)</sup>, Takemura Taichiro<sup>2)</sup>,  
 Nguyen Trang Thu<sup>3)</sup>, Nguyen Linh Ngoc<sup>4)</sup>, Hang Pham Thi Thu<sup>4)</sup>, Nguyen Thuy TT<sup>3)</sup>,  
 Dao Huy Manh<sup>6)8)</sup>, Dumre Shyam Prakash<sup>6)</sup>, Tajima Shigeru<sup>5)</sup>, Kenji Hirayama<sup>6)</sup>,  
 Mizukami Shusaku<sup>7)</sup>, Mai Le TQ<sup>3)</sup>, Hasebe Futoshi<sup>4)</sup>, Morita Kouichi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Virology, Nagasaki University Institute of Tropical Medicine, <sup>2)</sup>NIHE-Nagasaki Friendship Laboratory, Nagasaki University, Hanoi, Viet Nam, <sup>3)</sup>Department of Virology, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Viet Nam, <sup>4)</sup>Vietnam Research station, Center for Infectious Disease Research in Asia and Africa, NEKKEN, Nagasaki University, Japan, <sup>5)</sup>Department of Virology 1, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan, <sup>6)</sup>Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan, <sup>7)</sup>Department of Clinical Product Development, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Japan, <sup>8)</sup> Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

### Background

Dengue virus (DENV) replication between mosquito and human hosts is hypothesized to be associated with viral determinants that interact in a differential manner between hosts. However, understanding on the viral determinants that drive DENV replication and growth between hosts is limited. In this study, we determined the viral determinants that are important in intra-host adaptation and determined the fitness of DENV by examining the role of the NS4B region.

### Materials/ methods

The full genome sequences of DENV-1 isolated from serum samples in both mosquito cells (C6/36), mammalian cells (Vero) was evaluated. The recombinant viruses with single mutation were generated for the growth kinetic comparison and relative fitness competition in different cell lines. To identify the differential response of host cells to the three virus clones, the interferon type I levels were determined by ELISA assay and the gene expressions were examined by microarray assay.

### Results

From the clinical isolates, we identified an amino acid variation of Ala, Met and Val at the position 116 of DENV-1 NS4B. NS4B at position 116 was altered from Val to Ala or Met and recombinant DENV-1 viruses with these variants was generated. The Ala and Met variants resulted in enhanced virus growth and fitness in human cells in comparison to the clone with Val at NS4B-116. However, the reverse phenomenon was observed in mosquito cell line. Additionally, in a human cell line, differential levels of interferon type I and interferon stimulated-genes expressions (IFIT3, IFI44L, OAS1) suggested that the enhanced viral growth was dependent on the ability of the NS4B protein to hamper host interferon response during the early phase of infection

### Conclusion

Overall, we identified a novel and critical viral determinant at the pTMD3 of NS4B region that displayed differential effects on DENV replication and fitness in human and mosquito cell lines. The results suggest the importance of the NS4B protein in virus replication and adaptation between hosts

**P-05 Dengue virus infection-enhancement activity in neutralizing antibodies of healthy adults before dengue season as determined by using FcγR-expressing cells.**

Phu Ly Minh Huong<sup>1)</sup>、Moi Meng Ling<sup>1)</sup>、Vu Thi Bich Hau<sup>3)</sup>、Tun Mya Myat Ngwe<sup>1)</sup>、  
Saunders Todd<sup>2)</sup>、Nguyen Anh Kieu Thi<sup>4)</sup>、Nguyen Thi Thu Thuy<sup>3)</sup>、Le Thi Quynh Mai<sup>3)</sup>、  
Hasebe Futoshi<sup>5)</sup>、Morita Kouichi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野、<sup>2)</sup>長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科、

<sup>3)</sup>Department of Virology, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Viet Nam、<sup>4)</sup>Ha Noi Preventive Medicine Center, Hanoi, Viet Nam、<sup>5)</sup>Vietnam Research Station, Center for Infectious Disease Research in Asia and Africa, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan.

**Background** : Antibodies target DENV by two different mechanisms: virus neutralization and infection enhancement. In dengue patients, the absence of neutralizing activity in the presence of FcγR implies that infection-enhancing activity hampers the neutralizing activity of antibodies, potentially leading to clinical manifestations and severe outcomes. **Methods** : Neutralizing and infection-enhancing activity from serum samples were evaluated by PRNT using BHK cells and FcγR-expressing BHK cells. **Results** : Out of 100 residents, positive neutralizing antibody (N.A) were found in 44.23 and 76.92% for DENV-1; 38.46 and 75% for DENV-2; 19.23 and 15.38% for DENV-3; 1.92 and 9.62% for DENV-4 for pre- and post-dengue season, respectively. A total of 34 residents were DENV seropositive pre-dengue season and these individuals demonstrated further elevations of IgG antibodies post-dengue season. In post-dengue season, 18 residents were confirmed to be new asymptomatic DENV infection cases. In both groups, N.A titers determined on BHK cells were higher than that on FcγR-expressing BHK cells. In heterotypic N.A responses, N.A titers to the infecting serotype from the samples obtained from pre-exposure group were significantly higher than those of the patient group. However, fold-enhancement to the infecting serotypes from the samples in the pre-exposure group was substantially lower than that of the patient group. **Conclusion** : serum samples from healthy volunteers demonstrated high levels of neutralizing antibodies and low or absence of infection-enhancement activity for pre- and post-dengue season. While infection-enhancement activity hampers neutralizing activity of antibodies, high levels of DENV neutralizing antibodies set a critical threshold in the prevention of disease progression.

**P-06 The DENV1 outbreak in Northern Vietnam in 2017 caused for the locally circulating virus**

Pham Ha Chau<sup>1)</sup>、竹村 太地郎<sup>1)</sup>、Nguyen Co Thach<sup>2)</sup>、Hoang Vu Mai Phuong<sup>1,3)</sup>、  
Nguyen Le Khanh Hang<sup>3)</sup>、Nguyen Thi Thu Thuy<sup>3)</sup>、Le Thi Quynh Mai<sup>3)</sup>、Meng Ling Moi<sup>3)</sup>、  
森田 公一<sup>2)</sup>、長谷部 太<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 ベトナム拠点、<sup>2)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野、

<sup>3)</sup>ベトナム国立衛生疫学研究所 ウイルス部

In the summer of 2017, we have experienced a large outbreak of dengue virus type 1 (DENV1) infection in Northern Vietnam. According to the WHO situation report, 36,345 cases recorded in Hanoi as of November, and it was estimated approximately 4 times higher than that of the previous year. The DENV1 outbreak in 2017 was also recorded in the nearby countries. In Xishuangbanna, located in the southern border of China, over 1,100 cases were confirmed as DENV1 infection during the same time period. To understand the genetic character of DENV1 causing for the outbreak in 2017, we analyzed whole genome sequence of DENV1 collected in Northern Vietnam.

The cDNA synthesized from viral RNA were subjected for making the library by NEXtera XT (Illumina), and obtained the sequence by Miseq. The viral consensus sequences were made by CLC Genome Workbench, and phylogenetic analysis was conducted by the MEGA6. As a result, we succeeded to obtain 28 complete sequence from 40 subjects with over 30 coverage. The newly identified DENV1 from Northern Vietnam fell into the genotype I cluster, that are dominant in southeast and east Asia. Six amino acid substitutions were conserved in 28 newly analyzed samples. It is noteworthy that they were phylogenetically distinct from the China strains during outbreak in 2017. The E-gene region was used for the detailed phylogenetic analysis together with approximately 980 Southeastern and Eastern Asian genotype\_1 sequences. 28 sequences made single cluster with 73 Vietnamese isolates between 2008 and 2016, with one exception of Cambodia 2013 isolate.

Our results suggest that the DENV1 outbreak in Northern Vietnam in 2017 was induced by the locally circulating viruses. Elimination of locally circulating virus could be more difficult than to prevent from the invasion of new virus. Development of effective vaccine, treatment, and outbreak prediction is highly required to protect the human from DENV.

#### **P-07 iPS cell serves as a source of dendritic cells for in vitro dengue virus infection model**

Dao Manh<sup>1)</sup>、Mizukami Shusaku<sup>1,2)</sup>、Dumre Shyam Prakash<sup>1)</sup>、Raekiansyah Muhareva<sup>3)</sup>、  
Senju Satoru<sup>4)</sup>、Nishimura Yasuharu<sup>4)</sup>、Karbawang Juntra<sup>2)</sup>、Nguyen Tien Huy<sup>2)</sup>、  
Morita Kouichi<sup>3)</sup>、Hirayama Kenji<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 宿主病態解析部門 免疫遺伝学分野、<sup>2)</sup>Department of Clinical Product Development, NEKKEN, Nagasaki University, Nagasaki, Japan、<sup>3)</sup>Department of Virology, NEKKEN, Nagasaki University, Nagasaki, Japan、<sup>4)</sup>Department of Immunogenetics, Kumamoto University Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto, Japan

The lack of appropriate model has been a serious concern in dengue research pertinent to immune response and vaccine development. It remains a matter of impediment in dengue virus (DENV) studies when it comes to an in vitro model, which requires adequate quantity of DC with uniform characters. Other sources of DC, mostly moDC, have been used despite their limitations such as quantity, proliferation, and donor dependent characters. Recent development of human iPS cells with consistent proliferation for long, stable functional characteristics and desired HLA background has certainly offered added advantages. Therefore, this study aimed to develop DENV infection and T cell activation model using iPS derived DCs (iPS-ML-DC). iPS-ML-DC was prepared and DENV infectivity was assessed apart from the major surface markers expression and cytokine production potential. Our iPS-ML-DC had major DC markers expression, DENV infection efficiency and cytokine production properties similar to that of moDC. Moreover, DENV infected iPS-ML-DC demonstrated the ability to activate T cell in vitro as evidenced by significantly higher proportion of IFN-gamma+ CD69+ T cells compared to non-infected iPS-ML-DC. This affirmed the antigen-specific T cell activation by iPS-ML-DC as a function of antigen presenting cell. To conclude, maturation potential, DENV infection efficiency and T cell activation ability collectively suggest that iPS-ML-DC serves as an attractive option of DC for use in DENV studies in vitro. Our iPS-ML-DC based in vitro system can be used to evaluate the immune response of vaccine candidates, detect the DENV epitope peptides presented by DC, access HLA restricted T cell response and examine the activated T cell (and CTL) induced by DENV infection. As a further validation of our system, we plan to work on HLA restricted T cell response and CTL generation.

## **P-08 Plasma cell-free DNA: a potential biomarker for early prediction of severe dengue**

Dumre Shyam Prakash<sup>1)</sup>、Nguyen Thi Ngoc Phuong<sup>1,2)</sup>、Dao Huy Manh<sup>1,3)</sup>、  
Mizukami Shusaku<sup>1)</sup>、Weiss Lan Nguyen<sup>4)</sup>、Kamel Mohamed Gomaa<sup>5)</sup>、  
Morra Mostafa Ebraheem<sup>6)</sup>、Vu Thi Que Huong<sup>4)</sup>、Nguyen Tien Huy<sup>7)</sup>、Hirayama Kenji<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 宿主病態解析部門 免疫遺伝学分野、<sup>2)</sup>Health Innovation course, School of  
Tropical Medicine and Global Health, Nagasaki University, Nagasaki, Japan、<sup>3)</sup>Global Leader Nurturing  
Program, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki, Japan、<sup>4)</sup>Department  
of Immunology and Microbiology, Pasteur Institute, Ho Chi Minh City, Vietnam、<sup>5)</sup>Faculty of Medicine,  
Minia University, Minia, Egypt、<sup>6)</sup>Faculty of Medicine, Alazhar University, Cairo, 11884, Egypt、  
<sup>7)</sup>Department of Clinical Product Development, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki  
University, Nagasaki, Japan

Considerable progress has been made in dengue management, however the lack of appropriate predictors of severity has led to huge number of unwanted admissions mostly decided on the grounds of warning signs. Apoptosis related mediators, among others, are known to correlate with severe dengue (SD) although no predictive validity is established. This study attempted to investigate the association of plasma cell-free DNA (cfDNA) with SD, and evaluate its prognostic value in SD prediction at acute phase. In this hospital based prospective cohort study conducted in Vietnam, all the recruited patients were admitted and strictly monitored for various laboratory and clinical parameters (including progression to SD) until discharged. Plasma samples collected during acute phase (6-48 hours before defervescence) were used to estimate cfDNA levels. Of the 61 dengue patients, SD patients (n = 8) eventually developed shock syndrome 4.8 days (95% CI: 3.7 - 5.4) after the fever onset. Plasma cfDNA levels before defervescence of SD patients were significantly higher than the non-SD group (p = 0.0493). From the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, a cut-off of >36.9 ng/mL was able to predict SD with a good sensitivity (87.5%), specificity (54.7 %), and area under the curve (AUC) (0.72, 95% CI: 0.55-0.88; p = 0.0493). On further analysis, we also observed significant correlation between cfDNA concentration and platelet count (r = -0.46, p = 0.0003) but not the leukocyte count (r = -0.09, p = 0.51). To conclude, our findings demonstrated that plasma cfDNA levels could be used as a potential predictor of SD during acute phase. Despite this, the source of cfDNA remained enigmatic. Therefore, next we plan to uncover the source of cfDNA exploring other potential biomarkers as we as validate it in a larger cohorts for improved prognostic ability preferably employing combination strategy.

## **P-09 Detection of dengue virus infection in 2018 febrile outbreak of Nepal**

Basu Dev Pandey<sup>1,2)</sup>、Kishor Pandey<sup>2,3)</sup>、Mandira Adhikari<sup>2,4)</sup>、Sandra Kendra Raini<sup>5)</sup>、  
Ngwe Tun Mya Myat<sup>5)</sup>、Morita Kouichi<sup>5)</sup>  
<sup>1)</sup>Sukraraj Tropical and Infectious Diseases Hospital、<sup>2)</sup>Everest International Clinic and Research  
Center、<sup>3)</sup>Unit of Molecular Biotechnology, Nepal Academy of Science and Technology、<sup>4)</sup>Shi-Gan  
International College of Science & Technology、<sup>5)</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine  
(NEKKEN), Nagasaki University

Dengue virus (DENV) and Chikungunya virus (CHIKV) are emerging viral diseases in Nepal. Because of the similarity in signs and symptoms, misdiagnosis and underreporting of CHIKV infection in dengue-endemic areas of Nepal is very common. In 2013, we first time reported the presence of CHIKV in Nepalese patients and further

confirmed expansion of Chikungunya in 2014-2015. The aim of the present study is to find out cause of fever among patients with febrile illness during 2017-2018 outbreaks after a flooding. A total of 141 serum samples were collected from 2 districts (Sarlahai and Mahottary) of low land Terai region of Nepal. The samples were initially screened for routine laboratory test including Typhoid, Malaria and Dengue with Rapid Diagnostic test. Further investigations were carried for DENV and ZIKV by using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) to detect Immunoglobulin M (IgM) and Immunoglobulin G (IgG) antibody and confirmed by 50% focal reduction neutralization test (FRNT<sub>50</sub>). 31 (30%) samples found to be positive for P/N (positive control or sample optical density [OD]/ negative control OD) ratios  $\geq 2$ . ELISA results showed that 16.3% and 12% were positive for Dengue IgG and Zika IgM. Further, FRNT<sub>50</sub> results confirmed that 10% of dengue IgG ELISA positive samples possessed neutralizing anti-dengue antibodies. Dengue subtype 1, 2 and 4 were found in those samples. All the samples were negative for Zika virus by FRNT<sub>50</sub>. It is recommended to strengthen the surveillance system for DENV in order to prevent possible future outbreak outbreaks after Disaster.

## P-10 北海道に生息するヤマトヤブカおよびミスジシマカにおけるジカウイルス感染性とエンペロープ領域における遺伝子変異の評価

内田 玲麻<sup>1)</sup>、渋谷 美貴<sup>1)</sup>、Morales Vargas Ronald<sup>2)</sup>、村松 康和<sup>1)</sup>、萩原 克郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>酪農学園大学 獣医学群 獣医学類、<sup>2)</sup>マヒドン大学 熱帯医学研究所

**Background:** Zika virus (ZIKV; family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*) is a rapidly spreading mosquito-borne virus that has recently been associated with an increased incidence of congenital microcephaly. *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* are considered the main ZIKV vectors in the epidemic. Most studies have been based on these two major species, and laboratory colonies are well established. The ZIKV vector competence (VC) of other mosquito species in the northern temperate region is not yet well known. In this study, the ZIKV susceptibility of the *Aedes japonicus* and *Aedes galloisi*, both northern *Aedes* mosquitos commonly found in Hokkaido, Japan, was evaluated. Furthermore, mutations in the viral envelope (E) region were sought for comparing with *in vivo* and *in vitro* infections.

**Materials and Methods:** Field-captured female *Ae. japonicus* and *Ae. galloisi* were fed *ad libitum* with an infectious blood meal containing  $1 \times 10^5$  Focus formation units (FFU)/ml of ZIKV PRVABC59 or MR766 strain. At 5 and 10 days post infection (p.i.), viral loads in the abdomen, thorax and legs were evaluated by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). Using abdomen samples from five ZIKV PRVABC59-infected *Ae. galloisi*, the viral E region was amplified by PCR and sequenced. The original virus stock was sequentially passaged five times in both mammalian cells (Vero) and mosquito cells (C6/36).

**Results:** ZIKV RNA was not detected in *Ae. japonicus* infected with ZIKV PRVABC59 and MR766. On the other hand, in *Ae. galloisi* infected with ZIKV PRVABC59, the viral RNA was detected in the abdomens of two and three of seven mosquitoes at 5 and 10 days p.i., respectively. Single amino acid substitution of Valine (V) to Leucine (L) at position 620 of E was observed in two samples. Furthermore, the point mutation (V620L) was reproduced in C6/36 cells but not in Vero cells. There was no difference of focus size and viral growth *in vitro* between the V620L mutant and original.

**Discussion:** ZIKV replication was observed in *Ae. galloisi* but not in *Ae. japonicus*. However, further studies are required to clarify the actual VC of the mosquito. Mosquito-derived amino acid substitution (V620L) implied the involvement of viral adaptability in these mosquitoes. Reverse genetics approaches based on infectious clone are required for further investigation.



## **P-11 Low circulation of Zika virus in Central Highlands Vietnam, 2017-2018:an update on serological surveillance of Zika virus**

Nguyen Co Thach<sup>1)</sup>、Moi Meng Ling<sup>1,4)</sup>、Nguyen T Thu Thuy<sup>3)</sup>、Vu T Bich Hau<sup>3)</sup>、  
Pham Do Quyen<sup>3)</sup>、Le T Quynh Mai<sup>3)</sup>、Hasebe Futoshi<sup>5)</sup>、Morita Kouichi<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup>Institute of Tropical Medicine、<sup>2)</sup>長崎大学大学院医歯薬学総合研究科、<sup>3)</sup>National Institute of Hygiene and Epidemiology、<sup>4)</sup>長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 熱帯病・新興感染症制御グローバルリーダー育成プログラム、<sup>5)</sup>Institute of Tropical Medicine

**Background:** Outbreaks of Zika virus & lt;ZIKV& gt; has been previously confirmed in Southeast Asia. As of July 2018, 257 confirmed positive cases of ZIKV has been reported, in which most of the cases were from Southern Vietnam. In 2016, a child with ZIKV-associate microcephaly was confirmed in Krongbuk district, Daklak province in the Central Highlands of Vietnam. The objective of this study is to determine the size and extent of ZIKV outbreak in the region where the microcephaly case was identified, by analyzing the presence of Zika virus-specific antibodies on a representative population in Krongbuk, Daklak. **Methods:** Blood samples were randomly collected from 801 healthy persons in the community with distribution in all communes in Krongbuk district, Daklak province. An in-house enzyme-linked immunosorbent assay & lt;ELISA& gt; kit was used as a screening method for detecting the presence of IgM antibodies against ZIKV. The plaque-reduction neutralization test & lt;PRNT& gt; was used to determine neutralizing titers PRNT50 to ZIKV and 4 serotypes of Dengue viruses. **Results:** A total of 801 samples were collected from resident of Krongbuk district, Daklak province. The number of residents represents approximately 1.4% of the estimated total population of 57000 of the district. By using the ZIKV IgM ELISA test, a total of 10.3 % of the serum samples & lt;83/801& gt; were positive for ZIKV IgM antibodies & lt;P/N ratio = 3.30 & plusmn;1.48& gt;. Of the 83 ZIKV IgM antibody positive specimens, three samples & lt;0.37%& gt; demonstrated high levels of Zika virus-specific neutralizing antibody with PRNT50 titers of 1:160 to 1:640. Two of the three samples that demonstrated high levels of ZIKV antibodies was collected from the same village as that of the microcephaly case. **Conclusion:** The results indicated that there was low Zika virus circulation in Central Highland, Vietnam. As the seropositive cases were mostly found close to the microcephaly case & lt;6 family members and 4 neighbors& gt;, the results suggest that the outbreak is restricted to areas within close proximity to the case. Further studies of seroprevalence in the general population and continuous surveillance are expected to better understand the extent of the outbreak in general population and the potential for ZIKV transmission in the community in the future.

## **P-12 Zika fever in Central Vietnam, 2014-2015**

Shashika Lavangi Wijesooriya<sup>1)</sup>、Meng Ling Moi<sup>1)</sup>、Nguyen Co Thach<sup>1)</sup>、Nguyen T Thu Thuy<sup>2)</sup>、  
Vu T Bich Hau<sup>2)</sup>、Takeshi Nabeshima<sup>1)</sup>、Shingo Inoue<sup>1)</sup>、Taichiro Takemura<sup>1)</sup>、Pham T Thu Hang<sup>2)</sup>、  
Le T Quynh Mai<sup>2)</sup>、Kouichi Morita<sup>1)</sup>、Futoshi Hasebe<sup>3,4)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan、

<sup>2)</sup>Department of Virology, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam、<sup>3)</sup>NIHE-Nagasaki Friendship Laboratory, Nagasaki University, Hanoi, Vietnam、<sup>4)</sup>Vietnam Research Station of Nagasaki University, Nagasaki, Japan

Zika virus (ZIKV) is a flavivirus of the family Flaviviridae. The disease is first reported in humans, in 1953. Until

recently, there has been limited data on global Zika outbreaks. As of early 2018, a total of 86 countries have reported transmission of ZIKV. In Vietnam, 257 ZIKV cases has been confirmed from 2016-2018. However, little is known on the extent of ZIKV epidemic in Vietnam prior to 2016. In this study, we aim to determine the extent of ZIKV outbreak in Vietnam prior to the recent reported outbreaks. A total of 622 serum samples collected from Hue, Vietnam, from 2014 to 2015 was used in this study. The serum samples were first determined for the presence of ZIKV IgM antibodies by using an in-house kit. ZIKV IgM positive samples were further tested for anti-DENV IgM. A total of 27 positive samples for ZIKV IgM antibodies, were tested for the presence of ZIKV RNA using real-time PCR. Of the 622 samples from patients with acute fever, 158 (24.7%) were positive for anti- ZIKV IgM antibody. Among 158 ZIKV positive samples, 41 (25.9%) were also positive for DENV IgM antibodies. Using the 158 samples, flavivirus consensus RT-PCR was performed and 27 (27/158, 17.0%) were positive for ZIKV RNA. Real-time PCR assay was also performed for 27 anti-ZIKV IgM antibody positive samples. Thirteen samples (13/27, 48%) were positive for ZIKV RNA (Ct level = 22-43). Sequence analyses was performed for 25 (92.6%) of the 27 samples that were positive for flavivirus consensus RT-PCR. This study provides evidence of past ZIKV transmission in Vietnam, prior to reports on recent outbreaks, suggesting the importance of continuous monitoring of the disease in the region.

### P-13 ギラン・バレー症候群関連抗原ガングリオシドのジカウイルス粒子内取込機構

左 一八<sup>1)</sup>、ヌグェ トン ミャ ミャツ<sup>2)</sup>、森田 公一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>会津大学短期大学部 食物栄養学科、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 ウイルス学分野

**【背景と目的】** ジカ熱はエンベロープウイルスであるジカウイルスの感染によって引き起こされる急性熱性疾患である。2007年以降に発生した大規模な流行以降、熱帯・亜熱帯地域を中心として世界規模で流行している。先天性ジカウイルス感染症（小頭症）に加えて、ウイルス感染時にギラン・バレー症候群（GBS）が多発することなど、ジカウイルス先行感染との関連性が報告されている。GBSは、遠位運動神経軸索障害による急性四肢運動麻痺を主症状とする疾患であり、ジカウイルス先行感染時には、ガングリオシドと呼ばれる分子に対する抗体が高頻度に検出される急性運動軸索型ニューロパチー（AMAN）と呼ばれる重症のGBSであることが報告されている。本研究は、ジカウイルス粒子膜に存在するGBS関連ガングリオシド抗原分子を探索、同定するとともに、宿主細胞内ガングリオシド動態を解析することにより、GBS関連抗原ガングリオシドのジカウイルス粒子内取込機構を明らかにすることを目的とする。

**【方法】** 哺乳動物の生体膜上に存在するガングリオシドは、シアル酸と呼ばれる糖とガラクトースの共通構造に加えて、多種の糖、多様な糖鎖結合様式を有する一群の脂質ファミリー分子である。一方、蚊をはじめとする節足動物にはガングリオシドが存在しない。宿主細胞および細胞で増殖させたジカウイルス粒子に含まれるGBS関連ガングリオシド分子を、免疫生化学的手法を用いて探索した。さらにガングリオシド分子に対する特異的検出プローブを用いて宿主細胞内動態を解析した。

**【結果および考察】** 哺乳動物および蚊由来のフラビウイルス感染感受性細胞株にGBS関連ガングリオシドあるいは相同性分子が検出された。GBS関連糖脂質・ガングリオシドはこれまでに哺乳動物にのみ存在が知られていたが、蚊由来C6/36細胞株にもAMAN型GBSの原因とされるGM1aと呼ばれるガングリオシドと相同性をもつ糖脂質分子の存在が示された。Vero細胞で増殖したジカウイルス粒子中に検出されたGBS関連糖脂質・ガングリオシドは、GM1aのみであり、他の糖脂質・ガングリオシドは検出されなかった。ウイルス粒子中に存在するGM1a量は、ジカウイルスではDENVに比べて6倍以上高かった。ヒトへの感染時、蚊の体内で増殖したウイルス粒子に取り込まれたGM1aと相同性を有する昆虫型糖脂質に対する抗体産生が、GBS発症の原因となる可能性がある。ヒトでのジカウイルス感染では、腎臓でウイルスが増殖する可能性が示唆されていることから、腎臓

で増殖したウイルスに取り込まれたヒト由来の多様なGBS関連ガングリオシドに対する抗体産生の可能性がある。これまでデングウイルスの流行に伴う有意なGBS患者の発生は報告されていないことから、ジカウイルスではGBS関連ガングリオシドの選択的取込メカニズムが存在することが示唆された。

#### **P-14 Antiviral Activity of PF-429242 molecule, on Zika Virus Infection**

Sandra Kendra Raini<sup>1,2)</sup>、Ngwe Tun Mya Myat<sup>1)</sup>、Ando Tsuyoshi<sup>1)</sup>、Inoue Shingo<sup>1)</sup>、Hayasaka Daisuke<sup>1)</sup>、Morita Kouichi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University、<sup>2)</sup>Graduate School of Biomedical Science, Nagasaki University

Zika virus (ZIKV) is a re-emerging arthropod-borne flavivirus of African origin, transmitted by Aedes mosquitoes. Until 2007, ZIKV was limited to Africa and Asia where mild cases were reported. However, in recent years, ZIKV has been responsible for major outbreaks globally associated with a wide range of neurological complications. There is no vaccine or specific antiviral therapy for prevention and treatment. Therefore drug discovery research for ZIKV is of utmost importance.

The main objective of this study was to investigate the antiviral activity of PF-429242 against ZIKV Viruses; MR 766, African (MR) strain and H/PF/2013, Asian (P5) strain using several primate derived cell lines. Virus titer was determined by Focus Assay and cell toxicity by MTT assay.

PF molecule effectively suppressed ZIKV infection on both MR and P5 strains at a concentration of 12uM in T98G, SK-N-SH and Hela cells. Initial antiviral differences were observed around 24 hours post infection. Viral suppression was significantly higher on P5 strain as compared to MR strain. However, no antiviral activity was found in Vero, BHK and HEK-293 cell lines. After 3 day treatment with PF compound, more than 80-100% of cells was alive at a concentration 12uM in T98G, SK-N-SH and Hela cells. Our results suggest that PF-429242 compound is a possible effective and safe anti-ZIKV agent.

#### **P-15 Congenital Zika virus infection in a birth cohort in Vietnam, 2017-2018**

Elizabeth Ajema Chebichi Luvai<sup>1)</sup>、Ngwe Tun Mya Myat<sup>1)</sup>、Moriuchi Masako<sup>4)</sup>、Sandra Kendra Raini<sup>1)</sup>、Dang Duc Anh<sup>2)</sup>、Kitamura Noriko<sup>3)</sup>、Takegata Mizuki<sup>3)</sup>、Moi Meng Ling<sup>1)</sup>、Yoshida LayMyint<sup>3)</sup>、Morita Kouichi<sup>1)</sup>、Moriuchi Hiroyuki<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine and Leading Program, Nagasaki University、

<sup>2)</sup>National Institute of Hygiene and Epidemiology、<sup>3)</sup>Department of Pediatric Infectious Diseases, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University、<sup>4)</sup>Department of Pediatrics, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

**Background:** Zika virus (ZIKV) research in the Americas has led to the discovery that congenital ZIKV infection can cause severe fetal abnormalities, including microcephaly, intrauterine growth restriction, stillbirth and blindness. Despite a longer circulation of ZIKV in Asia, only three confirmed cases of congenital ZIKV infection with microcephaly have been reported in this region: two in Thailand and one in Vietnam. There are limited data available on the incidence of ZIKV infection in the birth cohort in Asia. The purpose of this study was to detect anti-



ZIKV antibodies in umbilical cord blood or neonatal blood samples collected in Vietnam from 2017-2018.

**Methods:** A total of 880 samples, 758 cord blood samples from a birth cohort and 122 plasma samples from neonates suspected of congenital infections, were collected at Khanh Hoa General Hospital, Nha Trang, Vietnam. These samples were tested for ZIKV infection by using flavivirus IgG indirect ELISA, IgM capture ELISA for ZIKV, dengue virus (DENV) and Japanese encephalitis virus, and focus reduction neutralization tests for the aforementioned flaviviruses.

**Results:** Of the 880 samples, 1.3% (12/880) and 0.8% (7/880) were positive for ZIKV-IgM and DENV-IgM, respectively, while 80% (703/880) were positive for flavivirus IgG. Among the 12 ZIKV IgM positives, 10 (1.1%) including 1 neonatal and 9 birth cohort samples were confirmed by ZIKV neutralization test.

**Discussion:** This is the first report on the surveillance of ZIKV infection of pregnant women and neonates in Vietnam. Our results indicate that congenital ZIKV infection is not rare in Vietnam. Screening of umbilical cord blood samples for ZIKV infection and long-term clinical assessment of infected offspring may demonstrate an impact of congenital ZIKV infection in Asia.

## P-16 長崎県下における日本脳炎患者の発生要因

吉川 亮<sup>1,2)</sup>、比嘉 由紀子<sup>3,4)</sup>、二見 恭子<sup>3)</sup>、砂原 俊彦<sup>3)</sup>、山下 綾香<sup>5)</sup>、三浦 佳奈<sup>5)</sup>、松本 文昭<sup>5)</sup>、鍋島 武<sup>1)</sup>、井上 真吾<sup>1)</sup>、森田 公一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 ウイルス学分野、<sup>2)</sup>長崎県諫早食肉衛生検査所、

<sup>3)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 病害動物学分野、<sup>4)</sup>国立感染症研究所 昆虫医科学部、

<sup>5)</sup>長崎県環境保健研究センター 保健科

**【はじめに】**長崎県では2000年以降8名の日本脳炎患者の発生が確認されている。特に2016年に対馬市で起きた4名（うち1名死亡）の続発事例は、最近の国内患者発生状況からみると異例なものであった。このことから長崎県は長崎大学熱帯医学研究（熱研）や国立感染症研究所の協力のもと再発防止、原因究明にむけた調査研究を行った。これに併せて、演者らは2010年、2011年および2013年（死亡事例）に患者報告がある諫早市においても調査を実施した。一方、韓国では近年、遺伝子型V型の日本脳炎ウイルス（JEV）の出現が報告され、我国への侵入も危惧される現状にある。今回、日本脳炎媒介蚊とJEVの動向を把握することにより長崎県下の本感染症の発生要因を探索し、患者の再発防止に寄与することを今回の目的とした。

**【材料と方法】**諫早市内に定期調査地点を設置し、当該地点で6月～10月にかけて蚊を採集し、蚊の発消長および蚊のJEV感染率を調査した。採集は原則毎月1回（1晩）とし、農場豚舎周辺において吸虫管およびUVトラップを用い、吸虫管では日没後約2時間、UVトラップでは日没後～翌早朝にかけて行った。採集した蚊は熱研病害動物学分野にて蚊種の同定を行い、月ごとに採集数を集計した。また、採集した蚊を雌雄、種ごとに分けて原則20個体を1プールとし、239プール（うちコガタアカイエカ（Ct）136プール）を作製し、蚊からのウイルス分離を行った。分離された場合、RT-PCRにてJEVと同定後、分子疫学解析を行った。

**【結果】**6月～10月の計6回の採集で5属13種、3,733個体（雌3,685、雄48）の蚊が採集された。最も多く採集されたのはJEVの主要な媒介蚊であるCtの2,601個体（全体の69.7%）で、Ctは7月をピークに以降は減少する発消長を示した。ウイルス分離の結果、Ctの16プール（7月採取分15プール、8月採取分1プール）からJEVを分離し、CtのJEV感染率は0.62%（2,601個体中少なくとも16個体）となり、特に7月は1.05%（1,435個体中少なくとも15個体）と高率となった。分離されたJEVは分子疫学解析の結果、遺伝子型は1型で、現在、国内で分離される主な遺伝子型であった。

**【考察】**今回、遺伝子型V型の侵入は現時点では確認できなかったが、諫早市では7月にはJEV感染蚊の出現が確認され、かつ高率にJEV感染蚊が存在することが明らかとなった。2000年以降に諫早市では3名の日本脳炎患者

が報告されていることから、本疾患のリスクが高い地域であることが再確認された。このことは、蚊（媒介動物）～豚（ウイルス増幅動物）の感染環が成立する地域では、諫早市に限らず本疾患に対する注意が必要であることを示している。一方、豚の飼養がない離島の対馬での調査結果（別途、発表）を考慮すると、本県は本疾患の発症リスクの要因が複数あることが明らかとなり、感染症対策となる本調査研究は今後も継続していく必要性が感じられた。

## **P-17 Seroprevalence of Japanese encephalitis virus in Kota Kinabalu, Sabah**

Mori Daisuke<sup>1)</sup>、Ngwe Tun Mya Myat<sup>2)</sup>、Leaslie John Jecelyn<sup>3)</sup>、Binti Sabri Shahnaz Irwani<sup>4)</sup>、  
Binti Shaharom Saliz Mazrina<sup>4)</sup>、Siat Yee Fong Alison<sup>3,5)</sup>、Iha Hidekatsu<sup>6)</sup>、Morita Kouichi<sup>2)</sup>、  
Ahmed Kamruddin<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup>Universiti Malaysia Sabah、<sup>2)</sup>Nagasaki University、<sup>3)</sup>Universiti Malaysia Sabah、<sup>4)</sup>Queen Elizabeth II Hospital、<sup>5)</sup>Universiti Malaysia Sabah、<sup>6)</sup>Oita University

**Background:** Japanese encephalitis (JE) is a vector-borne zoonotic disease caused by the Japanese encephalitis virus (JEV). JEV belongs to genus *Flavivirus*, under the family of *Flaviviridae*. This virus causes central nervous system disease in human and horses. Although JE is considered as an important disease among children, however, it is not considered a serious public health threat in Malaysia, except in Sarawak state. Four main JE outbreaks have been reported in Malaysia: during 1974 in Pulau Langkawi; 1988 in Pulau Pinang; 1992 in Serian Sarawak; and 1998-1999 in Perak and Negeri Sembilan state. However, the true incidence of JE in Malaysia is unknown and almost certainly underestimated in different states. In Sabah state the burden of JE is not known. Therefore, to obtain a better picture of JEV s distribution among the population this study was performed in Kota Kinabalu, the capital of Sabah state in Borneo.

**Methodology:** We performed a cross-sectional study using serum from volunteer blood donors during August 2016 and July 2017. A total of 660 serum samples were tested using an in-house JE IgG ELISA were performed according to the standard methods.

**Results:** Of 660 serum samples 278(42.1%) were positive for JEV antibody; the male;female ratio was 1.1:1. JEV positive sample distribution based on ethnicity showed that 57.8% (37/64) were Bajau, 41.9% (18/43) Dusun, 40.0% (40/100) Kadazan, 41.1% (72/175) Chinese, and 34.8% (62/178) Malay.

**Conclusion:** We determined that about two-fifth of the population living in Sabah are positive for anti-JEV antibody, which might be considered as high. However, JE IgG ELISA has cross-reactivity with anti-dengue and other flavivirus IgG. Therefore, JEV neutralization test should be done in future to determine the exact seroprevalence of JEV in Sabah. Furthermore, large scale hospital-based studies are needed to determine the burden of JEV in Sabah.

## **P-18 Analysis on the mechanism of genotype shift of Japanese encephalitis virus from genotype I to III in Vietnam through the application of a cell culture model**

Phan Thi-Nga<sup>1)</sup>、Do Phuong-Loan<sup>1)</sup>、Bui Minh-Trang<sup>1)</sup>、長谷部 太<sup>2)</sup>、森田 公一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>National Institute of Hygiene and Epidemiology、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学研究所

Japanese encephalitis virus (JEV) is mosquito-borne virus that causes serious public health issues in Asia. JEV consists of five genotypes namely GI, GII, GIII, GIV and GV. Recently the emergence of GI and its replacement by GIII in the global context was recorded. Therefore, we analyzed the mechanism by which GI replaces GIII by using a cell culture model to compare with the circulation of the two JEV genotypes (GI and GIII) in nature. In this study, 57 JEV strains (including the 12 strains from cerebrospinal fluids of confirmed Japanese encephalitis patients) isolated in Vietnam between 1964 and 2017 were subjected to direct envelope gene sequencing and genotyping. Results showed the presence of GIII first followed by GI in later years. The first GIII strains were detected in a patient in 1964 and in mosquitoes in 1979; whereas, the first GI strains were detected in humans in 1990 and in mosquitoes in 1994. After 2004, GIII strains were displaced by GI strains. A cell culture model was designed to analyze the mechanism of the JEV genotype shift. The cell lines RD, PS, and C6/36 cells which originated from human, porcine and mosquitoes, respectively, were used in the model. Each cell line was inoculated by a mixture of JEV GI and GIII strains. The multiplication of GI and GIII strains was monitored by plaque assay and quantitative real-time RT-PCR. The experiment showed that the GI strain propagated and was maintained more efficiently in C6/36 and PS cells; whereas, GIII strain propagated and was maintained more efficiently in RD. Further surveillance is required to confirm the disappearance of the GIII strains in nature and the emergence of other new JEV genotype in Vietnam after the long-term use of JEV vaccines.

## P-19 対馬における日本脳炎患者発生に伴う疫学調査

山下 綾香<sup>1)</sup>、吉川 亮<sup>2)</sup>、三浦 佳奈<sup>1)</sup>、松本 文昭<sup>1)</sup>、田栗 利紹<sup>1)</sup>、砂原 俊彦<sup>3)</sup>、二見 恭子<sup>3)</sup>、比嘉 由紀子<sup>3,4)</sup>

<sup>1)</sup>長崎県環境保健研究センター、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野、

<sup>3)</sup>長崎大学熱帯医学研究所病害動物学分野、<sup>4)</sup>国立感染症研究所昆虫医科学部

**【はじめに】** 日本脳炎は日本脳炎ウイルス (JEV) により起きる急性脳炎であり、国内ではウイルス増幅動物である豚から主にコガタアカイエカを介してヒトに伝播される。2016年に、豚の飼養がない離島の対馬市で、死亡例1名を含む4名の日本脳炎患者が立て続けに発生したことから、当地に生息する媒介蚊およびイノシシを対象とする疫学調査を行ったのでその結果を報告する。

**【方法】** 調査は2016年10月と2017年4月～9月にかけて実施し、調査対象はUVライトトラップおよびドライアイスCDCトラップにて捕集された蚊とした。捕集された蚊は実体顕微鏡下で、触肢、吻、翅およびその斑紋などの特徴を基に分類・同定し、媒介蚊ごとに捕集数を集計して発消長を調査した。分類・同定後、捕集された蚊は最大20匹を1プールとして調査日、調査場所、蚊の種類、雌雄および吸血の有無ごとにプール作製を行って、遺伝子検索およびウイルス分離を実施した。種同定後のコガタアカイエカの一部は分子生物学的手法により、日本鹿児島県本土以北特有の遺伝子型をもつ日本型とそれ以外の国と琉球列島に分布する大陸型の判別を行った。また、2016年10月～11月に捕獲されたイノシシ19頭の血清を用い、遺伝子検索、ウイルス分離および抗JEV抗体価 (IgM、IgG) 測定を行った。

**【結果】** コガタアカイエカは2016年の調査では4,155匹中152匹 (3.7%) しか捕集されなかったが、2017年の調査では14,274匹中6,192匹 (43.4%) のコガタアカイエカが捕集された。このとき、捕集地点によって差はあったが、6月末が最も多く捕集された。両調査で得られた全ての乳剤 (2016年246プールおよび2017年920プール) およびイノシシ血清からJEV遺伝子は検出されず、ウイルスも分離されなかった。捕集したコガタアカイエカの一部に大陸型が含まれることを確認した。また、イノシシ血清から抗JEV-IgM抗体陽性の個体は確認できなかったが、抗JEV-IgG抗体陽性の個体は19頭中6頭 (31.6%) であった。

**【考察】** 今回の調査結果から、対馬市では6月末にコガタアカイエカ発生のピークがあり、2016年の調査は発生ピー

クを過ぎたものであった。8月以降はキンイロヤブカが優勢になると考えられた。本調査では、ウイルスに関する情報は得られず、今回の事例の原因究明はできなかったが、対馬で日本脳炎患者が連続した事実は確かであり、抗JEV-IgG抗体陽性のイノシシが確認されたことは、ブタのいない対馬市におけるJEVの分布を明確に示すものと考えられる。また、大陸型のコガタアカイエカが対馬島内で経時的に確認されたことから、大陸からの蚊の飛来による日本脳炎ウイルスの侵入の可能性も示唆される。今後も当地における調査を続けることが重要である。

## P-20 ファビピラビルの狂犬病ウイルスへの効果の再評価: *in vivo*イメージングによる解析

山田 健太郎<sup>1,2)</sup>、野口 賀津子<sup>2,3)</sup>、貝森 峻<sup>2)</sup>、君付 和範<sup>2)</sup>、米納 孝<sup>4)</sup>、古田 要介<sup>4)</sup>、西園 晃<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>大分大学 医学部 全学研究推進機構、<sup>2)</sup>大分大学 医学部 微生物学講座、

<sup>3)</sup>南九州大学 健康栄養学部 食品開発科学科、<sup>4)</sup>富山化学工業株式会社

**【目的】** 狂犬病は狂犬病ウイルスによって引き起こされる致死性の脳炎で、WHOは「顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Diseases: NTDs)」の一つに挙げている。狂犬病発症後の治療法は未だ確立されておらず、その致死率はほぼ100%である。ファビピラビル (T-705) は広くRNAウイルスに対して抗ウイルス活性を示す核酸アナログ製剤であり、以前に我々は狂犬病ウイルス野外株感染モデルマウスを用いて、ウイルス接種直後から7日間のファビピラビルの経口投与 (300 mg/kg・day) は発症阻止に有効であったが、2日遅れの投与開始では、ほとんど効果が認められなかったことを報告した (Yamada et al, J Infect Dis, 2016)。このことから、ファビピラビルは中枢神経系に侵入したウイルスに対しては効果が低いことが推測されたが、未だその確証は得られていない。*In vivo*イメージングは同一個体において経時的にウイルス感染動態を観察できる強力な解析手法であり、これまでに抗ウイルス薬の評価にも有効であることが示されている。そこで今回、ファビピラビルの狂犬病ウイルスに対する効果について、レポーター遺伝子発現組換え狂犬病ウイルス感染マウスを用いた*in vivo*イメージングにより、再評価を行った。**【方法】** 赤方偏移型ルシフェラーゼ (RFLuc) を発現する組換え狂犬病ウイルス野外株 (1088/RFLuc) を定法により作出した。培養細胞におけるファビピラビルの1088/RFLucに対する効果をマウス神経芽細胞種由来Neuro-2a細胞を用いて評価した。また、 $10^5$  FFUの1088/RFLucをヘアレスマウス (♀、6週齢) の右後肢筋肉内に接種し、接種直後もしくは2日後にファビピラビルの経口投与 (300、600、もしくは900 mg/kg・day) を開始し、経日的にD-ルシフェリンを腹腔投与してLumazone (日本ローパー) による全身イメージングを行い、発光シグナル強度の定量解析を行った。**【結果と考察】** Neuro-2a細胞におけるファビピラビルの1088/RFLucに対する50%阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) は、細胞中のルシフェラーゼ活性値で算出した場合は16.34  $\mu$ M、培養上清中のウイルス力価で算出した場合は18.39  $\mu$ Mで、両者の値は近似した。*In vivo*イメージング解析において、1088/RFLuc接種直後からのファビピラビル連日投与 (300 mg/kg・day) では、中枢神経系における発光シグナルの抑制、すなわちウイルス増殖抑制が顕著に認められたが、2日遅れの投与では有意な抑制は認められず、ファビピラビルは中枢神経系に侵入したウイルスに対しては効果の低いことが示された。そこで、投与量を600もしくは900 mg/kg・dayに増やして、1088/RFLuc接種後2日目から連日投与を行ったところ、中枢神経系におけるウイルス増殖抑制効果が用量依存的に認められた。このことから、ファビピラビルによる狂犬病治療を可能にするためには、薬剤を効果的に中枢神経系に送達する方法を確立する必要があると考えられた。



**P-21 Isolation and genomic characterization of Culex flaviviruses from mosquitoes in Myanmar**

Ngwe Tun Mya Myat<sup>1)</sup>、Aung Kyaw Kyaw<sup>1,2)</sup>、Corazon Buerano<sup>1,3)</sup>、鍋島 武<sup>1)</sup>、  
Sakaguchi Miako<sup>4)</sup>、安藤 豪<sup>1)</sup>、井上 真吾<sup>1)</sup>、早坂 大輔<sup>1)</sup>、Kyaw Zin Thant<sup>2)</sup>、森田 公一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>ウイルス分野、熱帯医学研究所、長崎大学、<sup>2)</sup>Department of Medical Research, Ministry of Health and Sports, Myanmar、<sup>3)</sup>Research and Biotechnology, St. Luke Medical Center, Quezon City, Philippines、<sup>4)</sup>Central Laboratory, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

An entomological surveillance of arboviruses was conducted in Myanmar in 2014. A total of 8357 Culex mosquito vectors were collected in the Mandalay area and virus isolation was done by using the mosquito cell line C6/36 E2. A total of eighteen strains of Culex flavivirus (CxFV) were isolated from Cx. tritaeniorhynchus, Cx. vishnui and Cx. fuscocephala. Like other insect-specific flaviviruses, CxFV can replicate only in mosquito cells but not in mammalian cells. These CxFV strains that were isolated in Japan from mosquitoes collected in Myanmar were closely related to the Wang Thong virus detected from Cx. fuscocephalus in Thailand and Cx. theileri flavivirus (CTFV) isolated from Cx. theileri mosquitoes in Portugal and Turkey. They encode a single open reading frame with 3357 amino acid residues. They have the characteristics of flaviviruses and have 95.62% amino acid identity with CTFV. This is the first report of CxFV in Myanmar with the characterized viral genome. This study illustrated that CxFV was circulating among the vectors of human pathogenic arboviruses in Myanmar but the impact of CxFV on other flaviviruses which are endemic in the study area still remains to be explored.

**P-22 北海道のアライグマにおけるダニ媒介性脳炎ウイルス疫学調査**

内田 玲麻<sup>1)</sup>、戸田 有恒<sup>1)</sup>、Ngwe Tun Mya Myat<sup>2)</sup>、早坂 大輔<sup>2)</sup>、村松 康和<sup>1)</sup>、浅川 満彦<sup>1)</sup>、  
森田 公一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>酪農学園大学 獣医学群 獣医学類、<sup>2)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野

**Background:** Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is one of the zoonotic Flaviviruses, and causes severe encephalitis in humans. To date, five TBE patients have been reported in Hokkaido, Japan, and positive antibodies against TBEV have been confirmed in dogs, horses, small rodents and wild deer. Meanwhile, the population and distribution of adventive (*i.e.* non-native) wild raccoons have increased and expanded in Hokkaido, however little is known about the prevalence of TBEV infection in raccoons in Japan. In this study, we investigated the TBEV infection status of wild raccoon and ticks in Ebetsu, Hokkaido to evaluate the virus distribution and public health importance of the animal.

**Materials & Methods:** Twenty-eight raccoon sera samples were collected from March 2016 to June 2017 in Ebetsu. Thirty-two of ticks that had sucked blood from the raccoons' skin and 356 field ticks (68 pools) were captured and their species were identified. Indirect fluorescent assay (IFA) and focus reduction neutralization test (FRNT) for TBEV and Japanese encephalitis virus (JEV) were performed on the raccoon sera. Total RNA was extracted from sera and homogenized ticks, and quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR) was performed to screen TBEV-encoding nonstructural protein 1 (NS1) gene.

**Results:** IFA showed 6 of 28 raccoon sera were positive for TBEV, and 3 sera of those 6 showed 50% focus reduction endpoint titers (FRNT<sub>50</sub>) for TBEV between 40 and 320. Eleven of 68 field-collected tick pools showed lower crossing point (Cp) value of qRT-PCR. In one pool consisted of adult male *Ixodes ovatus*, partial NS1 gene was confirmed by sequencing; however another region was not detected by conventional RT-PCR. No TBEV RNA was

detected in raccoon sera and ticks that had sucked blood from the raccoons' skin.

**Discussion:** Three samples of raccoon sera showed a high neutralization titer for TBEV but not for JEV, which indicated that TBEV infection had occurred among wild raccoons living in Ebetsu. It has been reported TBEV infection rate of wild deer in Northern Hokkaido was 5%, and our study showed slightly high infection rate (10.7%) in wild raccoons in Ebetsu. However the viremia of TBEV in the raccoons were not confirmed in this study. Our results will contribute to better understanding of the distribution and lifecycle of TBEV in Hokkaido, Japan.

## P-23 スリランカに急増する原因不明の慢性腎臓病(CKDu)とハンタウイルス感染症の関連についての血清疫学的解析

吉松 組子<sup>1,4)</sup>、ガマゲサラスクマラ ヨマニ<sup>2)</sup>、ロクパシラゲ スイトミニ<sup>1,3)</sup>、  
ムシンハ デビンダ<sup>4)</sup>、ナナヤカラ ニシャンタ<sup>5)</sup>、グナラスネ リシャンタ<sup>6)</sup>、清水 健太<sup>1,3)</sup>、  
津田 祥美<sup>1,3)</sup>、有川 二郎<sup>1,3)</sup>、ガマゲ チャンディカ<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>北海道大学 医学部、<sup>2)</sup>ペラデニア大学 医学部、<sup>3)</sup>北海道大学 大学院医学研究院、

<sup>4)</sup>北海道大学 大学院国際感染症学院、<sup>5)</sup>キャンディ教育病院 腎臓病および移植ユニット、

<sup>6)</sup>ギランドゥルコッテ地区病院、腎臓病クリニック

**背景:** スリランカでは1990年代から北部および北東部の乾燥地域において、原因不明の慢性腎臓病 chronic kidney disease of unknown etiology (CKDu)が急増している。CKDuは日本におけるCKDと異なり、糖尿病や高血圧などの基礎疾患を持たない農業に従事する比較的若い男性に多発することから、大きな社会問題となっている。CKDuには流行地と非流行地が見られることから、感染症や汚染物質の関与が疑われてきたが、未だ原因は不明である。我々はげっ歯類媒介性人獣共通感染症、腎症候性出血熱の原因であるハンタウイルス感染がCKDu発症のリスクであることを示唆する成績を得たので報告する。

**方法:** CKDu流行地であるGirandrukotteにおいてCKDu患者、腎臓病患者および対照として同地域の健常人、CKDu非流行地であるKandy地区の健常人血清、腎臓病患者血清について抗ハンタウイルス血清抗体を検出し、罹患ハンタウイルス血清型の推定を試みた。さらにこの2群について抗体保有と腎臓疾患、性別、年齢、職業との関連を調べた。さらにCKDu流行地のMedawachchiya, Wilgamua, 非流行地であるMatale地区のCKDu患者および健常人血清総計1700血清について抗体陽性率を明らかにした。また、げっ歯類を捕獲しウイルス宿主の特定を試みた。

**結果:** CKDu流行地においては腎臓病患者でおよそ50%の抗体陽性率が認められた一方、健常人の抗体陽性率は約15%であった。また、非流行地での抗体陽性率は3-5%であった。GirandrukotteとKandy地区の疫学的解析から、ハンタウイルス抗体を持つリスクは、農業に関連した職業・男性・40歳以上・腎臓疾患で高いオッズ比を示し、抗体保有とCKDuとの関連を示唆する結果を得た。また、血清型解析の結果、非病原性ハンタウイルスとして知られるタイランド型 (THAIV)の感染が示唆された。さらに、流行地のクマネズミおよびオニネズミにおける高い抗体陽性率が確認され、感染源となっている可能性が示された。

**考察:** スリランカに存在するTHAIVもしくは抗原的に類似したハンタウイルスの感染がCKDu発症リスクとなっている可能性が示された。

## P-24 長崎県内のネコ及びイヌにおけるSFTSウイルス感染の調査

安藤 豪<sup>1,2)</sup>、井上 真吾<sup>1)</sup>、Mya Myat Ngwe Tun<sup>1)</sup>、森田 公一<sup>1,2,3)</sup>、早坂 大輔<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野、<sup>2)</sup>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、

<sup>3)</sup>長崎大学感染症共同研究拠点

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）はマダニ媒介性のウイルス感染症である。血清疫学調査により、野生動物や伴侶動物におけるSFTSウイルス（SFTSV）感染例が報告され、さらに、ネコおよびイヌにおけるSFTS発症例が確認されている。そこで、国内の動物におけるSFTSV感染調査の必要性が挙げられている。そこで本研究では、長崎県におけるSFTS発症疑いのネコ及びイヌについて、SFTSV感染の調査を行った。

長崎県獣医師会の協力により、長崎県内の動物病院を受診し、SFTSV感染が疑われたネコ及びイヌについて、血液、口腔スワブ、直腸スワブ及び結膜スワブ検体の提供を受けた。それらの検体について、リアルタイムRT-PCRによるウイルスRNAの検出を行った。また、I型およびII型インターフェロンレセプターノックアウト（AG129）マウスに検体を投与し、ウイルス分離を試みた。分離されたウイルスについては、塩基配列を決定し系統樹解析を行った。

今年8月上旬までに集まったネコ50例及びイヌ4例について、ウイルスRNAの検出を試みた結果、ネコで14例、イヌで1例において陽性判定であった。また、ウイルス分離の結果、10検体からウイルスが分離された。系統樹解析の結果、長崎県北部の1例で中国タイプのSFTSVが確認された。

鹿児島大学および山口大学で行われた検査により長崎県のネコ3例でSFTSV陽性が確認されており、長崎県ではこれまでにネコで17例のSFTSウイルス感染例が確認されている。今年7月までの長崎県におけるヒトのSFTS発症例は4例であることから、ヒトにくらべ動物における感染・発症リスクが高いことが示唆された。

## P-25 The burden and genotype distribution of rotavirus among children under 5 years of age in Sabah, Malaysian Borneo

Ahmed Kamruddin<sup>1,2)</sup>、Mori Daisuke<sup>2)</sup>、Amit Lia Natasha<sup>2)</sup>、Chin Zefong Abraham<sup>3)</sup>、  
Mosiun Andau Konodan<sup>4)</sup>、Hwai Tan Bee<sup>5)</sup>、Emran Nor Amalina<sup>2)</sup>、Ibrahim Mohd Yusof<sup>3)</sup>、  
Dony Jiloris Julian Frederick<sup>6)</sup>、Jeffree Mohammad Saffree<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Borneo Medical and Health Research Centre, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia、<sup>2)</sup>Dept. of Pathobiology and Medical Diagnostics, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia、

<sup>3)</sup>Dept. of Community and Family Medicine, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia、<sup>4)</sup>Kuank District Health Office, Kunak, Sabah, Malaysia、

<sup>5)</sup>Sabah Children and Women Hospital, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia、<sup>6)</sup>Kota Kinabalu Area Health Office, Sabah State Health Department, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia

**Background:** Despite the availability of two vaccines, rotavirus is responsible for a considerable number of morbidity and mortality in children of developing countries. Malaysia is not an exception and Sabah is one of the diarrhea prone state. In Sabah a large number of children are suffering from diarrhea, however the exact burden of rotavirus infection and their genotype distribution are not known. Furthermore the contribution of evolution in the genotype distribution and prevalence are not known. This study will shed light on these important issues. **Objectives:** To determine burden and genotype distribution of rotavirus in Sabah. **Methods:** Diarrheal stool samples were collected from children <5 years old attending different hospitals Sabah. Samples were subjected to

enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting rotavirus-positive samples. Then genomic RNA was extracted to perform reverse transcriptase (RT)-PCR and sequencing for genetic analyses. **Results:** From August 2017 to July 2018, we have collected 101 samples from children; the male female ratio is 1.6:1. This shows a predominance of diarrheal infection in boys. The median age of the children is 21 months. In this study only 32.7% of the children were rotavirus positive. The genotype distribution among these children was in the following order: G4P[8] 31.6%, G9P[8] 10.5%, GxP[8] 10.5%, G1P[8] 5.3%, G3P[x] 5.3%, and nontypable 36.8%. **Conclusion:** The age distribution of rotavirus affected children is similar to other countries that younger children are more vulnerable to diarrhea. We found that in Sabah the predominant genotype is G4P [8]. Large number of nontypable strains indicating that conventional genotypes such as G1P [8], G2P [4], G3P [8], G4P [8], and G9P [8] are not common in Sabah. We are continuing research to reveal the genetic characterizations of rotavirus strains from Sabah.

## P-26 2017/2018シーズンの長崎県におけるエンテロウイルス流行株の解析

松本 文昭、三浦 佳奈、山下 綾香、田栗 利紹  
長崎県環境保健研究センター

**【はじめに】** エンテロウイルス (EVs) 感染症は、主に小児の間で夏季に流行し、そのウイルス型により多彩な臨床像を示すが、その診断は臨床症状によるものが大半で実験室内検索は十分に行われていない。現在、長崎県では実験室内診断に基づく県内のEVs流行状況を明らかにするために調査研究を実施している。今回、2017/2018シーズンに行った流行状況調査及び検出株の分子疫学的解析結果を報告する。

**【材料と方法】** 2017年4月から2018年3月までに県内10地点の協力医療機関において、EVs感染症と臨床診断された139検体を解析に供した。市販キットを用いたRNA抽出後、CODEHOP PCRによるEVsの遺伝子検索を行い、シーケンス法により塩基配列を決定し、ウイルスを型別した。遺伝子陽性検体は培養検査を試みウイルスが分離された場合には前述のとおり型別に供した。得られた分離株の一部はVP1領域全長の塩基配列を決定し、近隣結合法による分子系統樹解析に供した。

**【結果】** 調査した139検体のうち127検体からEVsの遺伝子が、64検体からウイルスが分離され、臨床検体の9割以上がEVs由来であることが確認された。ウイルス型別の結果、Coxsackievirus A6 (CV-A6) が58検体、Enterovirus A71 (EV-A71) が31検体、Coxsackievirus A16 (CV-A16) が14検体から検出され、検出株全体の8割以上を占めた。月別の検体数を見ると、2017年は夏季の流行に加え、小規模ながら10月から12月にかけて手足口病の流行が見られ緩やかな二峰性ピークを示した。上位3ウイルス型の検出数は4月のみCV-A16が優勢であったが5月から8月にかけてCV-A6が流行の主流となり、9月以降はEV-A71が主流流行株となった。EV-A71分離株16株の分子系統樹解析の結果、県内流行株はsubgenogroup B5とC1に分類された。

**【考察】** 2017/2018シーズンの長崎県では、夏季に加えて秋季から冬季にかけてEVsの流行が見られたが、これは2013年以降長崎県では検出事例のなかったEV-A71の流行によるものであった。検出されたEV-A71株は2つのsubgenogroupに分類され、そのうちB5は既報告株との相同性が高かったが、C1は既報告株とは配列が異なり、2015年にドイツで報告されたC1 variantと同じクラスターに分類された。これらのことから長崎県では異なるsubgenogroupのEV-A71が9月以降の流行に関与していたと考えられた。



**P-27 Visualizing filovirus lifecycle**

Takamatsu Yuki<sup>1,3</sup>、Larissa Kolesnikova<sup>1</sup>、Noda Takeshi<sup>3</sup>、Stephan Becker<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Virologie, Philipps-Universität Marburg、<sup>2</sup>German Center of Infection Research (DZIF), partner site Giessen-Marburg-Langen、<sup>3</sup>Lab. of Ultrastructural Virology, Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University

The filoviruses, Marburg virus (MARV) and Ebola virus (EBOV), cause severe hemorrhagic fever with high case-fatality rates in humans and nonhuman primates. No approved specific therapy is available, and therefore further understanding of the filovirus life cycle is essential for the development of novel therapeutic options.

Filovirus entry is accomplished by macropinocytosis, resulting in the release of the viral nucleocapsid from the endosomal/lysosomal compartment into the cytoplasm. The nucleocapsid (NC), which is responsible for viral genome transcription and replication, comprises NP (nucleoprotein), VP30 (transcription factor), VP35 (polymerase cofactor), and L (polymerase). VP24 is an additional factor required for NC assembly. The assembled NCs are transported from the inclusion bodies, the site for viral transcription/replication, to the budding site close to the plasma membrane where VP40 and GP located.

Recently, we have developed novel systems to visualize transport of NC-like structures (NCLSs) in the context of filovirus-specific virus-like particle production (Takamatsu, et al. PNAS. 2018). Using this system, we identified the viral factors essential for the transport of NCLSs. Also, we focused on the association of matrix protein with NCLSs during its transport and budding processes. Moreover, we are attempting to visualize each step of filovirus lifecycle by using live-cell imaging microscopy and electron microscopy. Our work will further contribute to our understanding of molecular mechanisms for filovirus lifecycle in association with the cellular factors, and the development of anti-viral drugs.

**P-28 Epidemic of influenza A/H1N1pdm09 and a first case of oseltamivir resistant strain in Myanmar 2017**

Su Mon Kyaw Win<sup>1</sup>、Irina Chon<sup>2</sup>、Lasham Di Ja<sup>1</sup>、Nay Chi Win<sup>1</sup>、Yadanar Kyaw<sup>3</sup>、  
Nay Lin<sup>4</sup>、Latt Latt Kyaw<sup>5</sup>、Htay Htay Tin<sup>5</sup>、渡部 久実<sup>1</sup>、齋藤 玲子<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>新潟大学ミャンマー感染症研究拠点、<sup>2</sup>新潟大学大学院 医歯学総合研究科 国際保健学分野、

<sup>3</sup>Sanpya General Hospital、<sup>4</sup>Pyinmana General Hospital (200 bedded)、<sup>5</sup>National Health Laboratory

**Background:** Influenza occurs in distinct outbreaks of varying extent every year. In July 2017, severe cases of influenza A/H1N1pdm09 were detected in Myanmar and the Ministry of Health and Sports of Myanmar declared the high level of alert to mitigate the influenza outbreaks in the country.

**Aims:** In this study, we report the circulation patterns, distribution of influenza subtypes, antigenicity and drug resistance of influenza A(H1N1)pdm09 virus at out-patients in Myanmar during 2017 influenza season.

**Methods:** Nasopharyngeal swabs were taken from out-patients presenting with influenza-like illness who visited to two surveillance sites in Myanmar during 2017. Influenza virus was screened by rapid diagnostic test. Viral isolation in MDCK cells and real-time PCR was performed for typing and subtyping of influenza virus. Cycling probe real-time PCR was also done to see oseltamivir-resistant (H275Y) virus. Neuraminidase inhibition assay using

fluorescent method was performed against the H275Y mutated strain and the strains using oseltamivir, peramivir, zanamivir and laninamivir. Selected A(H1N1)pdm09 isolates underwent hemagglutination inhibition assay to assess the antigenicity of influenza virus using vaccine strain. Genetic sequencing of hemagglutinin and neuraminidase protein was performed to see the relationship with other country strains circulated in the world.

**Results and Discussion:** Of the total 328 cases, 215 (66%) cases were influenza A(H1N1)pdm09. Influenza circulation peaked in month of July, rainy season. Antigenicity of A(H1N1)pdm09 viruses in Myanmar was similar to the vaccine strain for 2017-2018 and 2018-2019 seasons (A/Singapore/GP1908/2015). One H275Y mutated virus with no prior history of antiviral treatment was found. The strain showed elevated IC50 value for oseltamivir (301.5nM) and peramivir (21.9nM) but not for zanamivir and laninamivir, showing resistance to the two neuraminidase inhibitors. Both antiviral sensitive strains and the resistant strain were genetically very similar to A(H1N1)pdm09 strains circulating in Asia and other countries. Detecting one drug resistant virus in this study is the first time in Myanmar, showing importance for continuing antiviral monitoring.

## **P-29 Bacteriological and Virological Causes of Severe Pneumonia in Children Admitted to Yankin Children Hospital, Yangon, Myanmar**

Nay Chi Win<sup>1)</sup>、Lasham Di Ja<sup>1)</sup>、Su Mon Kyaw Win<sup>1)</sup>、Khin Nyo Thein<sup>2)</sup>、San Mya<sup>3)</sup>、  
Htay Htay Tin<sup>3)</sup>、鎌田 一宏<sup>1)</sup>、渡部 久実<sup>1)</sup>、齋藤 玲子<sup>1,4)</sup>、齋藤 明彦<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>新潟大学ミャンマー感染症研究拠点、<sup>2)</sup>Yankin Children Hospital、<sup>3)</sup>National Health Laboratory、

<sup>4)</sup>新潟大学大学院 医歯学総合研究科 国際保健学分野、

<sup>5)</sup>新潟大学大学院 医歯学総合研究科 小児科分野

**Background:** Severe acute respiratory infections, particularly pneumonia, remain the major reason for substantial morbidity and mortality worldwide, especially in children who live in developing countries. World health organization (WHO) estimates that acute respiratory infection account for 1.9 to 2.2 million childhood death annually, with 70% occurring in Africa and Southeast Asia.

**Aims:** This project aims to understand pathogens causing severe pneumonia in children in Myanmar.

**Methods:** This study is a laboratory based descriptive study. The respiratory tract samples and blood samples were collected from children who attending Yankin Children Hospital with diagnosis of severe pneumonia. Bacteriological examination was done by using Vitek 2 automated system and BactAlert machine. Virological examination of nasopharyngeal swabs was done by using polymerase chain reaction (PCR) and genetic sequencing methods.

**Results:** In this study, 288 patients participated in the study from January, 2017 to December, 2017. Among those, 170 (59%) participants were male, 57.6% of patients were less than one year of age. In total, 255 (88.5%) were collected for virological tests and the remaining 33 (11.5%) participants were collected for both bacteriological and virological tests. In total, 53 samples were collected from the 33 participants for bacteriology tests, 20 (37.7%) were blood and 33 (62.3%) were oropharyngeal swab. 1 (5%) out of 20 blood samples was detected pathogens: *Staphylococcus saprophyticus* and 13 (39.4%) of oropharyngeal swab were positive, including *Klebsiella pneumoniae* (n =7, 43.8%), *Acinetobacter baumannii* (n =3, 18.8%), *Enterobacter cloacae* (n =2, 12.5%), *Pseudomonas aeruginosa* (n =2, 12.5%), *Providencia stuartii* (n =1, 6.2%), and *Staphylococcus aureus* (6.2%). Among them, 66.6% of gram negative bacteria (n =8) were found to be multi-drug resistant (> 3 classes of antimicrobial drugs). In particular, 4 out of 7 *Klebsiella pneumoniae* produced extended spectrum beta-lactamase (ESBL). For virological evaluation, 19 (6.6%) was found to be positive for influenza A positive and 47 (16.3%) were positive for respiratory syncytial virus by rapid

detection kits. For influenza A positive samples, 16 out of 19 FluA positive samples were positive for H1N1 pdm09 and the rest were H3N2.

### **P-30 Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay for the detection of *Salmonella* Typhi**

Yamauchi Akihito<sup>1)</sup>、Parry Christopher M<sup>2)</sup>、Saito Nobuo<sup>3)</sup>、Yanagawa Manami<sup>1)</sup>、Yasuda Jiro<sup>3)</sup>、Kurosaki Youhei<sup>3)</sup>、Kato Kentaro<sup>3)</sup>、Suzuki Motoi<sup>3)</sup>、Ariyoshi Koya<sup>3)</sup>、Dhoubhadel Bhim Gopal<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学大学院 熱帯医学・グローバルヘルス研究科、<sup>2)</sup>リバプール熱帯医学校、

<sup>3)</sup>長崎大学熱帯医学研究所

**Introduction and Methodology** Globally, 26.9 million people suffer from typhoid fever annually. There is no gold standard of diagnostic test for *Salmonella* Typhi, which is the main pathogen of causing typhoid fever. In this study, we developed a Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay for *S. Typhi*.

Primers for the LAMP assay for *S. Typhi* were targeted to STY 2879 gene which is a specific gene for *S. Typhi* tested *in silico* and by PCR (Fan et. al, 2015). Additionally, loop primers (LP) were newly designed and added. We conducted LAMP assay and real-time PCR to assess the sensitivity (lower limit of detection) and the specificity with common primers (F3 and B3) used in both assays.

The sensitivity and the specificity were tested in purified DNA samples from *S. Typhi* and other 7 bacteria (negative controls) by LAMP and real-time PCR. The LAMP assay was conducted with a designated LAMP machine (Genie III) using two ways of detection; calcein base and DNA intercalator dye base. The LAMP assay and real-time PCR were validated with 8 blood culture broth samples and 6 buffy coat samples from a study of patients with fever in Manila, the Philippines.

**Result and Conclusion** The lower limit of detection was 3 copies in real-time PCR, 30 copies in DNA intercalator dye based LAMP, and 5 copies in calcein based LAMP. For the validation of LAMP against the 14 Philippines clinical samples, the sensitivities and the specificities were 100 % (1/1) and 100 % (13/13) by real-time PCR, 100% (1/1) and 100% (13/13) by calcein based LAMP within 30 min.

The primers were sensitive and specific for the detection of *S. Typhi*. Our LAMP assay could detect *S. Typhi* DNA from clinical samples with high sensitivity and specificity. The assay needs evaluated with a larger sample size to confirm these initial observations.

### **P-31 Validation of LAMP assay with heat block for the detection of *Salmonella* Typhi isolated from the blood culture of children attending Siddhi Memorial Hospital, Nepal**

Yamauchi Akihito<sup>1)</sup>、Parry Christopher M<sup>2)</sup>、Shrestha Dhruba<sup>3)</sup>、Bhakta Raya Ganendra<sup>3)</sup>、Sah Asok<sup>3)</sup>、Laghu Ujjwal<sup>3)</sup>、Pokharel Savee<sup>3)</sup>、Suzuki Motoi<sup>4)</sup>、Ariyoshi Koya<sup>4)</sup>、Dhoubhadel Bhim Gopal<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学大学院 熱帯医学・グローバルヘルス研究科、<sup>2)</sup>リバプール熱帯医学校、<sup>3)</sup>シッデイー記念病院、

<sup>4)</sup>長崎大学熱帯医学研究所

**Introduction** Infection with *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*) is a public health issue in developing countries, such as Nepal. The estimated incidence of typhoid fever is 59/100,000 per year in Kathmandu valley. A highly sensitive, specific and cost-effective diagnostic method for typhoid fever is needed. We validated the Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay with heat block for diagnosis, in which the end-point can be detected by naked eye.

**Methodology** Heat-block LAMP was conducted at 65 degree Celsius for 30 min. Primers for the LAMP assay for *S. Typhi* were targeted to STY 2879 gene. Additionally, loop primers (LP) were newly designed and added.

The validation was performed by checking against 65 bacterial isolates collected over a period of one year from Jan 16 in 2017 to Mar 23 in 2018 at Siddhi Memorial Hospital, Bhaktapur, Nepal. These included a range of bacteria isolated from the blood culture of children attending the hospital. The bacteria were sub-cultured on nutrient agar. DNA was extracted by the CDC and Qiagen methods. Sensitivity, specificity and costs of the LAMP assay were compared between the two DNA extraction methods.

**Results** The LAMP assay had sensitivity and specificity of 100% and 91.6%, respectively with DNA extracted by CDC method, and 100% and 95.8% by Qiagen method. The cost per one test using the CDC method was 70 yen, while the Qiagen method was 500 yen. CDC method was 7 times cheaper than Qiagen.

**Conclusion** A sensitive, specific, and cost-effective heat block LAMP assay was established and validated for the detection of *S. Typhi*. If the specificity can be improved, this heat block LAMP assay along with CDC DNA extraction method could be used for the confirmation of *S. Typhi* in resource limiting areas.

## **P-32 Comparative analyses of CTX prophage region of *Vibrio cholerae* seventh pandemic wave 1 strains isolated in Asia**

山城 哲<sup>1)</sup>、Pham Tho Duc<sup>2)</sup>、Nguyen Tuan Hai<sup>3)</sup>、岩下 華子<sup>1)</sup>、竹村 太地郎<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>琉球大学大学院医学研究科細菌学講座、<sup>2)</sup>長崎大学医歯薬学総合研究科、

<sup>3)</sup>ベトナム国立衛生疫学研究所、<sup>4)</sup>長崎大学熱帯医学研究所

*Vibrio cholerae* O1 is a causative agent of cholera, and cholera toxin, the principal agent of massive diarrhea is encoded by *ctxAB* in CTX prophage. The structures of CTX prophage region of *V. cholerae* strains isolated in the 7th pandemic wave 1 period from Asian countries were determined and compared.

Eighteen strains were categorized into 8 groups by CTX prophage region-specific RFLP and PCR profiles, and the structure of the region of a representative strain from each group was determined by DNA sequencing. Eight representative strains revealed 8 distinct CTX prophage regions with a variety combination of CTX-1, RS1, and a novel genomic island, on chromosome I. CTX prophage regions carried by the wave 1 strains were diverse in structure.

*V. cholerae* strains with an area specific CTX prophage region were estimated to circulate in southeast Asian countries, meanwhile, multiple strains with distinct types of CTX prophage region were co-circulating in the area. Analysis of phylogenetic tree generated by SNP differences across 2,483 core genes revealed that *V. cholerae* strains categorized in the same group based on CTX prophage region structure were segregated in closer clusters. It was plausible to hypothesize that CTX prophage region specific recombination events, or gain and loss of genomic elements within the region might have occurred at much higher frequencies and contributed to produce a panel of CTX prophage region with distinct structures among *V. cholerae* pathogenic strains in lineages with close genetical background at early wave 1 period of the 7th cholera pandemic.



### P-33 沖縄県における土壌からの病原性レプトスピラの分離

Hermawan Idam<sup>1)</sup>、松浦 千晶<sup>1)</sup>、佐藤 行人<sup>2)</sup>、山城 哲<sup>1)</sup>、トーマ クラウディア<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>琉球大学大学院 医学研究科、<sup>2)</sup>琉球大学研究推進機構戦略的研究プロジェクトセンター

**【背景と目的】** レプトスピラ症は世界各国で発生が認められる人獣共通感染症である。病原細菌レプトスピラ (*Leptospira* spp.) は、様々な動物を宿主とし腎臓に定着し、尿とともに環境に排出される。ヒトはレプトスピラに汚染された水や土壌と接触することにより感染する。レプトスピラは16SrDNA塩基配列に基づき23種に分類される。これらは、人や動物に病気を起こす病原性レプトスピラ (*Leptospira interrogans*を含む10種)、環境中にのみ生息する非病原性レプトスピラ (*L. biflexa*を含む7種) およびその中間型(6種)の3群に分けられる。本研究では、患者発生が多い沖縄本島北部で病原体の分離を試みた。**【材料と方法】** 沖縄本島北部の河川周辺(n:20)と琉球大学のキャンパス内(n:20)から土壌を採集した。これらの土壌にHEPESを加え、その上清を5種類の抗菌薬を含むEMJH培地に接種し、30℃で培養した。暗視野顕微鏡にてらせん菌の有無を確認し、EMJH寒天培地にてレプトスピラを分離した。16S rRNA遺伝子の系統樹解析によって種を同定した。また鞭毛遺伝子(*flaB*)、外膜タンパク質LipL32遺伝子(*lipL32*)を標的としたPCRを行い、*flaB* PCRのPCR産物についてはRFLPを行い既知のものと比較した。**【結果と考察】** 沖縄本島北部では20検体中17検体(85%)から19株のレプトスピラが分離された。一方、琉球大キャンパスでは20検体中3検体(15%)から3株のレプトスピラが分離された。沖縄本島北部で分離したレプトスピラは、8株が病原性レプトスピラ (*L. kmetyi* 5株, *L. alstonii* 3株)、3株が中間型の*L. wolffi*、8株が非病原性レプトスピラ (*L. meyeri*又は*L. yanagawae* 4株, *L. terpstrae* 4株) と同定された。病原性レプトスピラの8株は全て*lipL32* 遺伝子を保有し、*flaB* 遺伝子のRFLPの結果、そのうちのいくつかは既知の切断パターンと一致しなかった。以上のように患者発生が多い沖縄本島北部ではレプトスピラの分離率が大学周辺より高く、レプトスピラを保菌する動物が多く、レプトスピラが生存しやすい環境になっていることが示唆された。

### P-34 1980年に沖縄本島南部都市河川で分離された*Vibrio cholerae* O1 El Torの系統樹解析および病原性に関する研究

比嘉 直美<sup>1)</sup>、Nguyen Tuan Hai<sup>2)</sup>、竹村 太地郎<sup>3)</sup>、山城 哲<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>琉球大学大学院 医学研究科 細菌学講座、<sup>2)</sup>ベトナム国立衛生疫学研究所、

<sup>3)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 ベトナム拠点

**【背景と目的】** 1980年に沖縄本島南部の都市河川の汚泥および河川水から *Vibrio cholerae* O1生物型 El Tor血清型イナバが分離された。これらの河川分離コレラ菌をSyncase培地にて37Cで20時間振とう培養し、培養上清中のコレラ毒素 (CT) を抗CT感作ラテックスの逆受け凝集反応 (RPLA) 法およびウサギ結紮腸管法によるDe-testで検出を試みたが全て陰性で、ウサギ小腸粘膜への付着も見られなかったため、非病原性コレラ菌とされた。本河川分離コレラ菌株のゲノム解析およびCT産生能の再検討を試みた。

**【材料と方法】** 河川分離コレラ菌株12株中5株を選定してIllumina社次世代型シーケンサー (NGS) にて全ゲノム配列を決定し、様々な地域で分離された *Vibrio cholerae* 臨床由来および環境由来株のゲノム情報と合わせて合計199情報とし、それを用いてコア遺伝子SNPsに基づく系統樹を作成して河川分離コレラ菌株の遺伝的背景を推定した。また、当講座で開発したAKI-SW法を用いて同株のCT産生性を検討し、RPLA法、western blotting法、RT-PCR法で解析した。

**【結果と考察】** NGSで解析した河川分離コレラ菌株5株中2株(AJ01、AJ3)は *ctxAB* 遺伝子を含むCTX-1領域を有し、El Torタイプ *tcpA* を有していた。VSP-Iは保持するもののVSP-IIは欠落していた。同2株は系統樹解析の結果、南アジア臨床由来コレラ菌株と同じクラスターに属し、第7次コレラパンデミックwave1株と同じグループに分

類された。AKI-SW法にて培養した結果、AJ3はA-Bサブユニットを有するCTを培養上清中に分泌する事が確認された。一方AJ01はCT特異mRNAは産生するもののCTの発現は認められなかった。他の7株の河川分離コレラ菌株のうち、4株においてRPLA法にてCTの分泌が同様に確認された。今後この7株の全ゲノム解析を進め、1980年に沖縄本島南部の都市河川より分離されたコレラ菌株の由来に関する情報を得たい。

### **P-35 沖縄八重山医療圏におけるレプトスピラ症**

菅野 恵也

沖縄県立八重山病院

Leptospirosis in Ishigaki island, Okinawa. Leptospirosis is not common disease in Japan except at the subtropics area of Okinawa. We have experienced Leptospirosis about 20 cases in these 5 years, so we review these cases and consider preventive strategies.

### **P-36 Whole genome analysis of *Vibrio cholerae* isolated between 2007 and 2010 in Vietnam**

Taichiro Takemura<sup>1)</sup>, Fumito Maruyama<sup>2)</sup>, Atsushi Ota<sup>2)</sup>, Kazunori Murase<sup>3)</sup>, Nguyen Dong Tu<sup>4)</sup>, Masatomo Morita<sup>5)</sup>, Yu Takizawa<sup>5)</sup>, Makoto Ohnishi<sup>5)</sup>, Tetsu Yamashiro<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>Vietnam Research Station, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University、<sup>2)</sup>Section of Microbiology, Faculty of Medicine, Kyoto university、<sup>3)</sup>Parasitic Disease Unit, Faculty of Medicine, University of Miyazaki、<sup>4)</sup>Department of Bacteriology, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam、<sup>5)</sup>Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases、<sup>6)</sup>Department of Bacteriology, Graduate School of Medicine, University of Ryukyus

Recent genome analysis of *Vibrio cholerae* has revealed multiple waves affected for the cholera transmission in the world. In Vietnam, the latest cholera outbreak has been recorded between 2006 and 2010. We carried out whole genome analysis of *V. cholerae* isolated in Vietnam during the last outbreak period. Twenty-four clinical and 11 environmental O1 isolates from Northern and Southern Vietnam were subjected in this study. Phylogenetical analysis revealed that all the isolates are in the Wave3\_B cluster with one exception of VN\_10\_115AG\_Pt (Wave2 cluster). The isolates in 2007-2008 and 2010 made distinct sub-clusters in the Wave3\_B. The results were consistent with the previous report by PFGE analysis in the Vietnamese isolates (Nguyen VH et al, Epidemiol Infect. 2015) and suggest that the outbreaks in 2007-2008 and 2010 were causing by different clonal population. The closest relatives were identified as ICDC\_VC2272 (China, 2008) and 4122\_VC (Vietnam, 2008) for 2007-2008 sub-cluster, and CP1042\_15 (Thailand, 2010), ICDC\_JS4 and AHV1003 (China, 2010) for 2010 sub-cluster, respectively. Both of sub-clusters were relatively close to the India isolates in 2007 and 2009, and Nepal isolates in 2010. The South Asian isolates in the same Wave3\_B clusters made a different sub-cluster. Our results that the Southeast and East Asian isolates made independent sub-cluster from South Asian isolates may indicate the micro-evolution of *V. cholerae* in the region during the period.

**P-37 Amorphous structure connects a nascent Golgi-like Sinton Mulligan's clefts to *Plasmodium knowlesi*-infected erythrocyte membrane**

Kaneko Osamu<sup>1,2)</sup>、Asare Kwame Kumi<sup>1,2)</sup>、Sakaguchi Miako<sup>3)</sup>、Lucky Amuza Byaruhanga<sup>1,2)</sup>、Asada Masahito<sup>1,2)</sup>、Miyazaki Shinya<sup>2)</sup>、Katakai Yuko<sup>4)</sup>、Kawai Satoru<sup>5)</sup>、Song Chihong<sup>6)</sup>、Murata Kazuyoshi<sup>6)</sup>、Yahata Kazuhide<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Leading Program, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Japan、<sup>2)</sup>Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, Japan、<sup>3)</sup>Central Laboratory, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, Japan、<sup>4)</sup>The Corporation for Production and Research of Laboratory Primates, Tsukuba, Japan、<sup>5)</sup>Department of Tropical Medicine and Parasitology, Dokkyo Medical University, Japan、<sup>6)</sup>National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan

*Plasmodium knowlesi* traffics a virulent antigen Schizont-infected cell agglutination variant (SICAvAr) to the host erythrocyte surface. Although SICAvAr was the first malaria virulent antigen to be discovered on the erythrocyte surface infected with *Plasmodium*-parasites, the molecular mechanisms underlying its export is not well understood. *P. falciparum* similarly exports virulent protein PfEMP1 to nascent membranous structures, Maurer's clefts (MCs) before it translocates to erythrocyte surface. We have used three-dimensional reconstruction to show that *P. knowlesi* generates Golgi-like Sinton Mulligan's clefts (SMCs) with swollen ends which are connected by amorphous structures to each other and to the erythrocyte membrane. We also identified a *P. knowlesi* ortholog of MAHRP2, a marker of the tether structure that connects membranous structures in the *P. falciparum*-infected erythrocyte and demonstrated that PkMAHRP2 localized in the amorphous structures. This suggests the amorphous structures in *P. knowlesi* are possibly functionally equivalent to *P. falciparum* tether structure. These findings suggest a conservation in the ultrastructure of protein trafficking between *P. falciparum* and *P. knowlesi*.

**P-38 Recent prevalence of human malaria caused by *Plasmodium knowlesi* in communities in Kudat area, Sabah, Malaysia: mapping of infection risk and environmental factors detected by remote sensing**

佐藤 恵春<sup>1,2)</sup>、東城 文柄<sup>2)</sup>、星 友矩<sup>3)</sup>、Kugan Omar Kwang<sup>4)</sup>、Jeffree Saffree Mohammad<sup>1)</sup>、Ahmed Kamruddin<sup>1)</sup>、Giloi Nelbon<sup>1)</sup>、門司 和彦<sup>2)</sup>、北 潔<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Faculty of Medicine and Health Sciences, University Malaysia Sabah、

<sup>2)</sup>長崎大学 熱帯医学・グローバルヘルス研究科、<sup>3)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所、

<sup>4)</sup>Kudat Health Office, Ministry of Health Malaysia

*Plasmodium knowlesi* is a protozoan parasite that naturally infects macaque monkeys in South East Asia. This parasite has been known to cause a zoonotic Pk malaria in humans. The health of people is under threat especially in northern part of the Borneo Island in Malaysia. Following the pioneering works carried out in Sarawak, investigation in Pk malaria was started in Sabah in early 2010s. An early epidemiological study carried out in the Kudat district, close to the northern tip of Borneo, suggested that transmission of the zoonotic malaria may occur close to or inside the houses of people living in the area. However, Pk malaria has been believed to transmit to a human only very close to or within a deep forest in any other part of the world including Sarawak. To confirm the uniqueness and for a better understanding of Pk malaria in the Kudat district, we need to keep update our

knowledge in the diseases.

We analysed the clinical record of malaria cases in one of malaria endemic areas in the Kudat district. There are 25 communities where 4032 people lived in 2017 in the study area which is under the jurisdiction of the Lotong subsector office (PSS Lotong) of Kudat health. In total, 126 malaria cases were reported in this area between 2013 and 2017, and all of these cases were confirmed to be Pk malaria. Space-time scan analysis with the SaTScan software detected a positive and a negative clusters of malaria cases present in the area. This finding suggests that distribution of Pk malaria cases was affected by some spatial factor.

To identify common features present around the positive cluster of Pk malaria, we quantified environmental factors such as rainfall, temperature and the Land-Use and Land-Cover (LULC), analysing the time-series satellite data recorded by MODIS (MODerate-resolution Imaging Spectroradiometer). Because Pk malaria often suffers oil palm plantation workers in PSS Lotong area, the LULC analysis was particularly focused on the spread of oil palm plantation. We will visualise the geographical distribution of the Pk malaria on the map to demonstrate how the environment contributes on the Pk malaria risk in the study area.

### P-39 サルの糞便を用いた人獣共通感染性サルマラリアの非侵襲的調査

川合 寛<sup>1)</sup>、オオタケ サトウ マルセロ<sup>1)</sup>、千種 雄一<sup>1)</sup>、前野 芳正<sup>2)</sup>、中澤 秀介<sup>3)</sup>、片貝 佑子<sup>4)</sup>、  
Quang Nguyen Tuyen<sup>5)</sup>、P Marchand Ron<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>獨協医科大学、<sup>2)</sup>藤田医科大学、<sup>3)</sup>長崎大学熱帯医学研究所、<sup>4)</sup>一般社団法人 予防衛生協会、

<sup>5)</sup>MCNV

*P. knowlesi* や *P. cynomolgi* をはじめとする数種類のサルマラリア原虫は人獣共通感染性であり、自然界においてもヒトの感染例がたびたび報告されている。これらのマラリアに関する正確な疫学情報を得るためには、自然宿主のサルにおける感染状況を把握することが不可欠であるが、野生サルからの採血は技術的に困難であるだけでなく、倫理的にも承認を得ることが難しい。そこで、本研究ではサルから非侵襲的に採取できる糞便を用いてサルマラリア原虫DNAをPCRにより検出し、野外調査に応用することを試みた。1) 実験的 *P. knowlesi* (Pk) 感染サル：3歳齢、雌、ニホンザル1頭、高寄生率(約10.0%)をともなった急性経過個体。末梢血、尿、糞便中に含まれるPk・DNAの検出期間を比較したところ、糞便から最も長期に検出されることが明らかとなった。2) 実験的 *P. cynomolgi* 感染サル：3歳齢・雌・ニホンザル2頭、低寄生率(0.03～0.15%)で慢性経過個体。末梢血液中の寄生率が低率であっても長期にわたり糞便中にPcy・DNAが含まれることが明らかとなった。3) 野外調査：ベトナム・カンホア省・Hon Lao島およびKhanh Phu近郊で野外飼育されているサルの糞便60検体について調査したところ3検体が陽性を示し、シーケンス解析により *P. cynomolgi* 1検体、*P. coatneyi* 2検体が検出された。以上の結果より、サルマラリアの野外調査手段として糞便を有効利用できることが明らかとなった。



## P-40 Outbreak of human malaria caused by *Plasmodium simium* in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro

Patrícia Brasil<sup>1,3</sup>、Mariano Gustavo Zalis<sup>4</sup>、Anielle de Pina-Costa<sup>1,3,5,9</sup>、Andre Machado Siqueira<sup>1,3</sup>、Cesare Bianco Júnior<sup>3,5</sup>、Sidnei Silva<sup>2</sup>、André Luiz Lisboa Areas<sup>4</sup>、Marcelo Pelajo-Machado<sup>6</sup>、Denise Anete Madureira de Alvarenga<sup>10</sup>、Ana Carolina Faria da Silva Santelli<sup>11</sup>、Hermano Gomes Albuquerque<sup>7</sup>、Pedro Cravo<sup>12,13</sup>、Filipe Vieira Santos de Abreu<sup>8</sup>、Cassio Leonel Peterka<sup>11</sup>、Graziela Maria Zanini<sup>2</sup>、Martha Cecilia Suárez Mutis<sup>7</sup>、Alcides Pissinatti<sup>9,14</sup>、Ricardo Lourenço-de-Oliveira<sup>3,8</sup>、Cristiana Ferreira Alves de Brito<sup>10</sup>、Maria de Fátima Ferreira-da-Cruz<sup>3,5</sup>、Richard Culleton<sup>15</sup>、Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Doencas Febris Agudas, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Fundacao Oswaldo Cruz (Fiocruz)、<sup>2</sup>Laboratorio de Parasitologia, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Fundacao Oswaldo Cruz (Fiocruz)、<sup>3</sup>Centro de Pesquisa, Diagnostico e Treinamento em Malaria (CPD-Mal), Fiocruz、<sup>4</sup>Laboratorio de Infectologia e Parasitologia Molecular, Hospital Universitario Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro、<sup>5</sup>Laboratorio de Pesquisa em Malaria, Instituto Oswaldo Cruz (IOC) Fiocruz、<sup>6</sup>Laboratorio de Patologia, Instituto Oswaldo Cruz (IOC) Fiocruz、<sup>7</sup>Laboratorio de Doencas Parasitarias, Instituto Oswaldo Cruz (IOC) Fiocruz、<sup>8</sup>Laboratorio de Mosquitos Transmissores de Hematozoarios, Instituto Oswaldo Cruz (IOC) Fiocruz、<sup>9</sup>Centro Universitario Serra dos Orgaos (UNIFESO), Teresopolis、<sup>10</sup>Laboratorio de Malaria, Centro de Pesquisas Rene Rachou por Institute Rene Rachou (IRR), Fiocruz、<sup>11</sup>Programa Nacional de Prevenção e Controle da Malaria, Secretaria de Vigilancia em Saude, Ministerio da Saude、<sup>12</sup>Laboratorio de Genoma e Biotecnologia (GenoBio), Instituto de Patologia Tropical e Saude Publica, Universidade Federal de Goias、<sup>13</sup>Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa、<sup>14</sup>Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ/INEA)、<sup>15</sup>Malaria Unit, Department of Pathology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University

Malaria was eliminated from southern and southeastern Brazil over 50 years ago. However, an increasing number of autochthonous episodes attributed to *Plasmodium vivax* have recently been reported from the Atlantic Forest region of Rio de Janeiro state. As the *P. vivax*-like non-human primate malaria parasite species *Plasmodium simium* is locally enzootic, we performed a molecular epidemiological investigation to determine whether zoonotic malaria transmission is occurring.

We examined blood samples from patients presenting with signs or symptoms suggestive of malaria as well as from local howler monkeys by microscopy and PCR. Samples were included from individuals if they had a history of travel to or resided in areas within the Rio de Janeiro Atlantic Forest, but not if they had malaria prophylaxis, blood transfusion or tissue or organ transplantation, or had travelled to known malaria endemic areas in the preceding year. Additionally, we developed a molecular assay based on sequencing of the parasite mitochondrial genome to distinguish between *P. vivax* and *P. simium*, and applied this assay to 33 cases from outbreaks that occurred in 2015, and 2016.

A total of 49 autochthonous malaria cases were reported in 2015-16. Most patients were male, with a mean age of 44 years (SD 14-6), and 82% lived in urban areas of Rio de Janeiro state and had visited the Atlantic Forest for leisure or work-related activities. 33 cases were used for mitochondrial DNA sequencing. The assay was successfully performed for 28 samples, and all were shown to be *P. simium*, indicative of zoonotic transmission of this species to human beings in this region. Sequencing of the whole mitochondrial genome of three of these cases

showed that *P. simium* is most closely related to *P. vivax* parasites from South America. The malaria outbreaks in this region were caused by *P. simium*, previously considered to be a monkey-specific malaria parasite, related to but distinct from *P. vivax*, and which has never conclusively been shown to infect people before.

#### P-41 不死化赤血球前駆細胞由来の赤血球様細胞を用いたマラリア原虫培養系の開発研究

宮崎 和雄<sup>1)</sup>、竹田 美香<sup>2)</sup>、矢幡 一英<sup>2)</sup>、岡田 稔<sup>1)</sup>、江藤 浩之<sup>3)</sup>、金子 修<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>マイキャン・テクノロジー株式会社、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学研究所原虫学分野、

<sup>3)</sup>京都大学iPS細胞研究所

マラリアは現在でも、毎年2億人を越える患者が罹患する代表的な熱帯病である。2030年までにアジア地域でのマラリア撲滅が目標とされているが、薬剤耐性原虫の問題等により、今まで以上に新薬・ワクチンの開発が望まれている。ところが、三日熱マラリア原虫は入手が困難な網状赤血球にしか侵入しないため、簡便な培養系が存在せず、研究が遅れている。我々は胚性幹細胞から誘導して不死化した赤血球前駆細胞 (imERYPC) に着目し、同細胞から分化させた赤血球様細胞を用いることで三日熱マラリア原虫の簡便な培養系が確立できるのではないかと考えた。

本大会ではこれまでの我々の研究成果について紹介する。まず、分化させた赤血球様細胞に熱帯熱マラリア原虫が侵入できることが確認できた。続いて、原虫の培養にルーチンに供給できるだけの量を確保するために、低コストで多量に赤血球様細胞を調整する方法を検討した。その過程で、マラリア原虫の細胞侵入評価で使用する培養培地中の成分、特にヒト血清の代替として添加しているAlbuMax Iの濃度およびグルコース濃度、が変わることで原虫の生存率が大きく変化することを見出した。現在は細胞調製法の改良および細胞侵入の評価方法の改善を行うとともに、原虫の成熟に関する検討を行っている。今後は、原虫の侵入効率を高める事を目指したimERYPCの遺伝子改変、および、三日熱マラリア原虫での評価等を予定している。

#### P-42 Genetic homogeneity of goat malaria parasites in Asia and Africa suggests their expansion with domestic goat host

麻田 正仁<sup>1)</sup>、Kaewthamasorn Morakot<sup>2)</sup>、竹田 美香<sup>1)</sup>、Saiwichai Tawee<sup>3)</sup>、Gitaka Jesse<sup>4)</sup>、Tiawsirisup Sonthaya<sup>2)</sup>、今里 祐平<sup>5)</sup>、Mossaad Ehab<sup>6)</sup>、Sarani Ali<sup>7)</sup>、Kaewlamun Winai<sup>8)</sup>、Channumsin Manun<sup>9)</sup>、Chaiworakul Suchart<sup>10)</sup>、Katepongpun Wichit<sup>10)</sup>、Teeveerapunya Surapong<sup>11)</sup>、Panthong Jarus<sup>12)</sup>、Mureithi Dominic K.<sup>13)</sup>、Bawm Saw<sup>14)</sup>、Htun Lat Lat<sup>14)</sup>、Win Mar Mar<sup>14)</sup>、Ismail Ahmed Ali<sup>6)</sup>、Ibrahim Abdalla Mohamed<sup>15)</sup>、菅沼 啓輔<sup>16)</sup>、Hakimi Hassan<sup>1)</sup>、中尾 亮<sup>5)</sup>、片倉 賢<sup>5)</sup>、金子 修<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所、<sup>2)</sup>チュラロンコン大学・獣医学部、<sup>3)</sup>マヒドン大学・公衆衛生学部、

<sup>4)</sup>マウントケニア大学・医学部、<sup>5)</sup>北海道大学・獣医学研究院、<sup>6)</sup>スーダン科学技術大学・獣医学部、

<sup>7)</sup>ザボール大学・獣医学部、<sup>8)</sup>チュラロンコン大学・農業資源学部、<sup>9)</sup>ラジャマンガラ技術大学獣医学部、

<sup>10)</sup>ラジャマンガラ技術大学農学部、<sup>11)</sup>ペチャブリー県家畜診療所、<sup>12)</sup>ケーンクラチャン県家畜診療所、

<sup>13)</sup>マウントケニア大学科学部、<sup>14)</sup>ミャンマー獣医科学大学、<sup>15)</sup>アブラル大学研究訓練センター、

<sup>16)</sup>帯広畜産大学グローバルアグロメディシン研究センター

*Plasmodium* was first identified in a goat in Angola in 1923, and only recently characterized by DNA isolation

from a goat blood sample in Zambia. Goats were first domesticated in the Fertile Crescent approximately 10,000 years ago, and are now globally distributed. It is not known if the *Plasmodium* identified in African goats originated from parasites circulating in the local ungulates, or if it co-evolved in the goat before its domestication. To address this question, we performed PCR-based surveillance using a total of 1,299 goat blood samples collected from Sudan and Kenya in Africa, Iran in west Asia, and Myanmar and Thailand in southeast Asia. *Plasmodium* DNA was detected from all locations, suggesting that the parasite is not limited to Africa, but widely distributed. Whole mitochondrial DNA sequences revealed that there was only one nucleotide substitution between Zambian/Kenyan samples and others, supporting the existence of a goat-specific *Plasmodium* species, presumably *Plasmodium caprae*, rather than infection of goats by local ungulate malaria parasites. We also present the first photographic images of *P. caprae*, from one Kenyan goat sample.

### P-43 希少糖含有シロップによるマラリア伝播阻止効果の検討

新井 明治<sup>1,2)</sup>、平井 誠<sup>3)</sup>、田中 健<sup>Q1)</sup>、徳田 雅明<sup>2,4)</sup>、何森 健<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>香川大学医学部 国際医動物学、<sup>2)</sup>香川大学 国際希少糖研究教育機構、

<sup>3)</sup>順天堂大学医学部 熱帯医学・寄生虫病学、<sup>4)</sup>香川大学医学部 細胞情報生理学

マラリア伝播阻止は媒介蚊体内で原虫の発育分化を抑制することにより新たな感染者・患者の発生を防ぐ手法であり、流行地での罹患率低下のみならず、薬剤耐性原虫の拡散防止にも有効とされる。この目的を達成するための手法としては、伝播阻止ワクチン、伝播阻止薬のほかに、媒介蚊に殺虫成分あるいは殺原虫成分を含む糖液を吸わせる方法がある (attractive toxic sugar bait)。

我々はこれまでに、希少糖の一種であるD-アロースを含む糖液をハマダラカ (*Anopheles stephensi*) に吸わせることで、ローデントマラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) の蚊体内での発育分化が著しく抑制されることを見出し、「Transmission-blocking antimalarial rare sugar bait」という新たな伝播阻止戦略を提唱している (グローバルヘルス合同大会2017)。

今回我々は、市販されている希少糖含有シロップにもマラリア伝播阻止効果があるのではないかと考え、伝播阻止実験を行った。使用した「レアシュガースウィート (商品名:以下RSSと略す)」はグルコース、フルクトース、各種希少糖を含む甘味料であり、体脂肪低減作用や血糖上昇抑制作用などの生理機能が報告されている。*P. berghei*感染マウスを吸血させたハマダラカに、糖分含量を約30%になるように希釈したRSSを与え続けたところ、100 mMのD-アロースと同等の著明な伝播阻止効果が認められた。

RSSは香川県内の小売店で普通に販売されており、一般家庭で広く利用されている商品である。今回RSSにマラリア伝播阻止効果が確認されたことで、希少糖によるマラリア伝播阻止法の実用化に向けた研究が加速されると期待される。

## P-44 ラオス南部より北上して拡散するアルテミシニン耐性熱帯熱マラリア

中津 雅美<sup>1,2)</sup>、石上 盛敏<sup>1,2,3)</sup>、Keomalaphet Sengdeuane<sup>2,3)</sup>、Khattignavong Phonepadith<sup>2,3)</sup>、  
Soundala Pheovaly<sup>2,3)</sup>、Lorphachan Lavy<sup>2,3)</sup>、Hongvanthong Bouasy<sup>2,4)</sup>、Brey Paul<sup>2,3)</sup>、  
狩野 繁之<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>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、<sup>2)</sup>SATREPS project (JICA/AMED) for Parasitic Diseases, Lao PDR、<sup>3)</sup>Institut Pasteur du Laos, Ministry of Health, Lao PDR、<sup>4)</sup>Center of Malariology, Parasitology and Entomology, Ministry of Health, Lao PDR

ラオス保健省の報告ではマラリア死亡率（人口10万人当の死亡者数）は、2000年の6.71から2015年の0.03へと大きく減少した。しかし、2013年に同国南部で採取された熱帯熱マラリア原虫（Pf）の約20%は、アルテミシニン耐性に相関する変異をkelch 13プロペラ（k13）遺伝子に有していた（N Engl J Med, 2016）。特に、ラオスのマラリア患者報告の多くは南部5県、すなわちサワンナケート県、サラワン県、セコン県、チャンパサック県、およびアッタプー県に集中しており、2015年では、その年の全マラリア患者報告数36,059症例のうち34,040症例（94%）が南部5県からであった。今回、2015年10月から2016年4月までの第1期と、2016年5月から11月までの第2期の2回にわたり、同国南部5県の医療施設を訪れたマラリア患者から採取されたPf 1,553検体のk13遺伝子を分析した。その結果、第1期では55.5%（639/1,151）という2013年に比較して有意に高い変異率を示し、各県の変異率はチャンパサックで73%、アッタプーで69%、サラワンで58%、セコンで39%、サバナケットで28%であった。耐性型変異としては、C580Y、R539T、Y493H、P547Lが観察された。第2期では全体の変異率は45.0%（181/402）と若干の減少傾向を示したが、各県の変異率は、チャンパサックで63%、アッタプーで85%、サラワンで48%、セコンで58%、サバナケットで22%であった。耐性型変異は、C580Y、R539T、Y493Hの3種類であった。第1期と第2期ともに、変異率は最南部の県（チャンパサックとアッタプー）で最も高く、北上するに従って減少していた。次に耐性型変異の拡散傾向を調べるためにk13遺伝子上流にある2つの遺伝子領域を用いてハプロタイプ解析を実施した。その結果、第1期で変異が認められたPf原虫には、世界で最初にアルテミシニン耐性が発見されたカンボジア西部のパイリン株と遺伝的に非常に近い株が認められ、耐性型変異株に占めるその割合は、チャンパサックで31%、アッタプーで21%、セコンで37%、サラワンで96%、サバナケットで94%であった。Mahidol/Oxford研究グループの報告では（Lancet Infect Dis, 2017）、このアルテミシニン耐性型パイリン株は、カンボジアからタイとラオスの南部へ拡散し、その後南下してベトナム南部へ到達したと予測しているが、本解析結果から、ラオス南部では南下だけではなく、国内を北上して広く拡散していることが示唆された。

## P-45 Screening the Medicines for Malaria Venture Pathogen Box against piroplasm parasites

Nugraha Arifin<sup>1)</sup>、Tuvshintulga Bumdureen<sup>1)</sup>、Rizk Mohamed<sup>1)</sup>、Gantuya Sambuu<sup>1)</sup>、  
Batiha Gaber<sup>1)</sup>、Sivakumar Thillaiampalam<sup>1)</sup>、Yokoyama Naoaki<sup>1)</sup>、Igarashi Ikuo<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido, Japan、<sup>2)</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Bogor Agricultural University, Bogor, Indonesia

Only a limited number of drugs is commercially available to treat piroplasmosis. Diminazene aceturate and imidocarb are the two commonly used antipiroplasm agents. However, toxic side effects are not uncommon in animals treated with these two drugs. Therefore, evaluation of novel therapeutic agents with high efficacy against piroplasm parasites and low toxicity to host animals is of paramount importance. In this study, the 400 compounds provided by the Medicines for Malaria Venture foundation, were screened for their anti-piroplasm parasites activity



against *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Babesia caballi* and *Theileria equi*. An initial in vitro screening performed by a fluorescence-based method using SYBR green I stain revealed 9 interesting compounds that were effective against piroplasm parasites at 1  $\mu$ M. Furthermore, their 50% inhibitory concentrations were calculated. As a result, we identified two hit compounds; MMV021057 and MMV675968 showed the high inhibitory effect in all the species tested compare to diminazene aceturate as a control drug. The IC<sub>50</sub>s against *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. caballi* and *T. equi* were 35, 51, 716, 29 nM for MMV021057 and 2.3, 2.1, 3.7, 29 nM for MMV675968, respectively. In the mouse model, the treatments of 50 mg/kg MMV021057 and 25 mg/kg MMV675968 administered intraperitoneally showed 59, and 65% inhibition against *Babesia microti*, respectively, compare to the untreated group on day 8. Our findings indicate that these compounds are prospects for further development of antipiroplasm chemotherapeutics.

**P-46 Genetic Analysis of Drug Resistance Genes in *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale* Isolated from Asymptomatic individuals in South-East Nigeria**

Ernest Medard<sup>1,2)</sup>、Muhydeen Abdulraheem<sup>1)</sup>、Ezugbo-nwobi Ifeoma<sup>1,2)</sup>、Orimadegun Adebola E.<sup>3)</sup>、金子 明<sup>4,5)</sup>、Culleton Richard<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学, 熱帯医学研究所, 病理学分野マラリアユニット、<sup>2)</sup>長崎大学, 医歯薬学総合研究科、

<sup>3)</sup>Institute of Child Health, College of Medicine, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria、<sup>4)</sup>Island Malaria Group, Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden、<sup>5)</sup>大阪市立大学, 大学院医学研究科, 寄生虫学講座

Malaria in humans is caused by apicomplexan parasites belonging to five species of the genus *Plasmodium*. Of these, *Plasmodium falciparum* is the major cause of mortality and morbidity. We have previously observed high rates of *Plasmodium falciparum* co-infection with *Plasmodium ovale* and/or *Plasmodium malariae* in South-East Nigeria. Here, we investigate the presence of molecular markers of drug resistance in *P. ovale*, *P. malariae* and *P. falciparum* isolated from asymptomatic adolescents in South East Nigeria and Kenya. Species identification PCR was performed on DNA extracted from dried blood spots, followed by species specific amplification and Sanger sequencing of orthologues of *P. falciparum* genes known to be involved in drug resistance (*K13*, *dhfr* and *crt*). Sequence analysis of the *P. malariae* K13 Kelch propeller domain revealed a novel SNP (W599R) in one isolate from Nigeria, orthologous to W606 in *P. falciparum*, a position not known to be polymorphic in the latter species. 91.5% of the *P. falciparum* isolates (n=100) harbored the Sulfadoxine Pyrimethamine (S/P) drug resistance markers, S108N and C59R in *dhfr*, while the remaining 8.5% were wild type. 41.6% (n=35) of *P. malariae* samples harbored a mutation (S114N) orthologous to S108N in *P. falciparum*, suggesting that *P. malariae* S/P resistance is being selected for in Africa. We speculate that the high degree of co-infections of *P. falciparum* with *P. malariae* has resulted in significant S/P selection pressure on both species. In contrast, few polymorphisms were observed in orthologues of *P. falciparum* drug resistance associated genes in *P. ovale*. This may be due to differential drug selection pressure on *P. ovale*, or to the action of other genes in the acquisition of drug resistance in this species.

**P-47 Biochemical studies of membrane bound *Plasmodium falciparum* mitochondrial L-malate:quinone oxidoreductase and identification of potent inhibitor compound**

Hartuti Endah Dwi<sup>1,2)</sup>、Inaoka Daniel Ken<sup>3,4,5)</sup>、Komatsuya Keisuke<sup>3)</sup>、Miyazaki Yukiko<sup>1,3)</sup>、Miller Russell J<sup>3)</sup>、Wang Xinying<sup>3,4)</sup>、Prabandari Erwahyuni E<sup>2)</sup>、Matsuo Yuichi<sup>4)</sup>、Saimoto Hiroyuki<sup>6)</sup>、Kita Kiyoshi<sup>3,4,5)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学医学系研究科、<sup>2)</sup>技術評価・申請機関、<sup>3)</sup>北里大学感染管理研究科、東京大学、

<sup>4)</sup>長崎大学熱帯医学・国際保健学部、<sup>5)</sup>長崎大学熱帯医学研究所宿主防衛化学専攻、

<sup>6)</sup>鳥取大学大学院工学研究科化学生命工学専攻

*Plasmodium falciparum* is an apicomplexan parasite that causes the most severe malaria in humans. The limitations of vector control, absence of an effective vaccine and emergence of parasites resistant to practically all available drugs, highlights the importance to constantly develop new antimalarial drugs. The mitochondrial electron transport chain (ETC) of *P. falciparum* is a source of potential targets because enzymes, such as L-malate:quinone oxidoreductase (PfMQO), in this pathway are absent in humans. PfMQO catalyzes the oxidation of L-malate to oxaloacetate and reduction of ubiquinone to ubiquinol. It is a peripheral membrane protein, involved in three pathways (ETC, tricarboxylic acid cycle and fumarate cycle) and has been shown to be essential for parasite survival, at least, in the intra-erythrocytic asexual stage. These findings indicate that PfMQO is a potential drug target for development of anti-malarial with novel mechanism of action. Up to this point in time, difficulty in producing active recombinant mitochondrial MQO has hampered the biochemical characterization and drug development. Here, the overexpression system of recombinant PfMQO in bacterial membrane fraction and its biochemical features will be presented. High throughput screening system for discovery of PfMQO inhibitor was developed and we found ferulenol as potent compound that showed IC<sub>50</sub> in nanomolar order ( $57 \pm 2$  nM) showing strong synergism in combination with atovaquone, a well-known anti-malarial and bc1 complex inhibitor. Moreover, inhibition mechanism study revealed that ferulenol is a dead-end inhibitor and it binds specifically to the PfMQO:ubiquinone complex. Finally, we show that the results of reaction mechanism analysis are compatible to sequential-ordered mechanism in which, ubiquinone binds first followed by L-malate.

**P-48 Reduced Polymorphism in Drug Resistant Genes of *Plasmodium falciparum* After introduction of Artemisinin Combination Therapy in Indonesia**

Basuki Sukmawati<sup>1) 2)</sup>、Fitriah<sup>1)</sup>、Budiono<sup>3)</sup>、Kasmiyati<sup>4)</sup>、Pancawati Ariami<sup>5)</sup>、Budi Armika<sup>6)</sup>、Petronella M. Risamasu<sup>7)</sup>、Lynda Rossyanti<sup>2)</sup>、Widho Aspriyanto<sup>8)</sup>、Suhintam Pusarawati<sup>2)</sup>、Muhammad Habibi<sup>9)</sup>、Arnoldina Dolfina D.W.<sup>10)</sup>、Merrylin<sup>11)</sup>、Asik Surya<sup>12)</sup>、Rie Isozumi<sup>13)</sup>、Haruki Uemura<sup>14)</sup>

<sup>1)</sup>Institute of Tropical Diseases, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia、<sup>2)</sup>Department of Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia、<sup>3)</sup>Department of Public Health and Preventive Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia、

<sup>4)</sup>UPTD, Puskesmas Kuala Pembuang, Seruyan District, Middle Kalimantan Province, Indonesia、

<sup>5)</sup>Poltekkes Mataram, Kota Mataram, Lombok, West Nusa Tenggara Province, Indonesia、<sup>6)</sup>West Nusa Tenggara Provincial Department of Health, Kota Mataram, Lombok, West Nusa Tenggara Province, Indonesia、<sup>7)</sup>Disease Control of Jayapura District Department of Health, Jayapura, Papua, Indonesia、

<sup>8)</sup>Dinas Kesehatan Kabupaten Barito Utara, Kalimantan Tengah, Indonesia、<sup>9)</sup>STIKES Muhammadiyah, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia、<sup>10)</sup>Dinas Kesehatan Kabupaten Sikka, Maumere, Nusa Tenggara Timur, Indonesia、<sup>11)</sup>Dinas Kesehatan Merauke, Merauke, Papua Barat, Indonesia、

<sup>12)</sup>Direktorat P2PL, Kemenkes RI, Jakarta, Indonesia、<sup>13)</sup>Department of Medical Zoology, Graduate School of Medicine, Osaka City University, Japan、<sup>14)</sup>Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

Malaria incidence in Indonesia has been constantly decreasing after Artemisinin combination therapy (ACT) was introduced in 2008 as the first line anti-malarial drug. However, more than 200,000 malaria cases were reported in 2016 and different malaria situation is recognized between islands and islands.

We have conducted molecular epidemiology studies in several malaria endemic areas from 2015 and analyzed drug resistant genes of *Plasmodium falciparum* in order to understand recent situation of the drug resistance, and the efficiencies of artemisinin and its combination drugs.

No mutation were observed in *P. falciparum* Kelch 13 gene of the parasites from several districts in Kalimantan and Papua islands and this suggests the parasites may well respond to the artemisinin treatment. Analysis of the other drug resistant genes revealed different polymorphisms in *pfcr*t (chloroquine resistance) and *pf*dhfr/*pf*dhps (sulfadoxine-pyrimethamine resistance) genes of the parasites from these islands. Three types of *pfcr*t alleles, SVMNT, CVIET and CVMNK (wild type), were determined in Kalimantan parasites, however only SVMNT genotypes were observed from Papua samples. The parasites containing unique K540T mutation in *pf*dhps gene, SGTGA(I588) allele, were detected from Kalimantan samples and the other novel I588F mutation, SGEAA(588F) allele, were observed from Papua parasites. Decrease in number of *pf*dhfr/*pf*dhps combined genotypes in these parasites obtained after introduction of ACT was observed in both Kalimantan and Papua samples. More than 5 combined genotypes were determined before ACT introduction in both Kalimantan and Papua parasites and 2 or 3 genotypes after ACT introduction.

## P-49 ビタミンE誘導体のマウスマラリアにおける有効性

久米 愛子<sup>1)</sup>、笠井 俊二<sup>2)</sup>、鈴木 宏志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>帯広畜産大学 原虫病研究センター、

<sup>2)</sup>エーザイ株式会社、エーザイ・ジャパン、CJ部、ビタミンE情報グループ

マラリアは、蚊が媒介する赤血球寄生性原虫感染症であり、患者は重度の貧血、脳マラリアや多臓器不全などの重篤な症状を呈する。既存の抗マラリア薬には副作用や薬剤耐性原虫の出現といった問題があり、新たな予防・治療法の開発が必要とされている。近年、ビタミンE誘導体であるコハク酸トコフェロール ( $\alpha$ -TOS) および $\alpha$ -トコフェリルオキシ酢酸 ( $\alpha$ -TEA) がミトコンドリア複合体2を阻害することにより活性酸素種を発生させ、抗がん作用を示すことが報告された (Hahn and Akporiaye 2013; Yan *et al.*, 2015)。そこで、酸化的負荷に対する感受性の高いマラリア原虫に対する $\alpha$ -TSおよび $\alpha$ -TEAの効果についてマウスマラリアモデルを用いて検証した。

C57BL/6Jマウスに、*Plasmodium yoelii* 17XLまたは*P. berghei* ANKA (脳マラリアモデル) を感染させ、以下の投薬を行った。 $\alpha$ -TOSは体重当たり53-424 mg/kgの用量で感染後1、3、5および7日目に腹腔内投与し、 $\alpha$ -TEAは0.25~1.5% (w/w) の濃度で餌に混合し、感染日または感染後3日目から感染後14日目まで混餌投与した。また、*P. berghei* ANKA感染マウスにおいて、対照群で行動観察により脳マラリアの発症が疑われた日に、コントロール群と薬剤投与群の両群にエバンスブルー溶液を静脈内投与し、血液脳関門の透過性を検討した。

その結果、*P. yoelii* 17XLと*P. berghei* ANKA感染のどちらにおいても、 $\alpha$ -TOSおよび $\alpha$ -TEA両投与群で対照群と比較して有意な生存率の上昇とパラシテミアの低下が認められた。感染30日後の生存率は、対照群では両原虫感染共に0%であったのに対し、 $\alpha$ -TEA投与群の*P. yoelii* 17XL感染では100%、*P. berghei* ANKAでは90%と高率であった。さらに、*P. berghei* ANKA感染では、 $\alpha$ -TOSおよび $\alpha$ -TEA投与によりエバンスブルーによる脳の染色強度が減弱した。

以上、 $\alpha$ -TOSおよび $\alpha$ -TEAは抗マラリア作用を有することが明らかとなった。エバンスブルーによる脳染色の結果から、 $\alpha$ -TOSおよび $\alpha$ -TEAの投与は脳マラリアの発症を遅延もしくは抑制したと考えられる。特に $\alpha$ -TEAは強い抗マラリア作用を示し、さらに経口投与が可能であることから、抗マラリア薬としての有用性が示唆された。今後、抗マラリア作用の作用機序を明らかにし、作用強度などを改善したビタミンE誘導体を開発、検討する必要がある。

## P-50 Discovery of novel antimalarial(s) from hemozoin inhibitors

Mosaddeque Farhana<sup>1)</sup>、Mizukami Shusaku<sup>1)</sup>、Teklemichael Awet<sup>1)</sup>、Mizuta Satoshi<sup>3)</sup>、  
Tanaka Yoshimasa<sup>3)</sup>、Taniguchi Mayumi<sup>1)</sup>、Fukuda Michiko<sup>1)</sup>、Huy Nguyen Tien<sup>2)</sup>、  
Hirayama Kenji<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University、

<sup>2)</sup>Department of Clinical Product Development, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, Nagasaki, Japan、<sup>3)</sup>Center for Bioinformatics and Molecular Medicine, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

**Introduction:** Heme detoxification is considered as promising target for antimalarial drug discovery. In our previous study, we obtained 224 positive hemozoin inhibitors from high throughput screening of 9,600 compounds from University of Tokyo (UoT), followed by screening these inhibitors against sensitive and resistant *P. falciparum*, resulting in five potential hit candidates. Onwards 1,313 analogues of five compounds were further



screened, leading to 47 hit candidate analogues. In this study, we advanced our anti-hemozoin based antimalarial drug development by determining the best hit candidate compound analogue for further lead optimization.

**Materials and Methods:** At first, one primary hit compound was selected. Next the primary hit compound was analyzed based on its chemical structure. Then 17 resemble analogues were purchased from Namiki Shoji Co., Ltd. Additionally, 17 analogues, similar to UoT analogues (that showed antimalarial activity in previous experiment), were purchased from Namiki Shoji Co., Ltd. to check the reliability. Afterwards, *in vitro* antimalarial screening was performed against both strain of *P. falciparum*, followed by measuring antimalarial and anti-hemozoin IC<sub>50</sub> (50% inhibitory concentration) and cytotoxicity on AMB cells. Finally, compound analogues exhibiting resistance index (RI) < 5, selective index (SI) > 50 against Dd2 and antimalarial IC<sub>50</sub> < 1000 nM against both strains were examined for lead selection.

**Results:** Among the 34 candidate analogues, only 6 analogues exhibited IC<sub>50</sub> < 1000 nM against both strains, RI < 5 and cytotoxicity > 20 μM, where 1 analogue showed no anti-hemozoin activity, therefore excluded. From 5 analogues, the best candidate was chosen for lead selection demonstrating lowest IC<sub>50</sub> (< 300 nm) against both *P. falciparum* strains, RI < 3.6 and SI > 68 against Dd2.

**Conclusion:** Eventually one candidate analogue had been opted as “lead compound” and preparation for lead optimization are ongoing. Expectedly, these results will strongly contribute to the novel antimalarial drug development.

## P-51 タイ北西部ターク県の学校における腸管寄生アメーバの感染状況調査

橋 裕司<sup>1)</sup>、Pattanawong Urassaya<sup>1,2)</sup>、垣野 あずみ<sup>1)</sup>、小林 正規<sup>3)</sup>、吉田 菜穂子<sup>3)</sup>、  
Putaporntip Chaturong<sup>2)</sup>、Jongwutiwes Somchai<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東海大学 医学部、<sup>2)</sup>チュラロンコン大学 医学部、<sup>3)</sup>慶應義塾大学 医学部

赤痢アメーバに代表される腸管寄生アメーバの感染状況については様々な地域で調査が行われているが、正確な種鑑別に基づいた報告は少ない。我々は、タイ北西部ターク県タソンヤン郡のミャンマーとの国境に近い地域において、3つの学校の児童生徒を対象に糞便検査を実施した。各学校における対象者数は、学校Aが808名、学校Bが44名、学校Cが377の合計1,233名であった。糞便の直接鏡検では、赤痢アメーバ様嚢子のほか、大腸アメーバ、ハルトマンアメーバ、ヨードアメーバ、小形アメーバの各嚢子が検出された。他に、ヒトブラストシスチス、ジアルジア、メニール鞭毛虫などの原虫類、回虫や鞭虫などの蠕虫卵も検出された。糞便から抽出したDNAのPCR増幅では、赤痢アメーバ陽性が2.5%、*Entamoeba dispar*陽性が4.5%であった。また、大腸アメーバは22.0%が陽性であった。これに対して、最近様々な地域で人の感染が報告されている*E. moshkovskii*は検出されなかった。また、サル類が固有宿主の*E. nuttalli*や*E. chattoni*、ブタに感染が多い*E. polecki*は検出されなかった。赤痢アメーバと*E. dispar*の陽性者は学校Aに多く、それぞれ特定の学年とクラスに集中していた。この結果は、学校内での person to person の伝播を示唆するものである。

## P-52 等温遺伝子増幅法を用いたアメーバ症検査法の開発

小山 玄紀<sup>1)</sup>、三木田 馨<sup>1)</sup>、神田 眞男<sup>1)</sup>、小林 正規<sup>1)</sup>、岩田 敏<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>慶應義塾大学 医学部 感染症学教室、

<sup>2)</sup>国立研究開発法人 国立がん研究センター中央病院 感染症部

**【背景】** 下痢症は途上国における小児の主たる死亡原因となっているが、その原因としてアメーバ赤痢などの原虫性下痢症が挙げられる。これら原虫性下痢症に対する診断法のgold standardは、顕微鏡検査による糞便中の病原原虫の同定であるが、感度・特異度が高くないこと、術者の熟練度が検査結果に影響する、などの問題点がある。遺伝子増幅診断法であるPCR法は、感度・特異性の高い検査法であるが、実施に際しては、高額な機器、比較的長い検査時間、安定的な電力供給、試薬輸送・保存のためのcold chainを要するため、原虫性下痢症の流行地域である途上国においては一般的な遺伝子検査にはなり得ておらず、流行地域で実施可能な簡易診断法の開発が望まれている。

**【目的】** 今回我々は、原虫性下痢症流行地域でも実施可能な、赤痢アメーバ感染症に対する簡易遺伝子診断法の開発を目的に検討を行なった。遺伝子増幅法として、等温遺伝子増幅法であるRecombinase Polymerase Amplification (RPA法)を使用し、検出には検出紙を用いるDNAクロマトグラフィー法の開発を目指した。

**【方法】** 赤痢アメーバ症の病原微生物である*Entamoeba histolytica*の18S rDNAを標的とし、形態では*E. histolytica*と区別できない非病原性の*Entamoeba. dispar*と鑑別可能なRPAプライマーを複数個作製した。培養原虫から遺伝子抽出を行ない、各プライマーセットを用いてRPA法を実施し、電気泳動により特異度、検出感度の比較検討を行った。その後、優れているプライマーセットにタグ付けを行ない、検出紙での特異度・検出感度について検討した。

**【結果】** 本検討では、*E. histolytica*  $10^1$ 個/ $\mu$ Lまで検出可能であった。また*E. dispar*は検出せず、本法で両者の鑑別が可能であった。

**【考察】** 本検討で開発したRPA法を用いたDNAクロマトグラフィー法は、原虫からの遺伝子抽出過程を含め、1時間程度で検査が実施可能であった。本邦は、等温遺伝子増幅法であるため、サーマルサイクラーが不要で、検出紙を用いての判定である為、電気泳動も不要である。加えて、検出感度が高いため、原虫下痢症流行地域でも使用可能な簡便な診断法になりうると考える。今後、臨床検体を用いた検討を進めていく予定である。

## **P-53 Group 2 innate lymphoid cells exacerbate amebic liver abscess through promoting the accumulation of eosinophil and neutrophil**

中村 梨沙<sup>1,2,3)</sup>、Deloer Sharmina<sup>1,2,3)</sup>、千馬 正敬<sup>3,4)</sup>、菊池 三穂子<sup>3,5)</sup>、小安 重夫<sup>6)</sup>、茂呂 和世<sup>7)</sup>、濱野 真二郎<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 寄生虫学、<sup>2)</sup>長崎大・医歯薬院・リーディングプログラム、

<sup>3)</sup>長崎大・熱研・共同利用共同研究拠点、<sup>4)</sup>長崎大・熱研・病理学、<sup>5)</sup>長崎大・熱研・免疫遺伝学、

<sup>6)</sup>理研・IMS・免疫細胞システム、<sup>7)</sup>理研・IMS・自然免疫システム

*Entamoeba histolytica*, a protozoan parasite settling in the human large intestine, occasionally spreads to the liver through the bloodstream and induces amebic liver abscesses (ALA). Upon liver infection with *E. histolytica*, we found that high levels of Th2 cytokines are induced from early after infection. However, neither sources nor functions of initial Th2 cytokines in the formation of ALA remain unclear. In this study, we examined the roles of type 2 innate lymphoid cell (ILC2) in ALA formation in Rag2 KO mice after inoculation of *E. histolytica* via an intra-portal vein. The number of ILC2 increased in the liver in Rag2 knockout (KO) on day 4 after intraportal inoculation with *E. histolytica*. The ability of ILC2 to produce IL-5 and IL-13 in response to IL-2, IL-25, and IL-33 was significantly up-regulated after infection. *In vivo* depletion of ILC2 ameliorated ALA formation in Rag2 KO mice, accompanied by the reduction of IL-5, IL-13 production and the accumulation of eosinophil and neutrophil in the liver, but IFN- $\gamma$  production was not affected. On the other hand, transfer of ILC2 in Rag2 -/- common  $\gamma$  chain (c&gamma) -/- double KO mice aggravated the ALA formation accompanied with an eosinophilia and a neutrophilia. These results suggest that ILC2 contributes to exacerbating the pathogenesis of ALA formation

through producing early Th2 cytokines and promoting the accumulation of eosinophil and neutrophil in the liver.

#### **P-54 Genetic analysis of *Babesia* isolates from cattle with clinical babesiosis in Sri Lanka**

横山 直明、Sivakumar Thillaiampalam、五十嵐 郁男  
帯広畜産大学 原虫病研究センター

Bovine babesiosis is a serious threat to the cattle industry. We prepared blood DNA samples from 13 cattle with clinical babesiosis from the Badulla (n=8), Jaffna (n=3), and Kilinochchi (n=2) districts in Sri Lanka. These DNA samples tested positive in PCR assays specific for *Babesia bovis* (n=9), *B. bigemina* (n=9), and *B. ovata* (n=1). Twelve cattle were positive for *B. bovis* and/or *B. bigemina*. One cow was negative for the tested *Babesia* species, but positive for *Babesia* on microscopic examination; the phylogenetic positions of 18S rRNA and cytochrome oxidase subunit III gene sequences suggested that the cow was infected with *Babesia* sp. Mymensingh, which was recently reported in a healthy cow in Bangladesh. We then developed a novel *Babesia* sp. Mymensingh-specific PCR assay, and obtained positive results for one other sample. Analysis of gene sequences from the cow with positive *B. ovata*-specific PCR results demonstrated that the animal was not infected with *B. ovata*, but with *Babesia* sp. Hue-1, which was recently reported in asymptomatic cattle in Vietnam. The virulence of *Babesia* sp. Hue-1 is unclear, as the cow was co-infected with *B. bovis* and *B. bigemina*. However, *Babesia* sp. Mymensingh probably causes severe clinical babesiosis, as it was the sole *Babesia* species detected in a clinical case. The present study revealed the presence of two bovine *Babesia* species not previously reported in Sri Lanka, plus the first case of severe bovine babesiosis caused by a *Babesia* species other than *B. bovis*, *B. bigemina*, and *B. divergens*.

#### **P-55 A sero-epidemiological survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Mongolia**

Sivakumar Thillaiampalam<sup>1)</sup>、Myagmarsuren Punsantsogvoo<sup>2)</sup>、Battur Banzragch<sup>2)</sup>、井上 昇<sup>1)</sup>、  
Battsetseg Badgar<sup>2)</sup>、横山 直明<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>帯広畜産大学・原虫病研究センター、<sup>2)</sup>Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Science, Ulaanbaatar, Mongolia

Equine piroplasmiasis caused by *Theileria equi* and *Babesia caballi* is an economically significant disease. In the present study, serum samples prepared from blood collected from horses in 19 Mongolian provinces were screened for antibodies specific to *T. equi* and *B. caballi* using enzyme-linked immunosorbent assays based on the recombinant form of *T. equi* merozoite antigen-2 and *B. caballi* 48-kDa merozoite rhoptry protein, respectively. Of 1,282 horses analyzed, 423 (33%) and 182 (14.2%) were sero-positive for *T. equi* and *B. caballi*, respectively. In addition, 518 (40.4%) were positive for *T. equi* and/or *B. caballi*. Both *T. equi* and *B. caballi* were detected in all 19 surveyed provinces, and on a per province basis, positive rates ranged from 19-74.2% and 4.5-39.8%, respectively. The *T. equi*- and *B. caballi*-positive rates were comparable between males (31.9 and 14.1%, respectively) and females (34.5 and 14.3%, respectively). However, *T. equi*- and *B. caballi*-positive rates were higher among horses over 3 years of age (37.7 and 15.6%, respectively) as compared to 1-3 years age group (19.4 and 10%, respectively). These findings confirm that *T. equi* and *B. caballi* infections are widespread among horses all over the Mongolia and that

the age is a risk factor for the infection in this country. The results of the present study will be useful for designing appropriate control measures in order to minimize the *T. equi* and *B. caballi* infections among Mongolian horses.

## P-56 Inhibitory effects of ivermectin on the growth Babesia and Theileria

Batiha Gaber<sup>1)</sup>、Beshbishy Amany<sup>1)</sup>、横山 直明<sup>1)</sup>、五十嵐 郁男<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>帯広畜産大学 原虫病研究センター、<sup>2)</sup>Department of Pharmacology and Therapeutics, Faculty of Veterinary Medicine, Damanhour University, Damanhour, Egypt

Drug therapy is the principle tool for the control and eradication of babesiosis. The search for new chemotherapy against *Babesia* and *Theileria* has become increasingly urgent due to parasite resistance to current drugs. Ivermectin was first endectocide in the world, capable of killing a wide variety of parasites and vectors, both inside and outside the body. It is currently authorized to treat onchocerciasis, lymphatic filariasis, strongyloidiasis and scabies. The current study documented the efficacy of ivermectin on the growth of *Babesia* and *Theileria in vitro* and *in vivo*. The IC<sub>50</sub> values determined for ivermectin against *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens*, *B. caballi* and *T. equi* were 53.3 ± 4.8, 98.6 ± 5.7, 30.1 ± 2.2, 43.7 ± 3.7 and 90.1 ± 8.1 μM, respectively. The toxicity assay on MDBK, HFF and NIH/3T3 cell lines showed that ivermectin affected the viability of cells with a half maximum effective concentration (EC<sub>50</sub>) of 138.9 ± 4.9, 183.8 ± 3.6, 187.5 ± 7.6 μM, respectively. Since the inhibitory concentrations of the ivermectin on the parasites were lower than their toxic concentrations on the host cell lines, the selectivity index was slightly high in all tested species. In the *in vivo* experiment, ivermectin, when administered intraperitoneally at 4 mg/kg, significantly (p<0.05) inhibited the growth of *B. microti* in mice by 56.4%. These findings suggest that ivermectin have the potential to be an alternative remedy for treating piroplasmiasis.

## P-57 長崎大学熱帯医学研究所における原虫株の提供事業

風間 真<sup>1)</sup>、矢口 貴志<sup>2)</sup>、平山 謙二<sup>1)</sup>、金子 修<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所、<sup>2)</sup>千葉大学 真菌医学研究センター

長崎大学熱帯医学研究所は平成14年度よりナショナルバイオリソースプロジェクト (National BioResource Project, NBRP) に参画している。NBRP事業は、ライフサイエンスの基礎・基盤となる生物資源 (バイオリソース) の収集・保存・提供を行うとともに、リソース保存技術の開発やゲノム情報の解析等によって、時代の要請に応えたバイオリソースの整備を推進する事業である。

NBRPは5年毎に内容が見直され、現在はNBRP第四期の2年目にあたる。平成27年度からは日本医療研究開発機構の運営によって実施されており、病原微生物のNBRPは現在、千葉大学真菌医学研究センターを代表機関とし、長崎大熱研は分担機関として病原性原虫のバイオリソース整備を進めている。長崎大熱研所内では、原虫学分野 (第1期：平成14～18年度の5年間) と免疫遺伝学分野 (第2期：平成19～23年度、第3期前半：平成24～26年度の8年間) が、病原性原虫を収集・保存し、原虫株や抽出核酸の提供を実施してきた。平成27年度には熱研生物資源室 (NEKKEN Bio-Resource Center, NBRC) を設置し、原虫学分野と免疫遺伝学分野が兼務してきたNBRP事業を引き継ぎ、現在に至る。

NBRCに引き継がれたリソースは、特に鞭毛虫類やネズミマラリア原虫などの原虫株が豊富に揃えられている。NBRCはこれら原虫株を維持・管理し、また新たな培養技術の開発やデータベース構築などを進めている。



提供時には機関同士の煩雑な事務的手続きの窓口となることで、原虫リソースを外部機関へ提供し、リソースの利活用を推進している。加えて、22の外部研究機関から原虫株の寄託や保管情報の提供など協力を受けてきた。NBRP第一期からこれまでに、長崎大学熱研では800件以上のリソース提供を行い、提供先も延べ104機関となる成果を挙げてきた。一方で、ゲノム整備事業、遺伝資源の取扱いルール、医学・医療関連の教育現場における原虫の扱い等、社会の変化を受けて、NBRPに対する利用者の要望にも変化が生じはじめている。長崎大学熱研における過去の利用者は大学等研究機関が95%以上を占めるものの、今期の利用状況の内訳をみると、大学等研究機関所属の研究者（69%）、医学・公衆衛生学・臨床検査学等教育機関（19%）、一般企業・その他法人（12%）となっている。また第四期開始時より、医学・臨床検査関係の教育機関からの染色固定標本に関する問い合わせ件数が増加している。

本報告では、長崎大学熱研で実施したNBRP第三期までの成果を総括するとともに、これまでのリソース提供実績を解析し、NBRP第四期で本事業が原虫学や熱帯医学に貢献するための展望、関連する諸々の分野に貢献できる可能性について議論する。

## P-58 ベトナム北部の農村地帯における下痢原性原虫*Cryptosporidium spp.*の発生状況について

岩下 華子<sup>1)</sup>、アイン ソン ダオ<sup>2)</sup>、ぶーティー ツーフオン<sup>3)</sup>、ブーディン ティエム<sup>3)</sup>、ドアン ハン<sup>4)</sup>、ファンホン クィンアイン<sup>4)</sup>、時沢 亜佐子<sup>4)</sup>、竹村 太地郎<sup>4)</sup>、山城 哲<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>琉球大学大学院医学研究科細菌学講座、<sup>2)</sup>ヒエンカインコミュニケーションヘルスセンター、

<sup>3)</sup>ベトナム国立衛生疫学研究所、<sup>4)</sup>長崎大学熱帯医学研究所ベトナム拠点

**【背景・目的】** *Cryptosporidium spp.*は人で非血性水様下痢を引き起こし、20世紀後半以降、日本を含む世界中で水系汚染による集団感染例が報告され、現在でも水系感染症・下痢症の原因として重要である。そこで本研究では、下痢症が問題となっているベトナムにおいて、*Cryptosporidium spp.*の発生状況と疫学的背景を調べることを目的とした。**【方法】** 本研究はベトナム北部のNam Dinh省Hien Khanh コミュニティにおいて、5歳未満の子供がいる311世帯（1663人の住民）を約2年間追跡し、下痢の罹患状況を調査した。下痢に罹患した際には便検体を回収し、様々な下痢起因微生物の検出を試みた。また、調査開始時にはランダムに抽出した105世帯（475人）から正常便を回収しており、同様の微生物を検査している。本研究では、*Cryptosporidium spp.*の検出結果をもとに、2年間の発生状況を分子疫学的手法により解析した。具体的には、糞便を濃縮後、蛍光特異抗体染色を行い、蛍光顕微鏡下で蛍光物質が確認できた検体においてDNA抽出を試みた。それらを用いてPCR法により陽性と判定された検体を本研究での*Cryptosporidium spp.*の陽性検体とした。これらの検体はサンガー法によるシーケンス解析を行い、疫学的背景も確認した。**【結果】** 2年間の追跡による下痢検体2120検体においてDNA抽出を試みた79検体から8検体、正常便470検体では同様に11検体から2検体を陽性検体とし、シーケンス解析を行った。その結果は、下痢便において4検体は主にヒトを宿主とする*Cryptosporidium.hominis*と近縁であり、残りの4検体及び正常便2検体は主にイヌを宿主とする*Cryptosporidium.canis*と近縁であることが確認された。疫学的背景に関しては、*C.canis*が陽性であった住民の住居位置は広範囲であり、2年間の調査期間中に散発的に発生が見られたが、*C.hominis*が陽性であった4人の住民はそれぞれ2人ずつ2つの家庭に集約し、検出時期は同日であった。**【考察】** 本研究において、*Cryptosporidium spp.*が検出された数は少数ではあるが、検出されたことは重要視する必要がある。特に*C.hominis*に関しては突然限局した発生が見られ、今後の対策には発生源の確認が有用であると考えられる。*C.canis*に関しては、下痢便だけでなく正常便からも検出が見られ、今後も散発的に発生が見られると懸念される。本来の宿主である犬を含めた本調査地域環境内での*Cryptosporidium spp.*の暴露状況を把握することは重要である。

## P-59 Biochemical studies of *Cryptosporidium parvum* mitochondrial NDH-2, MQO and AOX overexpressed in bacterial membrane.

松尾 祐一<sup>1)</sup>、稲岡 ダニエル 健<sup>1,2)</sup>、北 潔<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究 感染生化学分野、<sup>2)</sup>長崎大学 熱帯医学・グローバルヘルス研究科

*Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) is an Apicomplexan parasite infecting human intestine, causing severe diarrhea and a serious problem to immune compromised patients. Current treatment is associated with severe side effect and development of new drugs are needed. Based on genome data, *C. parvum* lacks TCA cycle and respiratory chain related enzymes except for Type-II NADH dehydrogenase (NDH-2), malate: quinone oxidoreductase (MQO), alternative oxidase (AOX), and  $\alpha$ ,  $\beta$  subunit of ATP synthetase in mitochondria-like organelle called mitosome. Since mitosomes are unable to produce ATP by oxidative phosphorylation, it has been suggested that the energy metabolism of *C. parvum* depends on glycolysis. NDH-2 oxidizes NADH and reduces respiratory quinones and suggested to be necessary to maintain the optimum glycolytic flux. MQO is functionally related to the TCA cycle enzyme NAD<sup>+</sup>-dependent malate dehydrogenase, however, MQO uses respiratory quinones as electron acceptor. The quinones reduced by NDH-2 and MQO are re-oxidized by the AOX, which reduces dioxygen to water. The physiological function of MQO in *C. parvum* mitosome has remained unclear because it lacks TCA cycle. Due to difficulties to culture *C. parvum*, the biochemical reports about *C. parvum* is limited. In this study, the recombinant expression system of NDH-2, AOX and MQO from *C. parvum* was developed using bacterial system. The initial biochemical studies and the inhibitory susceptibilities were conducted which will be discussed.

## P-60 カンボジアにおけるタイ肝吸虫症：2018年調査による進展

宮本 和子<sup>1)</sup>、Virak Khieu<sup>3)</sup>、村岡 優<sup>1)</sup>、中嶋 奈津子<sup>1)</sup>、平山 訓子<sup>1)</sup>、坂本 穰<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>山梨大学大学院 総合研究部、<sup>2)</sup>獨協医科大学医学部、<sup>3)</sup>カンボジア保健省・国立マラリアセンター

【はじめに】カンボジアでは2005年に我々の調査で初のタイ肝吸虫症 (*Opisthorchis viverrini*、以下*O. viverrini*) 流行地が発見され、以降、毎年新たな流行地域が確認されているが未調査地域も残されている。感染者への肝機能検査はほとんど実施されていない。

【方法】検便：2018年2-5月に6州にて実施。Kato-Katz厚層塗抹法（以下KK法）、1回便；肝機能検査（KK法検査結果20～80%超の虫卵陽性率の村、EPG概ね10以上の97名が対象）；超音波検査、血液検査（生化学検査と肝炎抗体検査）。

【結果】1. 流行実態に関する新たな報告：Prey Veng州Pea Reang郡とPou Reang郡では調査した16か村全てで、Kampong Cham州Srei Santhor郡の1か村、Kandal州Lvear Em郡の1か村で流行地を確認した。トンレサップ湖周辺の3州8か村では0～10%未満の陽性率であった。2. 肝機能検査結果概要：受験者は76名であった。超音波検査では4名に肝内胆管拡張が認められたが、血清肝機能検査結果とは関連が見られなかった。他、脂肪肝やアルコール障害が疑われる肝病変を示す受験者が見られた。B型肝炎抗体陽性者が34名、C型肝炎抗体陽性者は0名であった。

【考察及び結論】Prey Veng州では2郡に集中した流行が確認された。ここに隣接するKandal州北部にも流行がみられ、首都に近い地域でも流行があることがわかった。一定の湖周辺に集中して流行が確認されたのはK. Cham州と同様である。トンレサップ湖に隣接する村では今回も流行が確認されなかった。今後も未調査地域の実態把握が必要である。今回の肝機能調査では*O. viverrini*による肝臓がんを疑う所見は見られなかった。流行

地での肝機能調査を追加していきたい。

[謝辞] 本研究はAMED (e-ASIA JRP) およびJICA草の根パートナー事業の支援を受けて実施した。

### **P-61 Comparison of three molecular typing approaches for *Leishmania* spp. strains identification from Northwest Argentina**

Lauthier Juan Jose<sup>1)</sup>、Ruybal Paula<sup>2)</sup>、Hoyos Carlos Lorenzo<sup>3,4)</sup>、Cajal Pamela<sup>4)</sup>、  
Barroso Paola Andrea<sup>3)</sup>、Cimino Ruben Oscar<sup>4)</sup>、Marco Jorge Diego<sup>3)</sup>、是永 正隆<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Parasitology, Kochi Medical School, Kochi University, Kochi, Japan、<sup>2)</sup>Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica, UBA/CONICET, Buenos Aires, Argentina、

<sup>3)</sup>Instituto de Patología Experimental, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta/ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Salta, Argentina.、<sup>4)</sup>Instituto de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, Sede Regional Orán, Universidad Nacional de Salta, San Ramon De La Nueva Orán, Salta, Argentina

Cutaneous (CL) and mucocutaneous leishmaniasis (MCL) are endemic in northern Argentina. Both, the largest number of reported cases (53.1%) and the highest incidence with CL and MCL have been found in the north of Salta Province, representing only 0.7% of the country population. Rural labors and outdoor recreational activities seem to be associated with high incidence of the disease in the areas. In addition, recent reports have shown a potential urban transmission. In this scenario, it becomes indispensable to have tools capable to incriminate the infective species in the studied area. So that, government health authorities might apply to realistic action measures. Molecular identification of *Leishmania* parasites has been addressed using different kinds of techniques (e.g. isoenzyme typing, monoclonal antibodies, hybridization with DNA probes, PCR assays). DNA techniques offer multiple possibilities; 1) distinction among different isolates and their assignment to taxa, 2) detection of *Leishmania* parasites and their concomitant identification, 3) detection of intra-specific diversity and investigation of the parasites within their hosts or vectors. In the present work, we have applied three of the most used techniques (*CytB*, *HSP70* sequencing and MLST) over a panel of isolates and clinical samples from patients in Northwest Argentina. We would identify the *Leishmania* species involved in each case, but also the genetic background of the parasites circulating in the studied area.

### **P-62 Chemoattractant activity of Tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) for *Brugia pahangi* infective third-stage larvae**

三井 義則<sup>1)</sup>、Urena-Tatis Keyla Eliasmar<sup>2)</sup>、青木 克己<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所、<sup>2)</sup>Centro Nacional de Control de Enfermedades Tropicales, Ministerio de Salud Pública, Santo Domingo, Republica Dominicana

**Background:** Urocanic acid (UCA) is known as a major chemoattractant for *Strongyloides stercoralis* infective third-stage larvae (L3). Since *Brugia pahangi* is a skin-penetrating parasitic nematode similar to *S. stercoralis*, UCA was expected to be a chemoattractant for *B. pahangi* L3. **Objectives:** To assess the chemoattractant activity of UCA for *B. pahangi* L3. **Methods:** The chemotactic responses of *B. pahangi* L3 to UCA or acetic acid(CH<sub>3</sub>COOH)

dissolved in amine solutions were assessed using an agar plate assay. **Results:** A test solution of 200 mM UCA dissolved in aqueous 270 mM tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) significantly attracted *B. pahangi* L3 compared with deionized water (DW), while neither a solution of 200 mM UCA dissolved in aqueous 230 mM ammonia (NH<sub>3</sub>) nor 290 mM triethylamine (TEA) significantly attracted L3. Similarly, a test solution of 200 mM CH<sub>3</sub>COOH dissolved with 200 mM Tris significantly attracted L3, but neither a test solution of 200 mM CH<sub>3</sub>COOH plus 200 mM NH<sub>3</sub> nor 200 mM TEA attracted L3. Furthermore, L3 were significantly attracted to 200 mM Tris alone compared with DW, but avoided 200 mM NH<sub>3</sub> and 200 mM TEA. Moreover, the chemoattractant activity of Tris for L3 was observed even at a low concentration of 25 mM, and it was observed in a mild alkaline condition but not in an acidic condition. **Conclusion:** The present study reveals that Tris is a potential chemoattractant for *B. pahangi* L3 while UCA is not. This finding will contribute to an understanding of the mechanisms of skin-penetrating infection of filarial L3.

### **P-63 Follow-up study of benznidazole treatment for Chagas children in Bolivia**

Vasquez Velasquez Clara<sup>1)</sup>, Russomando Graciela<sup>2)</sup>, Espinola Emilio<sup>2)</sup>, Revollo Jimmy<sup>3)</sup>, Mochizuki Kota<sup>1)</sup>, Quiroga Benjamin<sup>4)</sup>, Vargas Ortiz Roberto<sup>4)</sup>, Mizukami Shusaku<sup>1)</sup>, Nguyen Tien Huy<sup>1,5)</sup>, Hirayama Kenji<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), and Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, <sup>2)</sup>Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay, <sup>3)</sup>Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, CENETROP, Santa Cruz, Bolivia, <sup>4)</sup>Programa Departamental de Control de Chagas del Ministerio de Salud, Santa Cruz, Bolivia, <sup>5)</sup>Department of Clinical Product Development, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN) and Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki, Japan

The National Program for Chagas was implemented in Bolivia in 2006; subsequently it greatly decreased the number of natural infections of Chagas disease. The program began a treatment regimen of benznidazole (5-7 mg/kg/day) for 60 days in seropositive children aged 4-15 years living in certified vector control areas. The efficacy and follow-up of the treatment for pediatric chronic Chagas remain controversial. We conducted a 12-month follow-up study and seven blood samples were taken during and after the treatment. Serology, conventional PCR (cPCR), quantitative Real time PCR (qPCR) and Th1/Th2/Th17 cytokines levels were performed. qPCR was found to be sensitive enough to detect one parasite equivalent DNA/ml blood. The evaluation of the presence of *T. cruzi* DNA fragments by cPCR and qPCR after 6 months of completion of benznidazole was defined as DNA positive and DNA positive by qPCR. The total absence of *T. cruzi* DNA in peripheral blood by cPCR and qPCR as DNA negative. Finally, 6/57 children were DNA positive and 26 were DNA negative. Moreover, we found 25/57 were DNA positive by qPCR though parasitemia levels were lowered. Within 13 cytokines, IL-17A levels were significantly higher in seropositive children compared to seronegative at the initiation of the treatment and had significantly decreased one-year after. Interestingly, DNA positive children had shown significantly higher levels of IL-17A before the treatment. Taken together, qPCR revealed treatment failure by benznidazole in certified free-vector endemic areas and plasma levels of IL-17A showed a significant bio-marker for active parasite infection in humans.



**P-64 Biochemical characterization, site-directed mutagenesis study and crystal structure of *Trypanosoma brucei* acetate:succinate CoA transferase**

望月 恒太<sup>1,2)</sup>、稲岡 健ダニエル<sup>3,4,5)</sup>、Balogun Emmanuel<sup>4)</sup>、志波 智生<sup>6)</sup>、原田 繁春<sup>6)</sup>、Bringaud Frederic<sup>7)</sup>、平山 謙二<sup>2)</sup>、北 潔<sup>3,4,5)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 免疫遺伝学分野、

<sup>3)</sup>長崎大学大学院 熱帯医学・グローバルヘルス研究科、

<sup>4)</sup>東京大学大学院 国際保健学専攻 生物医化学教室、<sup>5)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 感染生化学分野、

<sup>6)</sup>京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科 応用生物学専攻 構造生物工学研究分野、

<sup>7)</sup>ポルドー大学 基礎微生物病理学

*Trypanosoma brucei* is a protozoan parasite causing sleeping sickness in human and Nagana in cattle. Emerging of resistant parasites to current therapy highlights the need to develop novel drugs with distinct mechanism of action. The energy metabolism of *T. brucei* between procyclic form (PCF) and blood stream form (BSF) is a good target due to differences to host metabolism. The electron transport chain of PCF is similar to the host, which uses classical cytochrome pathway for energy generation. However, in BSF, complex III and IV completely disappear and complex V pumps proton from matrix to intermembrane space in ATP-dependent manner. For this purpose, large amount of ATP is necessary and it was suggested that ATP produced by substrate-level phosphorylation from Acetate:succinate CoA transferase/Succinyl-CoA Synthetase (ASCT/SCS) cycle may play such important role. However, direct evidence of a functional ASCT/SCS cycle has not been reported. In this cycle, ASCT transfers the CoA group from Acetyl-CoA to Succinate (SUC) producing acetate (ACE) and succinyl-CoA, which is used by SCS to produce ATP, CoA and SUC. Therefore, ASCT/SCS cycle can produce ATP independently to oxygen and electrochemical gradient availability. The acetate produced by ASCT in parasite mitochondria was shown to be essential, at least in PCF, suggesting that enzymes involved in this pathway are potential target for drug development. Although ASCT is not found in mammals, human Succinyl-CoA:3-ketoacid-CoA transferase (HsSCOT) has 52% identity to *T. brucei* ASCT (TbASCT) at amino acid level. HsSCOT is an important enzyme for ketone body catabolism and functionally distinct from TbASCT. In this study, we report the first biochemical characterization of *in vitro* reconstituted ASCT/SCS cycle, by a new and sensitive assay system. In addition, residues essential for TbASCT activity were identified by its crystal structure combined with site-directed mutagenesis studies.

**P-65 Epigenetic landscape of H3K27me3 marks in macrophages transformed by *Theileria annulata* infection**

佐倉 孝哉<sup>1,2)</sup>、Tajeri Shahin<sup>1)</sup>、Wassef Michel<sup>3)</sup>、Rchiad Zineb<sup>1,4)</sup>、Ansari Hifzur R<sup>4)</sup>、

Kaushik Abhinav<sup>4)</sup>、Martinelli Axel<sup>4,5)</sup>、Pain Arnab<sup>4)</sup>、Margueron Raphael<sup>3)</sup>、Langsley Gordon<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Biologie Cellulaire Comparative des Apicomplexes, Institut Cochin, INSERM U1016, CNRS UMR8104, Paris 75014, France、<sup>2)</sup>School of Tropical Medicine and Global Health, Nagasaki University, Nagasaki, 852-8523, Japan、<sup>3)</sup>Genetique et Biologie du Developpement, Institut Curie, INSERM U934, UMR 3215 CNRS, Paris 75005, France、<sup>4)</sup>Biological and Environmental Sciences and Engineering (BESE) Division, King Abdullah University of Science and Technology (KAUST), Saudi Arabia、<sup>5)</sup>Global Station for Zoonosis Control, Global Institution for Collaborative Research and Education (GI-CoRE), Hokkaido University, Sapporo, Japan

A specific feature of *Theileria annulata*- and *T. parva*-induced transformation is that it allows amplification of the parasite population due to uncontrolled proliferation of infected bovine leukocytes. Early passage *T. annulata*-transformed macrophages are virulent (disseminating), but virulence decreases with long-term (>300) passage and infected macrophages become attenuated for dissemination and are used as live vaccines against tropical theileriosis. Loss of dissemination is restored when TGF- $\beta$ 2-mediated signaling is re-established in attenuated macrophages suggesting epigenetic regulation rather than germ-line mutation(s) of cancer-related genes. Histone H3 at lysine 27 (H3K27) is subjected to several post-transcriptional modifications shown to be important for proper control of gene expression. Among them, the tri-methylation (H3K27me3) is catalyzed by the histone methyltransferase Enhancer of Zeste Homolog 2 (EZH2), a member of the Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2). H3K27me3 prevents gene expression probably by limiting access of target genes to transcriptional factors/ RNA polymerase machinery. In attenuated macrophages, the total amount of H3K27me3 was increased suggesting that PRC2 could be hyperactive in this context. Surprisingly, ChIP-seq analysis of attenuated macrophages revealed an abnormal distribution of H3K27me3 marks across the host genome characterized by a flattening of the peaks and spreading away from the transcription start sites (TSSs), gene bodies, and transcription termination sites (TTSs). These findings suggest that altering PRC2 activity might contribute to the attenuation of virulence. Consistent with this hypothesis, pharmacological inhibition of PRC2 decreased *Theileria*-induced tumour dissemination in immune-compromised Rag2/ $\gamma$ C mice. Therefore, RNA-seq of PRC2 inhibitor treated macrophages was performed to identify genes regulated in an H3K27me3-dependent manner. We will discuss the contribution of repressive function of PRC2 to *T. annulata*-induced macrophage transformation and attenuation of tumour dissemination.

## ●一般演題（ポスターセッション）

## 第2会場：専斎ホール

**P-66 Current health status and its risk factors of the highland residents in the Mustang district of Nepal**Koirala Sweta<sup>1)</sup>、中野 政之<sup>1,2)</sup>、有馬 弘晃<sup>1)</sup>、山本 太郎<sup>1)</sup><sup>1)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 国際保健学、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学研究所 細菌学**Background**

Epidemiology of non-communicable diseases (NCDs) such as Diabetes Mellitus (DM), intermediate hyperglycemia (IHG), hypertension (HTN) and obesity are influenced by various hosts and environmental factors. The purpose of the study was to assess the risk factors and prevalence of DM, HTN and obesity among some residents of Tibetan ancestry in a rural village of Nepal.

**Methods**

A cross-sectional survey was conducted in a rural village situated at 3,500 meters above the sea level in northern Nepal. Each 188 randomly selected participants of age equal and over 18 years old answered a questionnaire and took physical measurements such as height, weight, blood pressure, oxygen saturation (SpO<sub>2</sub>), and glycated hemoglobin (HbA1c). We also asked participants about their current lifestyle and socioeconomic status. To evaluate the risk of health status for our participants, we performed statistical analyses by a multiple logistic regression analysis.

**Results**

The prevalence of HTN, IHG and DM was 20.7%, 31.6% and 4.6% respectively. The prevalence of hypoxemia (SpO<sub>2</sub> <90%) was 27.1%. 68% of the participants had no formal education, 73% were unemployed and 50% were income poor. We found that the prevalence of IHG and DM combined population was dramatically increased over 40 years of age in both gender. A multiple logistic regression analysis for factors for the prevalence of glucose intolerance revealed older age (odds ratio [OR]: 1.11, 95% confidence interval [CI]: 1.06-1.16, for every one year increase) and SpO<sub>2</sub> (OR for hypoxemia: 3.58, 95% CI: 1.20-10.68, vs normoxia).

**Conclusions**

Tibetan highlanders in remote mountainous Mustang valley of Nepal have high prevalence of common NCDs like HTN, obesity and impaired glucose metabolism. It could be related to hypoxemia imposed by the hypoxic condition of high altitude living.

**P-67 ネパール高地民におけるテロメア長を用いた健康リスク評価**有馬 弘晃<sup>1,2)</sup>、Koirala Sweta<sup>1,3)</sup>、中野 政之<sup>1,4)</sup>、山本 太郎<sup>1,2,3)</sup><sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 国際保健学分野、<sup>2)</sup>長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科、<sup>3)</sup>長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 リーディングプログラム、<sup>4)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 細菌学分野

**【目的】**生活習慣病対策は国際的な保健課題であり、高地環境でもそれは例外ではない。ネパールのムスタン郡は標高3500m以上に位置し、チベット高地民が生活をしている。2008年まで独立した自治王国であったため長い間閉鎖的であったが、ここ数年、外部からの人や物の流入により現地の生活が変わりつつある。高地民は低

酸素適応により、高地環境でも生活する術を身に着けているが、この低酸素適応の機構が生活の変化により破綻すると、トレードオフとして生活習慣病の発症がより加速される可能性がある。そこで本研究では、テロメア長を指標とすることにより、低酸素適応と健康リスクを総合的に評価することを試みた。【方法】ムスタン郡に位置するTsarangでヘルスキャンプを行い、18歳以上の189人を調査対象とした。質問紙を用いた生活習慣や疾患の家族歴調査、身体測定、検体採取を行い、唾液由来DNAを用いたリアルタイムPCRによりテロメア長を算出した。このテロメア長に影響を与える因子の検索とともに、多因子によるテロメア長との複合的な関連を解析した。【結果】単変量解析では、女性のみでBMIとWaist、WHR、SpO<sub>2</sub>で有意差が認められた。また、BMI、高血圧、SpO<sub>2</sub>、そしてHbA1cの4項目の値を用いて参加者をカテゴリー化した解析でも、女性の健康リスク別でテロメア長に有意差が認められた。一方でHb正常群に比べHb高値群でテロメア長が短く、HbA1cの値も上昇していた。【結論】項目別では、女性の肥満に関する因子とSpO<sub>2</sub>のみでテロメア長に有意差が認められたが、生活習慣病に起因する複合因子を用いた解析でも、健康リスクとテロメア長との間に関連がみられたことから、テロメア長があらゆる因子の影響を受けている可能性を裏付ける結果となった。よって当該地域では、低酸素適応と生活習慣病の発症が密接に関連し、住民の健康に影響を及ぼしていることが推察される。現在、末梢血DNAを用いたサザンブロットによるテロメア長の評価も行っており、本学会にて男性の解析結果とともに発表予定である。さらに今後は生化学検査や低酸素適応遺伝子のゲノム解析により、現地での健康リスクを分子レベルで明らかにしていく。

## P-68 地球観測衛星データから作成されたグローバルな環境情報のオンライン提供システムの構築

大吉 慶、佐々木 善信、水上 陽誠、田殿 武雄  
宇宙航空研究開発機構 地球観測研究センター

地球観測衛星は、広域の環境情報を定期的に取得することができ、地球観測衛星の運用が始まった1970年代より、限定的ではあるが環境疫学分野において、感染症の媒介生物の生息域や感染リスク推定のため、植生域、地形、水域などの把握に用いられてきた。近年は、地球観測衛星や解析技術の進展により、様々な環境情報がより高精度で取得できるようになってきている。また、過去20-30年分のデータが全球規模で蓄積しているため、特に地上観測データが不足している開発途上国において、環境情報を爆発的に増加させることができ、環境疫学分野での活用が期待される。ウェブサイト等を通じて公開されている地球観測衛星データは数多くあるが、必要とする場所、時期における特定の環境情報を探してダウンロードし、データの加工をした上で利用することは、リモートセンシングの専門家以外にとっては必ずしも容易ではない。データの活用においては、提供元の異なる複数の環境情報の収集には手間がかかる、特定の場所・時期のデータを自分で加工するには画像処理や情報処理技術が必要となる、といった課題がある。そこで本研究では環境疫学分野での利用が想定される衛星データから作成された環境情報について、特定の場所・時期のデータを容易に取得できるウェブシステム(Jaxa's Public-health Monitor and Analysis Platform: JPMAP、<http://www.jpmap-jaxa.jp>)を構築した。JPMAPでは、地球観測衛星データから作成された、降水量、日射量、地表面温度、正規化植生指数、エアロゾル光学的厚さ、土壌水分量、標高を無償で提供している。これらの環境情報は地球全体をカバーしており、利用者は任意の場所(緯度経度、矩形、行政界の3種類の選択が可能)、期間、対象とする環境情報をウェブサイト上で入力することで、選択した環境情報の時系列変動グラフの閲覧や、テキスト形式のデータのダウンロードができる。本システムを構築することで、専門技術を必要とせず、容易に環境疫学分析に地球観測衛星データを活用することを可能とした。

## P-69 ラオスのマラリア対策のための衛星地球観測データを用いた蚊の生育適地マップ作成

佐々木 善信<sup>1)</sup>、大吉 慶<sup>1)</sup>、水上 陽誠<sup>1)</sup>、田殿 武雄<sup>1)</sup>、松本-高橋 エミリー<sup>2)</sup>、石上 盛敏<sup>2)</sup>、狩野 繁之<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>国立研究開発法人 宇宙航空研究開発機構 地球観測研究センター、

<sup>2)</sup>国立研究開発法人 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

マラリアを媒介する蚊の生存領域の分布は周辺温度、植生の有無等周囲の環境に左右される。要因調査のための環境に関する情報を地上で取得する方法もあるが、流行地域／国全体をカバーできる地上検証設備を整備したり、調査したりすることは費用面での負荷が高く、現実的ではない。一方で、これまで世界各国の衛星による地球観測画像が全球規模で蓄積され、その中には土地被覆分類図、地表面温度、地形データ、植生指数等、環境疫学分野においても有効活用可能なデータも数多く、無料で入手できる画像も増加している。加えて、解析のためのGISソフトウェアも無償で提供されるものもあり、解析の敷居も低下しつつある。そこで本研究においては、精度の高い蚊の生育適地マップを作成し、危険地域の事前の対策により、マラリア感染率や被害の軽減に貢献することを最終的な目的として、地球観測衛星により取得された広域・面的・多様な環境データを用いて、蚊の生育適地マップの作成を試みた。対象地域はラオスの中でも最もマラリアが流行しているチャンパサック県を対象とした。マラリア罹患患者数データは過去数年にわたってラオス国保険省により収集されたチャンパサック県内のディストリクトごとのマラリア感染者率データを使用した。衛星データは、葉面積指数 (Leaf Area Index: LAI)、土地被覆分類図等を使用し、蚊の生育に適している生息適地指数を定義し、生息適地マップを作成した。本マップについて、ディストリクトごとに生息適地指数の平均値を計算し、マラリア罹患数と比較した結果、チャンパサック県におけるマラリアの感染率と生育適地指数の間には相関が見られ、本指数の有効性を確認することができた。今後は、他県における有効性検証や、他衛星画像を取り込んだ生息適地指数の高精度化を検討したいと考えている。

## P-70 Use of bed nets incorporating permethrin inhibits blood-feeding by anopheline mosquitoes in Gembe East, western Kenya

溜 宣子<sup>1)</sup>、Sonye George<sup>2)</sup>、Awuor Beatrice<sup>2)</sup>、Kongere James<sup>3)</sup>、Hashimoto Muneaki<sup>4)</sup>、Kataoka Masatoshi<sup>4)</sup>、Minakawa Noboru<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所、<sup>2)</sup>Ability to Solve by Knowledge Project, Mbita, Homa Bay, Kenya、

<sup>3)</sup>Centre for research in Tropical Medicine and Community Development, Nairobi, Kenya、<sup>4)</sup>National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Health Research Institute, Kagawa, Japan

Olyset® Net (Sumitomo Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) is a long-lasting bed net impregnated with permethrin, and the World Health Organization (WHO) has approved it for vector control. As permethrin has a repellent effect, we assessed whether use of Olyset® Net discourages the vectors of *Plasmodium falciparum* to feed on human blood in Gembe East, western Kenya. Indoor resting female anophelines were collected from rooms, and classified as unfed or blood fed. Types of bed nets in the rooms were recorded, and the proportional hole index (PHI) was estimated for each net following the WHO guideline. We also recorded the number of people sleeping under a net and socio economic status for each household. Of 61 bed nets studied, DawaPlus® (coated with deltamethrin) was most common (56%), followed by Olyset® Net (incorporated with permethrin) (23%), Yorkool® LN (coated with deltamethrin) (8%), Duraet® (incorporated with alpha-cypermethrin) (6%), PermaNet® (coated



with deltamethrin) (5%) and one Olyset® Plus (incorporated with permethrin and piperonyl butoxide) (2%). Of 360 female anophelines captured, one belonged to the *An. gambiae* complex and the rest were the *An. funestus* group, and 233 (64.7%) were blood-fed. The density of anophelines increased with increasing the number of people sharing a net (OR: 1.48, 95% CI: 1.13-1.94). Similarly, the density of blood-fed anophelines became higher as more people sleep together under a net (OR: 1.48, 95% CI: 1.09-2.01). The density and proportion of blood-fed anophelines became lower in the rooms with bed nets incorporating permethrin (OR: 0.85, 95% CI: 0.62-1.16 for density; OR: 0.30, 95% CI: 0.14-0.63 for proportion). On the other hand, PHI was not an important predictor for the densities (OR: 1.21, 95% CI: 0.92-1.60) and the proportion (OR: 1.00, 95% CI: 0.77-1.31), and the number of people sharing a net was not important for the proportion (OR=1.17, 95% CI: 0.55-2.48). Although we have not identified the sources of blood meals yet, the results suggest the repellent effect of bed nets incorporating permethrin on blood-feeding behavior of anophelines.

**P-71 Long-lasting insecticidal nets incorporating piperonyl butoxide reduce risk of *Plasmodium falciparum* transmission in children in Gambe East, western Kenya: a cluster randomised controlled trial**

皆川 昇<sup>1</sup>、James Kongere<sup>2</sup>、George Sonye<sup>3</sup>、Beatrice Awuor<sup>3</sup>、Jinping Hu<sup>1</sup>、  
Peter Lutiali<sup>2</sup>、Mercy Mwanja<sup>2</sup>、川田 均<sup>1</sup>、二見 恭子<sup>1</sup>、五十棲 理恵<sup>4</sup>

<sup>1</sup>長崎大学熱帯医学研究所、<sup>2</sup>NUITM-KEMRI Project, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, Nairobi, Kenya、<sup>3</sup>ASK Project, Mbita, Kenya、<sup>4</sup>大阪市立大学医学部寄生虫学教室

The increase of pyrethroid-resistance in vectors of *Plasmodium falciparum* has become a threat to vector control programs using long-lasting insecticidal nets (LLINs). Olyset® Plus is a new LLIN incorporating pyrethroid permethrin and piperonyl butoxide (PBO). PBO is a synergist inhibits the activities of the enzymes that metabolize the pyrethroid. We examined if Olyset® Plus reduces *P. falciparum* infection in children aged between 0 to 10 years in Gambe East, western Kenya. The main vectors in this area are *Anopheles arabiensis* and *An. funestus* s.s that have developed resistance to pyrethroid insecticides. The study area was divided to 12 sub-areas, and the PBO LLINs were distributed to residents in randomly selected four sub-areas. Standard LLINs (Olyset® Net) were also distributed in randomly selected other four sub-areas for the control arm. The PCR based prevalence of *P. falciparum* positive infection was 61.0% in the area covered with the PBO nets and 59.0% in the standard net area. After six months, the prevalence was reduced to 30.6% and 44.8% in the PBO net area and standard net area, respectively. The difference in the post-intervention prevalence was statistically significant (permutation test, adjusted P value = 0.029, n = 861). After 12 months, the prevalence was 34.7% and 46.6% for the PBO nets and standard nets, respectively. The difference was still statistically significant (permutation test, adjusted P value = 0.028, n = 775). The LLIN incorporating PBO was more effective than the standard LLIN.

**P-72 Scoping review of the climate/weather and health research of the Philippines**

Chua Paul<sup>1</sup>、Dorotan MM<sup>2</sup>、Sigua J<sup>2</sup>、Estanislao D<sup>2</sup>、Salazar M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Global Health, School of Tropical Medicine and Global Health、<sup>2</sup>Alliance for Improving Health Outcomes, Inc., Unit 406, Veria Building, West Avenue, Quezon City, Philippines



**Background:** The Philippine Government has recently recognized climate change and health as one of its priority topics for research funding. However, it remains unclear on what has been achieved in this field for the Philippines. To provide some snapshot of the baseline, scoping review of related literature was conducted. **Methods:** The broad question used was “What were the climate change and human health researches done in the Philippines?”. Literature search was done using PubMed, Embase, Web of Science, HERDIN, OpenGrey, ProQuest, and Google from February to April 2018. Both published and grey literature were searched to expand the possibly small number of published articles in scientific journals. The literature search was limited from 1980 up to 2017. Articles that failed to explicitly analyze concepts about climate/weather and linkage with human health were excluded. **Results:** A total of 755 articles and grey literature were retrieved and reviewed. After screening, 45 articles and grey literature were found eligible for the review. In terms of topics, health diseases were the most common. Majority (36%) was related to dengue. This was followed by diarrheal diseases and respiratory infections. Non-disease topics were gender, policy and systems, and adaptation strategies. Majority (78%) were quantitative and quantified the associations between weather variables and selected health outcomes. Most used temperature, relative humidity, and rainfall as weather variables. Only a few used climate data like Southern Oscillation Index. For qualitative studies, analyses revolved around perceptions from farmers, fisherfolks, and government officials related to their knowledge on health adaptation strategies. **Discussion:** With existing national-level data and readily available modeling tools, a large scale, nationwide analysis of climate/weather and selected climate-related diseases should be considered as the next step to be pursued. Beyond these diseases, adaptation and mitigation should be explored, especially on topics related to Philippine health systems and governance.

### P-73 Longitudinal Prevalence of HIV and malaria in Homa Bay county in Kenya

岩崎 もにか<sup>1)</sup>、participants ASANTE-NAGOYA NPO<sup>2)</sup>、内海 眞<sup>2)</sup>、城戸 康年<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup>大分大学 医学部、<sup>2)</sup>特定非営利活動法人 アフリカ支援 アサンテ ナゴヤ、

<sup>3)</sup>大阪市立大学 大学院医学研究科 寄生虫学講座

Globally, 36.9 million people living with HIV and 216 million malaria cases are estimated, mainly in sub-Saharan Africa. In Kenya, 1.5 million people living with HIV, and the highest prevalence of malaria goes up to 27% in the western lake area. With various interventions, substantial progress has been made to decrease morbidity and mortality of HIV and malaria since 2000; however, geographic disparities exist within a country. Gem East district is located in the east side of Homa Bay County near the Lake Victoria with a high prevalence of HIV and malaria. Based on the urgent need for medical facilities in Gem East district, a Japanese non-profit organization called Asante-Nagoya has launched a 5-day annual health check-up since 2010. In this study, we aimed to apprehend the shift of HIV and malaria prevalence at Gem East district. The data of community-based 9,165 people were collected between 2010 and 2016. We found that while the positivity rate of HIV decreased from 23% in 2011 to 4.2% in 2016, the positivity rate of malaria increased from 10% in 2011 to 34% in 2016. The apparent decrease in HIV in this area suggests the importance of knowing the HIV status. The more people know their status, the more would get access to Anti-retrovirus therapy (ART), which could decrease the transmission. Contrary, the prevalence of malaria is remaining at high levels, which indicates that the potential importance of focusing on malaria control even more, with a scale-up of insecticide-treated bed net distribution, consistent supply of rapid diagnostic test and artemisinin combination based therapy.

## P-74 ザンビアの地方病院における周産期死亡の現状、課題

三好 康広<sup>1)</sup>、松原 圭一<sup>2)</sup>、岡 靖哲<sup>3)</sup>、高田 律美<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Zimba Mission Hospital、<sup>2)</sup>愛媛大学 産婦人科、<sup>3)</sup>愛媛大学 睡眠医療センター、

<sup>4)</sup>四国大学 看護学部

**背景と目的：**全世界で毎年260万の死産がある。死産率は0.2%の先進国もあるのに対し、サハラ以南のアフリカ諸国では3.2%と高率である。死産の98%は発展途上国で起こっている。また先進国の新生児死亡率は0.3%であるのに対し、ザンビアの新生児死亡率は2.4%に及ぶ。アフリカで死産・新生児死亡を減少させるためには、医療アクセスの悪い地方でその現状を把握することが不可欠である。ザンビアの地方病院における死産・新生児死亡率、その原因を評価し、解決策について検討した。

**方法：**2017年の1年間にジンバミッション病院で分娩した全ての症例を対象とした。同院は首都から400km離れたザンビア南部州のジンバ地区にあり、98,000人の医療圏人口を有する地方病院である。管轄する多くのヘルスセンターからの患者を受け入れている。ヘルスセンターの看護師もしくは助産師が、病院への紹介が必要と判断すれば、救急車もしくは患者・家族の手配した車で病院へ搬送するが、車の手配には通常時間を要し、道路状況などによって到着時間が左右される。同院での全分娩件数、分娩様式、新生児総数、生児出生数、死産数、新生児仮死数、新生児死亡数についての情報を収集した。さらに死産、新生児死亡の原因について分析した。出生後病院へ搬送となった新生児も、研究に加えた。

**結果：**病院での全1,712分娩のうち、1,408例 82.2% が経膈分娩、304例 17.8% が帝王切開であった。新生児総数は1,760であり、そのうち1,729例 98.2% は生児出生、31例 1.8%は死産であった。新生児仮死は153例 8.7%であった。新生児28例は出生後、病院に搬送された。新生児死亡は43例 生児の2.5%あり、そのうちの39例 90.7% は出生後1週間以内で起こった。31例の死産のうち24例 77.4% で原因が特定された。その19例 全死産の61.3% は防ぎえた死と考えられた。19例の内訳は、9例の(遷延分娩、胎児機能不全で長時間放置されたことによる)分娩時低酸素症、6例の臍帯脱出、2例の子宮破裂、2例の骨盤位(後続児頭娩出困難)であった。新生児死亡の主な原因は新生児仮死19例 44.2%、未熟性16例 37.2%、感染3例 7.0%であった。未熟児16例のうち、6例は出生体重1,000g未満の超未熟児であった。周産期死亡症例のほとんどがヘルスセンターからの搬送症例であり、事前にリスクが把握され、病院への紹介が早ければ防げていた可能性がある。

**結論：**ザンビアの地方病院での死産、新生児死亡の状況、原因について分析した。周産期死亡率を減らすためには、患者、医療従事者の教育、病院へのアクセス改善が必要と考えられた。

## P-75 Effect of preterm birth on childhood kidney size and function

FERDOUS FARZANA<sup>1)</sup>、Raqib Rubhana<sup>2)</sup>、Wagatsuma Yukiko<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, Japan、<sup>2)</sup>International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh (icddr,b), Bangladesh.、<sup>3)</sup>Department of Clinical Trial and Clinical Epidemiology, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan.

**Background:** Preterm birth is a known risk factor for the development of metabolic disease and chronic renal dysfunction. The present study is aimed to understand childhood kidney size, function and blood pressure in relation to birth gestational age. **Methods:** This cross-sectional study was nested in a population-based prospective cohort of 670 singleton live births followed from fetal life onward. Kidney volume was measured by ultrasound in children at the age of 4.5 years, and the estimated glomerular filtration rate (eGFR) was assessed at the age of 9 years. **Results:** The mean (SD) kidney volume (cm<sup>3</sup>), and the eGFR (mL/min/1.7m<sup>2</sup>) differed

between the preterm with LBW children and the children born at term (60.9 [9.4] vs 64.8 [11.4];  $p=0.004$ ), (61.7 [12.8] vs 67.0 [15.6];  $p=0.080$ ), respectively. The multivariable model indicates that the preterm children had a smaller kidney volume/BSA ( $\text{cm}^3/\text{m}^2$ ) than did the children born at term ( $\beta = -4.16$  [95% confidence interval; -8.21 to -0.91],  $p=0.014$ ) after adjusting for the sex and age of the children at the 4.5-years follow-up, mother age and BMI status during early pregnancy, food groups, and micronutrient supplementation groups, and socio-economic index. In additional multivariable model after controlling for the same variables above shows that the children born preterm with LBW had a poorer eGFR ( $\beta = -5.68$  [-11.52 to 0.16],  $p=0.057$ ) than did the children born at term. **Conclusion:** Birth status such as preterm with LBW condition deteriorates kidney size and kidney function at childhood.

## P-76 ケニア共和国クワレ郡における養育者の適切な子どもの給餌行動に関する知識・態度の実際と子どもの栄養状態の決定要因

日達 真美<sup>1)</sup>、ワンジヒア バイオレット<sup>2)</sup>、ニャンディエカ リリアン<sup>2)</sup>、ウエケサ ノラ<sup>3)</sup>、  
 チェプキルイ フランチェスカ<sup>4)</sup>、ワタサ チャンゴマ<sup>1,5)</sup>、金子 聡<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学大学院 医歯薬総合研究科、<sup>2)</sup>ケニア中央医学研究所、

<sup>3)</sup>ジョモ・ケニヤッタ農業技術大学ケニア中央医学研究所大学院、<sup>4)</sup>ケニヤッタ大学大学院公衆衛生学、

<sup>5)</sup>長崎大学熱帯医学研究所-ケニア中央医学研究所共同プロジェクト

**【背景・目的】** 途上国における5歳未満児の栄養失調は未だ公衆衛生上の大きな問題である。世界の5歳未満死亡の約半数である300万人は、栄養失調関連死と推定されてる。また、小児期の栄養失調は、身体や知能発達に長期的な影響も及ぼし、長期的展望に立てば、地域や国の発展にも悪影響を与える社会的な問題でもある。その問題を根本的に解決するには、養育者による適切な給餌行動が重要となる。長崎大学ケニアプロジェクト拠点のフィールドが存在するクワレ郡は、ケニアの全国平均を上回る29.7%の乳幼児がstunting(発育障害)と報告されている。本研究では、養育者の乳幼児への適切な給餌行動に関する知識・態度と長期的な栄養失調状態への影響を明らかにし、途上国における養育者の給餌行動改善に向けた解決方法を探ることを目的とする。**【方法】** ケニア中央医学研究所と長崎大学がクワレ郡にて共同で行っている住民登録と動態登録システム (Health and Demographic Surveillance: HDSS) の情報を用いて、該当地域2地域 に住む5歳未満児とその養育者700組の家庭を抽出、訪問調査により、基本属性、居住環境、経済状況、適切な子どもの給餌行動に関する知識・態度に関するアンケート調査及び身体測定を行った。収集した情報から、stuntingに関するZ-scoreを独立変数としてステップワイズ法による重回帰分析を行った。**【結果】** 抽出された700組の対象者のうち、691組に対して調査を実施した (98.7%)。対象乳幼児の平均月齢は27.9(±14.6)カ月であり、48.8%が男児であった。WHOが推奨する母乳育児や離乳食に関する適切な給餌行動9項目に関して、約80%の養育者が全ての項目について知っていると回答した。さらに、すべての項目に関して知っていると回答した養育者のうち約半数が全ての項目を支持していた。本研究のために作成した知識スコア (0～9点)・態度スコア (-9～+9点) は、それぞれ、平均8.7点、7.6点であった。乳幼児の栄養状態は、30.1%がstunting、6.9%がwasting (消耗症)、16.0%がunderweight (低体重) であった。重回帰分析の結果、認態度スコア ( $\beta=0.072$ ,  $p=0.05$ )、経済状況 ( $\beta=0.297$ ,  $p=0.035$ )、教育の有無 ( $\beta=0.329$ ,  $p=0.028$ ) において、StuntingのZ-scoreとの統計学的に有意な関連がみれた。**【考察】** WHOが推奨する乳幼児への適切な給餌方法9項目に関して、多くの養育者が全ての項目の知識はある事が明らかになった。一方で、実際に給餌行動として、その知識を支持していないことが明らかとなった。また、乳幼児の栄養状態は、経済状況や養育者の教育の有無だけでなく、推奨されている適切な給餌行動に対して支持的な態度であることが関連していたことが明らかとなった。以上より、一方的に適切な給餌行動に関する情報の提供をするだけでなく、その内容を養育者が理解し、支持をした上で、行動に移すための介入の検討が必要であると考えられた。

## P-77 日本赤十字社のバングラデシュ南部避難民救援事業におけるジフテリア感染対策についてのアンケート調査

小林 謙一郎<sup>1)</sup>、古宮 伸洋<sup>1,2)</sup>、久保 健児<sup>1)</sup>、大津 聡子<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>日本赤十字社和歌山医療センター 感染症内科部、

<sup>2)</sup>日本赤十字社和歌山医療センター 国際医療救援部

平成29年8月以降、ミャンマー西部で発生した暴力行為を避けるため、多くの住民が隣国のバングラデシュに流入し、国境を越えた避難民の数は約70万人にのぼった。日本赤十字社（日赤）は避難民キャンプで高まる医療ニーズに応えるため、Emergency Response Unit (ERU)を派遣し、平成29年9月から医療支援活動を開始した。

平成29年12月から平成30年2月にかけて、避難民キャンプにおいてジフテリアの流行がみられ、平成30年5月末時点で約7000人のジフテリア患者が報告されている。ERUに従事した医療者やボランティアへのジフテリア感染対策として、1.派遣要員やローカルスタッフ（50名）へのジフテリアワクチン接種、2.仮設診療所内での感染対策の強化、3.日赤派遣要員の予防内服を含めた健康観察、などを実施した。今回、特にジフテリアの患者が多く報告された12月から1月にかけて活動していた日赤派遣要員（18名）に対して、感染対策の実態と困難感の調査の為、アンケート調査を実施した。要員の内訳は、医師3名、看護師6名、薬剤師3名、医療調整要員3名、技術要員1名、その他1名で、年齢の分布は、20代1名、30代10名、40代6名、50代1名だった。18名中13名（87%）がジフテリア患者（疑い含む）との接触があった。容易に実施できた感染対策は、ジフテリア疑い患者の隔離、派遣要員への予防接種・内服、患者家族への訪問などであった。一方、実施にあたり困難を感じたものは、他団体との連携、患者・家族への教育（家庭内の感染対策、予防内服の必要性）などであった。

## P-78 TB patient costs: longitudinal data collection to capture total patient costs in the Philippines

山中 拓也<sup>1,2)</sup>、Laurence Yoko<sup>1)</sup>、Vassall Anna<sup>1)</sup>、Cox Sharon<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>ロンドン大学衛生熱帯医学大学院、<sup>2)</sup>長崎大学 熱帯医学・グローバルヘルス研究科

### Background

Tuberculosis (TB) is both a cause and consequence of poverty, and the Philippines is classified as a high TB burden. Diabetes mellitus (DM) is known to increase the risk of active TB disease and may increase the risk of poor treatment outcomes. WHO estimation of TB incidence in the Philippines was 554 per 100,000 in 2016 (3rd highest country) and also with a high TB incidence occurring with comorbid diabetes. One of the pillars of the WHO End TB strategy is *to ensure that no family is burdened with catastrophic expenses due to TB*. To capture the current situation of TB associated household costs and monitor the progress to achieve this goal, WHO promotes countries with high a TB burden to conduct baseline and periodic TB patient cost surveys. The current guideline is to conduct TB patient cost study using a cross sectional design for simplicity and practicality and to estimate total TB patient costs combining cost data from different patients. In the Philippines, the Filipino NTP conducted a nationwide TB patient cost study collaborating with WHO from 2015 to 2017. However, this study has been cross sectional and have not assessed costs of diabetes diagnosis and treatment in TB patients. We will adapt the current WHO costing tool to include capture of DM related costs in those with comorbid DM.

### Methods

600 TB patients will be enrolled in this study in urban and rural study sites in Manila and the Central and Western Visayas regions of the Philippines to assess total TB patient costs. Patients will be followed up until the end of TB treatment course and collect data on patient costs with repeated home based interviews (4 times for each



patient).

### Objectives

This study will assess the added value of longitudinal data collection of TB patient costs compared to standard WHO cross sectional methodology, in particular to determine individual level household coping strategies and investigate which households and when are most at risk of catastrophic costs. We also plan to collect diabetes patient costs to compare patient costs between TB with and without diabetes, and diabetes provider costs for further cost effectiveness analysis for integration of diabetes management within TB programme in the Philippines.

## P-79 Etiology and risks factors associated with fatal outcome in childhood pneumonia

Dembele Bindongo<sup>1)</sup>、神垣 太郎<sup>1)</sup>、Clyde Dapat<sup>1)</sup>、玉記 雷太<sup>1)</sup>、Veronica Tallo<sup>2)</sup>、押谷 仁<sup>1)</sup>、Socorro P Lupisan<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東北大学大学院 医学系研究科、<sup>2)</sup>フィリピン熱帯医学研究所

**Background:** Pneumonia remains a leading cause of hospitalization and death in children <5 years. Various respiratory viruses cause childhood pneumonia; however, most of them association and characteristic findings associated to death remain elusive.

**Method:** We screened hospitalized pneumonia cases in child <5 years old from 4 hospitals in the Philippines from 2008-2016. Nasopharyngeal swabs were collected to test 12 viruses with PCR and venous blood was collected for bacteria culture. Other than routine physical, laboratory examination, oxygen saturation and chest-X-ray were studied.

**Results:** Overall 5054 pneumonia cases were followed. Case fatality rate was 4.7 %. In 2-60 months age group, Respiratory syncytial virus (RSV) (Adjusted Odds Ratio (AOR): 0.4; 0.2-0.6), and Human rhinovirus (HRV) (AOR: 1.1; 0.8-1.5) were not associated with death. Only AD7 was associated to death (AOR: 6.9; 2.4-18). Fever (AOR: 2.4; 1.8-3.3) and severe malnutrition (AOR: 2.7; 1.9-3.7) were associated to death. Hypoxemia (AOR: 4.1; 2.9-5.7) and presence of chest radiograph finding increased the odds of death significantly. Bacteraemia was associated to death (AOR: 5.4; 2-14.6).

**Conclusion:** In general viruses infection did not increase risk of death. In contrast, regardless the type of pathogen, chest-X-ray findings, oxygen saturation measurement had more abilities of death risk cases detection.

## P-80 Depression, Nutrition and HIV adherence in men who have sex with men (MSM) in Manila, Philippines

Elsayed Hend<sup>1)</sup>、Leyritana Katerina<sup>3)</sup>、OConnor Cara<sup>2,3)</sup>、Cox Sharon<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学・グローバルヘルス研究科、<sup>2)</sup>ロンドン大学衛生熱帯医学大学院、

<sup>3)</sup>Sustained Health Initiatives of the Philippines (SHIP), Inc.

### Background

Depression is the most frequently observed psychiatric disorder among HIV patients. The effect of depression on adherence among MSM HIV patients has not been well studied in the Philippines. Depression is commonly undiagnosed and consequently untreated which leads to a negative influence on ART adherence. Other risk factors

such as HIV-related stigma, self-body image satisfaction, and nutritional status are recognized as a potential barrier to access HIV prevention and poor adherence. Social and family support are essential in patient's lives to support their treatment outcomes and Quality of Life. The main objective of this study is to assess the prevalence of depression and its effect on ART adherence among adult MSM HIV outpatients enrolled on ART in the Sustained Health Initiatives of the Philippines in Manila.

### Methodology

A nested cross-sectional study was conducted amongst outpatients of SHIP clinic. The Hospital Anxiety and Depression Scale was used to screen depressive symptoms. Adherence was self reported using a visual scale questionnaire for last 30 days. Structured questionnaires were used for measuring risk factors. Bio-electrical impedance analysis was used to measure body composition.

### Result

176 participants were recruited from the SHIP clinic until the end of June 2018. Of 176 patients, 22.2% were depressed and 11.9% were non-adherent to the medications. The most common reason to skip pills was simply forgotten. Only 2 of non-adherent patients answered the reason of skip dose was because of depression. The crude odds ratio (OR) between depression score and non-adherence was 1.14 (1.02 to 1.27). The adjusted OR between depression score and non-adherence for patients with less lean body muscles was 1.39 (1.10 to 1.76), while the OR for patients with more lean body muscles was 1.12 (0.94 to 1.35). SFS and BI were significantly associated with both depression and non-adherence.

### Conclusion

Depression is a common symptom among HIV patients. The unrecognized depression might affect the adherence of a patient with less physical practice along with social family support and body image. Further prospective studies are needed to address the causal pathway between depression and non-adherence and if improving HIV patients' lean body muscle mitigates their depression and also improve the adherence level.

## P-81 ベトナムにおけるデングウイルス集団の変遷

鍋島 武<sup>1)</sup>、Thu Bui Thuy<sup>1)</sup>、Ngwe Tun Mya Myat<sup>1)</sup>、Anthony D Luz Mark<sup>1)</sup>、  
Maria Terrese Galvez Alonzo<sup>2)</sup>、C Buerano Corazon<sup>2)</sup>、長谷部 太<sup>3)</sup>、森田 公一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所、<sup>2)</sup>Research and Biotechnology, St. Luke's Medical Center、<sup>3)</sup>Vietnam Research station, Center for Infectious Disease Research in Asia and Africa, Institute of Tropical Medicine

**【目的】** ベトナムにおけるデングウイルスのウイルス集団の変遷を観察するために、2012年よりベトナム中部、Hue省Hue市のHue Central Hospitalを拠点として、デングウイルス感染症患者から血清を採集して培養細胞に接種し、デングウイルスの分離を行った。**【方法】** 患者血清をアフリカミドリザル由来Vero細胞、ヒトスジシマカ由来C6/36細胞、ヒト由来SKN-SH細胞、ハムスター由来のBHK細胞と、異なる生物由来の培養細胞に接種し、培養上清中に含まれるウイルスゲノムRNAの塩基配列を、サンガー法、また次世代型シーケンサー (NGS) Ion Proton(Life Technologies)を用いて解読した。**【結果】** 2013年にHueで採取されたDENV1では、C6/36細胞と、Vero細胞で培養した上清とで、デングウイルスの非構造タンパクの一つ、NS4Bコーディング領域の変異の頻度が異なっていた。Vero細胞培養上清で、バリンからメチオニン、アラニンへの置換が高い頻度で観察された。メチオニン型、アラニン型のウイルスはVero細胞で高い増殖性を示した。その後、2015年以降にHueで採集されたDENV1では、2013年とは異なる多形が観察された。2012年から2017年の期間にHueで分離したDENV1のゲノムRNAの塩基配列を、GenBankに登録されている、ベトナム由来のDENV1のデータと比較したところ、Hue由来のウイルスは3つのクレードに分けられた。**【考察】** 2013年以降起きた、NS4B等の多形の変化は、Hueにお



けるDENV1の集団が入れ替った事が原因であると考えられた。ベトナム由来のDENV1の中には、カンボジアやタイに由来すると思われるクレードが存在していた。一方で、各クレードが場合によっては10年以上、一つの地域から継続して分離されていた。DENV1のみならず、デングウイルスの他の血清型でも、地域に局在する傾向が見られた。

### P-82 Epidemiological study of *Vibrio cholerae* O1 strains using multilocus sequence typing

Shah Mohammad<sup>1,2)</sup>、ブンディ マーティン<sup>2)</sup>、和田 昭裕<sup>3)</sup>、森田 公一<sup>3,4)</sup>、一瀬 休生<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Kenya Research Station, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan、

<sup>2)</sup>Nagasaki University Institute of Tropical Medicine-Kenya Medical Research Institute Project, Nairobi, Kenya、<sup>3)</sup>Department of Bacteriology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan、<sup>4)</sup>Department of Virology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

This study describes the application of multilocus sequencing typing (MLST) methods in determining the genetic variation and relatedness of 93 *Vibrio cholerae* O1 strains isolated from various outbreaks in Kenya. The MLST assay used six conserved genes such as *dnaE*, *recA*, *gyrB*, *cat*, *mdh*, and *groEL*. Our data showed that transitional substitutions that led to silent mutations were observed in all genes. A total of 26 MLST types were observed, and this assay could differentiate *V. cholerae* O1 strains within the different localities. In conclusion, a sequence-based analysis in this study provided a better understanding of mutation points and the type of mutations in *V. cholerae*. The MLST assay is useful to characterize *V. cholerae* O1 strains and is suitable for the epidemiological study.

### P-83 Seroprevalence of acute hantavirus infection in a hot spot of Chronic Kidney Disease of unknown etiology (CKDu) in Sri Lanka: Preliminary data

Sanka Dissanayake<sup>1)</sup>、ガマゲ チャンディカ<sup>1)</sup>、サラスクマラ ヨマニ<sup>1)</sup>、  
ダハナヤケ マドゥシャニ<sup>1)</sup>、ムスシンハ デビンダ<sup>2)</sup>、グナラスネ リシャンタ<sup>3)</sup>、  
ロクパシラゲ シスミニ<sup>4)</sup>、有川 二郎<sup>4,5)</sup>、吉松 組子<sup>3,5)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Peradeniya, Sri Lanka、

<sup>2)</sup>北海道大学大学院国際感染症学院、

<sup>3)</sup>ギランドゥルコッテ地区病院腎臓病クリニック、ギランドゥルコッテ、スリランカ、

<sup>4)</sup>北海道大学大学院医学研究科、<sup>5)</sup>北海道大学医学部微生物学免疫学分野

**Introduction:** Hantavirus infection is a vital rodent-borne acute febrile infection. Clinical presentation of two main syndromes presence with an acute febrile illness, namely haemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), and hantavirus pulmonary syndrome (HPS). Serological evidences from Sri Lanka suggested the circulation of hantaviruses in the country. In 2017, a cross sectional study conducted in Giradurukotte, Sri Lanka; one of the hot spots of Chronic Kidney Disease of unknown etiology (CKDu), had shown a high exposure to hantaviruses among healthy community. Current study aimed to reveal acute hantavirus infection among residents in Girandurukotte, Sri Lanka and to assess known risk factors of hantavirus infection.

**Methodology:** A cross sectional study was designed to obtain blood samples and questionnaire data from febrile

patients who attended to Giradurukotte District Hospital, Sri Lanka, from June to August, 2017. Serum samples were screened for anti-hantavirus antibodies using Indirect Immunofluorescence Assay (IFA). Data obtained from the structured questionnaire and IFA test results were tabulated. Descriptive statistics were presented and the testing of associations towards risk factors was assessed by online statistical package using chi-square test. The P value over 0.05 was considered as statistically significant.

**Results:** Among 66 acute febrile patients, 42.4% were between 19-39 years of age (mean age, 43; SD, 15.19). Majority of patients (62.1%) were male and approximately, two thirds of patients (66.7%) were involved in paddy farming. Forty-six patients (69.7%) noted that they had seen rats in their houses, while 42 of them (63.6%) confirmed that they had seen rat faeces daily or occasionally. Among the 66 patients, 16 (24.2%) were anti-hantavirus antibodies positive, according to indirect IFA. However, the analysis revealed that the relationship between socio-demographic factors and the hantavirus infection was not statistically significant, except for the exposure to rat faeces (odds ratio = 5.50; 95% CI = 1.129-26.792).

**Conclusion:** The results indicated the presence of acute hantavirus infection in Giranduarukotte, Sri Lanka. Further research needs to be carried out by using molecular tests to reveal genome of the infective hantavirus.

#### **P-84 USEFULNESS OF ENVIRONMENTAL DNA FOR DETECTING *SCHISTOSOMA MANSONI* OCCURRENCE SITES IN MADAGASCAR**

オオタケ サトウ マルセロ<sup>1)</sup>、Rafalimanantsoa Armand<sup>2,3)</sup>、Ramarokoto Charles<sup>2)</sup>、  
Rahetilahy Alain Marcel<sup>3)</sup>、川合 覚<sup>1)</sup>、源 利文<sup>4)</sup>、サトウ 恵<sup>5)</sup>、桐木 雅史<sup>1)</sup>、  
Voahangy Rasolofo<sup>2)</sup>、千種 雄一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>獨協医科大学熱帯病寄生虫病学講座、<sup>2)</sup>Unité de Recherche sur les Helminthiases, Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, Madagascar、<sup>3)</sup>Ministry of Public Health, Antananarivo, Madagascar、

<sup>4)</sup>神戸大学大学院人間発達環境学研究科、<sup>5)</sup>新潟大学大学院保健学研究科

Schistosomiasis is the most important helminthic disease in Madagascar. It is caused by *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*, infecting people by skin penetration of cercaria in water sources. The infection by those blood flukes causes granulomatous reactions and fibrosis in the affected organs, resulting in severe clinical manifestations. Usually, the diagnosis of schistosomiasis is done by direct or indirect detection of the parasite in host materials (feces, urine, blood, etc). However, even those methods provide us with important information on individual samples, the range of the disease in the environment and the impact it can cause in endemic areas is difficult to predict. To fill the lack of eco-epidemiology information we developed a system for detection of *S. mansoni* based on environmental DNA (eDNA). The field study was carried out in Maevatanana district of Madagascar. Seven water sources with human use were sampled totalizing 21 water sample collections. Snails were collected, and patients were examined by ultrasound to determine the occurrence of schistosomiasis in the study area. We could determine one water source with active transmission by detecting *S. mansoni* eDNA and the intermediate host *Biomphalaria pfeifferi* collected in the same water source. People with clinical schistosomiasis were examined in the area reinforcing the findings. The application of eDNA in eco-epidemiology enables the determination of hot spots and safe spots in endemic areas, constituting an ecological alternative tool for the control of schistosomiasis, contributing for the water safety information, improving the health standard of the people living in endemic areas.

**P-85 Sero-epidemiological evidence of human T-lymphotropic virus type 1 in the northern area of Borneo, Malaysia**

Sabri Shanaz Irwani Binti<sup>1)</sup>、森 大輔<sup>2)</sup>、Kugan Omar Kwang<sup>3)</sup>、Shaharom Saliz Mazrina Binti<sup>1)</sup>、八尋 孝明<sup>2,4,5)</sup>、江島 伸興<sup>6)</sup>、Jeffree Mohammad Saffree<sup>7)</sup>、山岡 吉生<sup>8)</sup>、西園 晃<sup>4)</sup>、Ahmed Kamruddin<sup>2,9)</sup>、伊波 英克<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Transfusion Medicine, Queen Elizabeth Hospital II, Malaysia、<sup>2)</sup>国立マレーシア大学サバ校 医学部 病理臨床診断学講座、<sup>3)</sup>Kudat Area Health Office, Sabah State Health Department、<sup>4)</sup>大分大学 医学部 微生物学講座、<sup>5)</sup>鶴見病院 臨床検査部、<sup>6)</sup>京都大学 高大接続入試センター、<sup>7)</sup>Department of Community & Family Medicine, Faculty of Medicine & Health Sciences, Universiti Malaysia、<sup>8)</sup>大分大学 医学部 環境・予防医学講座、<sup>9)</sup>Borneo Medical and Health Research Centre, Faculty of Medicine & Health Sciences, Universiti Malaysia Sabah

**Background:** Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) is an etiological agent of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) and virus induced inflammatory diseases such as HTLV-1 associated myelopathy (HAM) and HTLV-1 associated uveitis (HAU). Geographic, anthropological and socioeconomic factors are among the aspects influencing the prevalence of HTLV-1 in specific areas and countries. Although it has been recognized that the pan-Pacific zone is one of the endemic area of HTLV-1, through survey of HTLV-1 prevalence in Southeast Asia has not conducted so far.

**Methods:** We collected 1,862 blood samples from the Sabah state including volunteer blood donors reside in the metropolitan area of Kota Kinabalu and Kudat division during August 2016 and July 2018. Serological evaluation of HTLV-1 infection was performed with particle agglutination method (SERODIRR-HTLV-1, Fujirebio, Tokyo, Japan). Results: Blood samples were collected from 40 different ethnic groups and we identified one HTLV-1 sero-positive specimen at this point.

**Conclusion:** We report here the provisional results of the sero-epidemiological survey on the prevalence of HTLV-1 in the northern area of Borneo, Sabah state, Malaysia. Detailed description and discussion will be presented at the meeting.

**P-86 A Household Survey of a Northern Uganda Community with Onchocerciasis-Associated Epilepsy / Nodding Syndrome (OAE/NS)**

坂井 紀公子<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>金沢星稜大学 教養教育部、<sup>2)</sup>京都大学アフリカ地域研究資料センター

**Introduction:** Nodding syndrome (NS) is a seizure disorder affecting children in parts of East Africa. It is considered part of a spectrum of Onchocerciasis-Associated Epilepsy (OAE) disorders because of having a strong association with onchocerciasis. The most recent epidemic has been observed in the Acwa river basin in northern Uganda. Although the epidemic seemed to have peaked in 2008 and the number of new cases has dramatically decreased since then, the effects of the disease still haunt patients because of poor access to health facilities, resistance to anticonvulsants, and progressive mental disabilities.

**Aim:** I conducted a household survey to understand the characteristics of families with NS patients in a village near the Acwa river.

**Methods:** I conducted a household survey of 70% of all households (HHs; 97/138) using an open-ended

questionnaire and in-depth interviews with HHs of NS patients in September 2014.

**Results:** The survey across 97 HHs (565) revealed that epilepsy including NS affected 10.3% of children (35/339). Most patients reported frequent seizures and developed varying degrees of intellectual disabilities. HHs with patients were affected by the loss of a workforce and excessive care burdens. Female headship was more prevalent in HHs with patients (38%) compared to all HHs of the village (30 %). Almost of all HHs headed by females had subscribed to a Community Based Organization (CBO) that was formed in the village for HHs with patients for self-help in 2013.

**Conclusion:** It can be assumed that the burden on HHs headed by females is particularly large. It is necessary to pay attention to the role of the CBO in the community, especially in female-headed HHs with patients.

**Acknowledgement:** This work was supported by JSPS KAKENHI #JP26570007.

## **P-87 NTD制圧を加速するコミュニケーション・ネットワーキングツールとしてのJAGntd (Japan Alliance on Global Neglected Tropical Diseases)**

多賀 優<sup>1,3)</sup>、森保 妙子<sup>1)</sup>、一盛 和世<sup>2)</sup>、金子 聡<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学熱帯医学研究所生態疫学分野、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学研究所、

<sup>3)</sup>長崎大学熱帯医学研究所顧みられない熱帯病イノベーションセンター

かつて日本にも、リンパ系フィラリア症や住血吸虫症、土壌伝播蠕虫症、食物媒介吸虫類感染症など、現在『顧みられない熱帯病：Neglected Tropical Diseases (NTDs)』とされる疾病が存在した。日本社会は、これらの感染症を学術的裏付けと住民、行政の協働により、世界に先駆けて国内から制圧した歴史をもつ。この歴史的教訓を活かし、1960年代以降、政府開発援助（ODA）や学術調査、研究開発などで国際的な感染症制圧に多大の貢献をしてきた。1998年に橋本首相が国際的寄生虫症対策の重要性を訴えて以降、世界保健機構（WHO）は慢性的に流行している17の重要な寄生虫、細菌感染症の疾患をNTDsと定義し、総合的な対策に取り組むこととなる。2012年にはNTDロードマップ（Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases）が策定され、2020年の制圧目標に向かって国際社会は更に対策を進めた。現在、NTD対策は疾患別アプローチとして着実な成果を上げており、保健システムの強化と連携して最貧困層のUHC達成を支持する強力な柱となっている。上述の通り、日本の産官民学はそれぞれがNTD対策への貢献を行ってきた実績がある。ところがこれらの日本の貢献は、NTD制圧活動が世界的に活発化する中で、その実績に見合った国際的評価がなされていない。また、評価されていたとしても、その貢献が必要とする人々に届いていないのではないかとの懸念も生じている。日本が投じる巨額の貢献を実際の対策に直結させ、さらに国際的なNTD制圧活動との連携を深めてゆくためには、現在の産官学民の独立した活動を有機的に結びつけ、可視化すると共に、世界に対して訴求することが不可欠となっている。我々は、2017年12月のUHCフォーラムでのNTDサイドイベント以降、産官学民のNTD制圧活動関係者とNTDネットワークの必要性を議論し、それに期待される機能を明確にしてきた。本報告では、これらの議論をもとに具現化したネットワーク（Japan Alliance on Global Neglected Tropical Diseases: JAGntd）を紹介すると共に、日本の活動の可視化機能、産官民学のパートナーシップ／グローバルコミュニティとの連携強化によるNTD制圧活動の促進についての展望を述べる。



## P-88 ベトナムにおける野鼠を対象としたレプトスピラ症の疫学調査

真井 優<sup>1)</sup>、小泉 信夫<sup>2)</sup>、Ung Trang<sup>3)</sup>、Nguyen Hang<sup>3)</sup>、竹村 太地郎<sup>4)</sup>、長谷部 太<sup>4)</sup>、  
平山 和宏<sup>1)</sup>、三浦 こずえ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学大学院 農学生命科学研究科、<sup>2)</sup>国立感染症研究所、<sup>3)</sup>ベトナム国立衛生疫学研究所、

<sup>4)</sup>長崎大学熱帯医学研究所

**【目的と意義】**近年、ベトナム社会主義共和国(以下、ベトナム)を始めとした東南アジア諸国では経済成長が著しく、主要都市部では人口増加による都市部の拡大や近代的な建築物を多く目にする。しかしながら、下水道などのインフラ整備が進んでいないことと、東南アジア特有の食文化(路面の市場、屋台や路上での飲食)により公衆衛生学上、人の感染症を発生しやすい環境が続いている。その一つに野鼠が媒介するレプトスピラ症がある。レプトスピラ症はスピロヘータ目のレプトスピラ属細菌(*Leptospira spp.*)による人獣共通感染症であり、都市部では野鼠が重要な保菌動物として知られ、野鼠の尿に汚染された水や土壌、食物が感染源となる。初期症状は風邪と類似しているが、重症化すると腎不全や肺出血などの致死的な症状を示す。しかしながら、看過される症例も多く、ベトナムにおけるレプトスピラ症の実態については詳しく知られていない。本研究ではベトナムの首都ハノイ市の野鼠におけるレプトスピラ症の疫学調査を遺伝子学的、血清学的観点から行った。

**【材料と方法】**2017年10月、2018年3月、6月の3回にわたり、ベトナムの首都ハノイ市内の市場、病院、集荷場など人が集まる8か所で、合計144匹の野鼠を捕獲した。野鼠は種の同定を行った後、腎臓、血清を採取した。腎臓は、ホモジネート後コロトフ培地に接種して分離培養、またDNAの抽出を行った。抽出したDNAはnested PCRにより、レプトスピラ鞭毛遺伝子*flaB*の検出を試みた。血清は、*L. biflexa* serovar Patocの全菌体抗原を用いたanti-rat IgG-ELISAを実施し、抗体検出を行った。

**【結果と考察】**捕獲した144匹の野鼠はすべてドブネズミ*Rattus norvegicus*であった。野鼠からのレプトスピラ分離率は11.8%(17/144)、nested PCRによる遺伝子検出率は26.1%(23/88)、ELISAによる抗体陽性率は33.6%(48/143)であった。培養による分離率はnested PCRによる*flaB*遺伝子検出率よりかなり低い結果になった。本実験で使用した培地では生育が難しい種のレプトスピラである可能性が考えられるため、現在これらの検体についてはシーケンス解析を行い、*flaB*遺伝子の部分配列の決定を行っている。今回の調査では、ハノイ市内の野鼠捕獲地域によるレプトスピラに対する抗体陽性率に有意差は認められなかった。このことから、レプトスピラはハノイ市内に広く浸淫し、野鼠で維持されていることが示唆された。また、レプトスピラ症が問題になっているタイにおける野鼠のレプトスピラ遺伝子検出率(8.7%, Jittimaneeら2014)より高い値(34.1%)であったことから、ベトナムにおいてレプトスピラ症に対する注意喚起や衛生環境の向上が必要であると考えられる。

## P-89 ホストとの遭遇頻度がヒトスジシマカの刺咬率およびデング熱流行リスクにおよぼす影響

砂原 俊彦

長崎大学熱帯医学研究所

デング熱は代表的な熱帯病のひとつであるが、温帯地域であるヨーロッパや日本でも媒介蚊の活動が活発な夏期に一時的な流行を起こしてきた。デング熱の非流行地においてどのような条件の時にアウトブレイクが起こりやすいかを評価することは公衆衛生的なリスク管理上重要である。

温帯地域におけるデングウイルスの主な媒介蚊であるヒトスジシマカは公園等の緑地に潜んで吸血ホストを待ち伏せる性質がある。蚊のホストとの遭遇率は蚊の刺咬率やデング熱流行リスクに影響する可能性があるが、これまでその影響について検討されていなかった。本研究では単純な数理モデルを用いて蚊とホストとの遭遇率が蚊の刺咬率と非流行地域におけるデング熱流行リスクにおよぼす影響を解析した。ある場所に留まってい

る孤立した蚊の集団を想定し、待ち伏せ中と休息中の蚊に分けた。ヒトが一定の時間間隔で蚊の集団を訪問し、その際に待ち伏せ中の蚊のある割合が吸血して休息中になるというモデルを設定した。デングウイルス感染者が1度だけ蚊の集団を訪れ、蚊を感染させ、蚊は潜伏期間の後に訪れるヒトを感染させる。1回の感染者の訪問によって生じた2次感染者の数をデング熱の流行リスクとした。

ホストの訪問頻度が低いほど待ち伏せ中の蚊の割合が高くなり、1回の訪問あたりにヒトが蚊に刺さされる回数が大きくなることが確認された。デングウイルスの2次感染者の数はヒトの訪問頻度に対して一山型の関係を示し、ホストの訪問頻度が比較的低い場合（訪問間隔が24時間のとき）に最大値を示した。また、ホストの訪問間隔があまり長くない場合（24時間以内）にはホストあたりの刺咬率は2次感染者数と非常に高い相関を示し、その相関は蚊の密度と2次感染者数との相関よりも高かった。現在日本でヒトスジシマカのモニタリングのために広く用いられている人囿法は蚊の総数でなく刺咬率を代表するが、この方法で得られたデータは蚊の密度そのものよりもデング熱流行リスクのよい指標となると考えられた。

## P-90 2017年度に新潟県において収集したマダニからのボレリア属 *Borrelia spp.*の検出

サトウ 恵<sup>1)</sup>、小柳 愛佳<sup>1)</sup>、石塚 爽香<sup>1)</sup>、池田 董<sup>1)</sup>、渡辺 幸三<sup>2)</sup>、REGILME Maria Angenica F.<sup>2)</sup>、SATO OTAKE MARCELLO<sup>3)</sup>、新井 礼子<sup>4)</sup>、田村 務<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>新潟大学大学院保健学研究科、<sup>2)</sup>愛媛大学工学部環境建設工学科保全生態学分野、

<sup>3)</sup>獨協医科大学熱帯病寄生虫病学、<sup>4)</sup>新潟県保健環境科学研究所ウイルス科

マダニ媒介性感染症として日本国内ではSFTSウイルス、日本紅斑熱Rickettsia、Borrelia属細菌などが重要である。しかし、マダニ媒介性感染症の多くは、患者が発生した時点でそれぞれの地方自治体にマダニの分布調査・病原体の保有の有無の確認が要請される事が多く(症例ベースの調査)、定例的な系統だった調査はほとんどの地域において行われていない。我々のチームでは2016年度より新潟県においてマダニの採取を行い、病原体の解析を行っている。2016年度に新潟県内において採取したマダニ合計386検体についてBorrelia属特異的PCRを用いて検査を行ったところ、9/386 (2.3%) が陽性 (8検体: B. japonica, 1検体: Borrelia sp.) となった(昨年度報告済)。2017年度もマダニの調査を継続し、flagging法にて採取した植生マダニから抽出したDNA(成虫1匹1検体、若虫・幼虫1-5匹をプールし1検体)計923検体を用い、Borrelia鞭毛抗原遺伝子 (Borrelia flaB) を目的遺伝子としたPCR解析を行ったところ、陽性率は3.0% (28/923) であった (2016年度は2.3%)。2016年度はIxodes ovatus中でのBorrelia属陽性率は8/61 (13.1%)であったが、2017年は約8.4% (23/274) となり、やはり他のマダニ種と比較してI. ovatusではBorrelia陽性率は高くなっている。他にHaemophysalis flavaで2検体、H. longicornisで3検体Borrelia属PCR陽性となった。採取地域ごとにBorrelia陽性率を比較すると、上越で最も高くなっていた(下越1.5%、中越3.0%、上越8.5%、佐渡0%)。PCR陽性検体の塩基配列解析によりI. ovatusで検出されたBorrelia種は21検体B. japonica、2検体B. miyamotoiとなった。Haemophysalis属においてBorrelia属PCR陽性となった検体は昨年度と同様、GenBankで相同性の高い遺伝子データがなく、種の確定には至らなかった。Haemophysalis属においてBorrelia属PCR陽性となった5検体のうち、4検体のマダニは同じ採取地で10月から11月に採取されており(昨年度のBorrelia種不明1検体も同様)、今後この地域において採取されたHaemophysalis属を用いBorreliaの培養、そして病原性の有無などの性状の解析を試みる予定である。



## P-91 ビクトリア湖浮遊ホテアオイと未知の住血吸虫宿主貝の可能性

二見 恭子、菊池 三穂子、原 史絵、胡 錦萍、皆川 昇、濱野 真二郎  
長崎大学 熱帯医学研究所

ビクトリア湖において、ホテアオイは住血吸虫の中間宿主である貝の生息場所として適していると考えられている。この水草は湖岸に群生しているが、しばしば風や波の影響により湖岸から離れ、湖面を浮遊する小集団が観察される。この浮遊集団は、住血吸虫に感染した貝の移動に寄与するかもしれない。そこで我々は、キスム湾に浮遊するホテアオイに付着した貝を採集し、形態、RFLP、COIバーコーディング領域を利用して付着貝の種同定を試みた。さらに、これらの方法によって同定されたPlanorbinae亜科の形態的に異なる平巻貝2グループ（凸型と平形）及びBulininae亜科Bulinus属の個体については、LAMP-PCR法を利用してSchistosoma mansoniまたはS. haematobiumの感染を調べた。65個の浮遊ホテアオイ集団を採集し、620個体の貝を採集した。多くの貝は葉や萼の水面近くに付着していた。これらは数mmの小さなものが多く、形態での種同定は困難であった。しかし、RFLPによって全体で12ハプロタイプが認められ、属及び大まかな形態とCOI領域の配列はこれらのハプロタイプとよく一致していた。COIバーコーディング領域を利用した系統解析により、少なくともBulinus truncatusとLymnaea natalensisの2種が存在することが確認された。また、Planorbinae亜科の2グループはどちらもBiomphalaria属ではなく、凸型はGyraulus albusまたはSegmentia属に近縁の1種、平形はGyraulus属の数種を含んでいると推測された。凸型ではHT01-06の6個のRFLPハプロタイプが、平形ではHT07-10の4個のハプロタイプが同定された。Bulinus truncatusのハプロタイプは1つだけであった(HT11)。S. mansoni感染を調べたところ、平形Planorbinae65個体中14個体(21.5%)が陽性であり、うちRFLPハプロタイプの決定に成功した個体は全て同じHT09を持っていた。また凸型Planorbinaeでは30個体中26個体(86.7%)が陽性であり、6個全てのハプロタイプで感染が確認された。一方、Bulinus属ではS. haematobiumに感染した個体は確認されなかった。以上の結果から、Biomphalaria属以外の貝ではあるが、S. mansoniに感染した貝がホテアオイとともに移動していることが明らかになった。これまでGyraulus属がS. mansoniの生活環に関わるとはされておらず、貝の非常に小さな体サイズを考慮すればS. mansoniの貝体内での増殖は困難と予想される。しかし、今回示された高い感染率は、これらの貝が日常的にS. mansoniに感染している可能性を示唆する。これらのことから、今回感染が認められた貝が新しい中間宿主である可能性は低いですが、一方で、感染しても増殖できず、そこで寄生虫の生活環が止まるのであれば、将来的にデコイ貝としての利用可能性も考慮に値するだろう。いずれにせよ、Biomphalaria属以外の貝の感染実態を検討する余地はあると考えられる。

## P-92 日本産ヤマトハマダラカAnopheles lindesayiは形態学および遺伝学的に3グループに分かれる

今西 望<sup>1,2)</sup>、比嘉 由紀子<sup>3,5)</sup>、Teng Hwa-Jen<sup>4)</sup>、砂原 俊彦<sup>3)</sup>、皆川 昇<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科、<sup>2)</sup>国立研究開発法人 科学技術振興機構 日本科学未来館、

<sup>3)</sup>長崎大学 熱帯医学研究所 病害動物学分野、<sup>4)</sup>台湾CDC、<sup>5)</sup>国立感染症研究所

Anopheles (Anopheles) lindesayiはアジアに広く分布するハマダラカで、形態的特徴および地理分布に基づいて5亜種に分類されている。日本からは1亜種Anopheles l. japonicusのみが全国の広い範囲から記録されているが、本亜種の形態的特徴は国内でも産地によって大きな変異があり、複数の集団が存在していることを示唆している。本研究では、日本各地で採集されたAn. l. japonicusの分類学的位置づけの再評価を行い、比較対象としてAn. l. pleccau（台湾産）を使用した。

分子生物学的比較には、日本8地点および台湾2地点のAn. lindesayiを供試した。成虫標本からDNAを抽出し、

ミトコンドリアDNA cytochrome c oxidase subunit1領域 (COI : 571bp) とリボソームDNA Internal Transcribed Spacer 2領域 (ITS2 : 345bp) の塩基配列を得た。これらにGenBankに登録されている*An. lindesayi*の塩基配列を加え、MEGA ver. 5.2により近隣結合法系統樹を作製し、Kimuraの2パラメータモデル (K2P) で各産地間の遺伝的距離を算出した。形態学的比較には日本19地点および台湾2地点の*An. lindesayi*を供試した。各ステージの形態的特徴を記載論文および先行研究に従って観察し、分子生物学的な解析で分けられた地理グループごとに比較した。

COI配列に基づいて作製した系統樹では、日本産*An. l. japonicus*は東日本 (北海道～岐阜)、西日本 (和歌山県～鹿児島県口永良部島) および琉球 (鹿児島県中之島および宝島) の3つのグループに分かれた。琉球列島産は*An. l. pleccau*と同じグループに含まれ、中国産は西日本グループと近縁であった。各グループ間の遺伝的距離は、東日本グループとその他のグループ間で8%以上、西日本と琉球のグループ間で3～4%であった。一般的に蚊のCOI配列の種内で観測される遺伝的距離が2%未満であることを考慮すると、これらの結果は各グループが別種であることを示唆した。ITS2配列に基づいた系統樹および遺伝的距離は、COI配列に基づいたものと同様の結果を示した。ただし、琉球産の標本からはITS2配列の解析に十分なDNAが得られなかった。形態形質347ヶ所のうち、7ヶ所の部位で各地理グループ間に差異がみられた。琉球グループと*An. l. pleccau*はよく似た形態的特徴を示したが、蛹剛毛の分岐数において違いがみられた。

本研究は日本産*An. l. japonicus*が遺伝学および形態的に3つのグループに分かれることを明らかにした。すなわち、*An. l. japonicus*の基産地である北海道を含む“東日本グループ” (= *An. l. japonicus*)、西日本、韓国および中国に分布する“西日本グループ”、そして琉球列島に分布する“琉球グループ”である。琉球グループは*An. l. pleccau*に対し形態学的な差異を示したが、遺伝的に非常に近縁なため*An. l. pleccau*のシノニムと結論した。また、*An. l. pleccau*がマラリア媒介能を持つことから、琉球グループはマラリア媒介能を持つことが示唆された。

## P-93 ヒトスジシマカの北限ならびに国内外の生息密度調査

前川 芳秀<sup>1)</sup>、小林 睦生<sup>1)</sup>、山内 繁<sup>2)</sup>、長島 渡<sup>3)</sup>、奥山 弘幸<sup>4)</sup>、駒形 修<sup>1)</sup>、比嘉 由紀子<sup>1)</sup>、  
沢辺 京子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>国立感染症研究所 昆虫医科学部、<sup>2)</sup>小樽検疫所・検疫衛生、<sup>3)</sup>仙台検疫所・検疫衛生、

<sup>4)</sup>仙台検疫所・青森出張所

### 【背景と目的】

ヒトスジシマカ*Aedes albopictus*は、デング熱やチクングニア熱、ジカウイルス感染症の媒介蚊である。日本では本州以南に生息する普通種であるが、現在世界で最も分布域を急速に拡大している事から、世界各地でそれら感染症流行の脅威となっている。同種の国内分布は、1950年代までは栃木県が分布の北限であったが、2005年には秋田県と岩手県の都市部に定着が確認され、2015年8月に仙台検疫所青森出張所によって実施された港湾衛生調査において、青森港および八戸港でヒトスジシマカ幼虫が採集され、本種の青森県への侵入が初めて確認された。翌2016年8月にも青森港で採集された事を受け、我々は青森県と北海道でヒトスジシマカの調査を行い、国内およびデング熱流行国であるベトナムとブラジルで行った採集結果と比較を行ったので報告する。

### 【材料と方法】

国内の北限調査は青森県八戸市と青森市、北海道函館市と小樽市で幼虫発生源の探索ならびに捕虫網を用いた8分間ヒト囷法で成虫を捕集した。海外のデング熱流行地はベトナム3都市とブラジル1都市で同様の手法を用いて採集した。

## 【結果と考察】

2016年8月に八戸市内の港湾と市街地で調査を行ったが、ヒトスジシマカは確認できなかった。青森市内ではH公園とS神社で2016、2017年共にヒトスジシマカが確認され、2017年の調査で新たに加えたA公園でも多数のヒトスジシマカ幼虫が採集された。これらの事から青森市内のヒトスジシマカの生息域は拡大しつつあると考えられた。2017年に行った函館市内の調査地では、ヤマトヤブカ *Ae. japonicus* が最も多く捕集され、次いでヤマダシマカ *Ae. flavopictus* が多く捕集されたが、ヒトスジシマカの生息は確認できなかった。本年度の結果については、後日報告する。

青森市S神社のヒトスジシマカ平均捕集数は、2016年は27.8雌/8分/人（最大値35雌/8分/人）、2017年は8.7雌/8分/人（最大値20雌/8分/人）と算出され、2014年に起こったデング熱流行地のヒトスジシマカの平均捕集数7.13雌/8分/人（最大値86雌/8分/人）を上回った。この事は、比較的风险が低いと思われる東北地方にあっても、蚊の密度を下げる対策は必要であることを示唆している。2017年のベトナムの平均捕集数は1.5雌/8分/人（最大値7雌/8分/人）、ブラジル0.75雌/8分/人（最大値7雌/8分/人）であった。国内のヒトスジシマカの平均捕集数は、ベトナムとブラジルいずれのデング熱流行地よりも著しく高いことがわかった。今後は、ヒトスジシマカの生息限界の監視を続けながら、国内外のヒトスジシマカの生息密度データを増やしていく予定である。

## P-94 訪日外国人における髄膜炎菌保菌の推定

金山 敦宏、江尻 寛子、加來 浩器

防衛医科大学校 防衛医学研究センター 広域感染症疫学・制御研究部門

**【背景と目的】** わが国では、2013年に髄膜炎菌性髄膜炎のサーベイランスが改正され、敗血症などの髄膜炎以外の症例を含む「侵襲性髄膜炎菌感染症」として把握されている。それによると年間報告数は40例程度で比較的稀な感染症といえるが、海外ではしばしばアウトブレイクの発生が報告されている。わが国への訪日外国人数はアジア諸国を中心に近年増大する一方であり、髄膜炎菌が国内へ持ち込まれ、マシギザリング等でヒトからヒトへ伝播する機会は高まっている可能性がある。実際に、2015年に山口県で開催された世界スカウトジャンボリーに関連して、輸出感染症として複数の国で髄膜炎菌性髄膜炎患者が発生した。そこで本研究では、過去5年間に髄膜炎菌がアジア・太平洋地域から国内へ持ち込まれる可能性がどの程度あったのかを推計し、国内での症例の増加に備えることを目的とした。**【方法】** 2013～2017年のアジア・太平洋地域における11の国・地域（オーストラリア、中国、香港、韓国、モンゴル、ニュージーランド、フィリピン、シンガポール、台湾、タイ、ベトナム）の髄膜炎菌感染症サーベイランスについての情報（報告基準と症例報告数）を収集した。米国とわが国のサーベイランスデータから、報告症例あたりの保菌者数を算出し、各国・地域における保菌者数を割り出した。さらに、渡航者数（総務省の渡航者データベース）および滞在期間（国土交通省の訪日外国人消費動向調査）から、渡航者における保菌者の発生密度を推定し、日本人の保菌発生密度と比較した。**【結果】** いずれの国・地域のサーベイランスシステムにおいても、髄膜炎菌感染症は全数報告対象疾患であった。侵襲性髄膜炎菌感染症を報告対象としているのはオーストラリア、香港、ニュージーランド、および日本であり、ほかは髄膜炎菌感染症であった。データの得られた8つの国と地域からの渡航者数は、わが国への全渡航者数の約80%を占め、保菌の年間発生密度は $5.9 \times 10^6$ 人・日と推定された。一方、日本人における保菌の発生密度は $5.0 \times 10^8$ 人・日であった。**【考察】** 髄膜炎菌が海外から持ち込まれる機会は、日本人からの曝露の機会と比べはるかに小さいことが示唆された。ただし、同時期の分子疫学解析では、すでに海外からの髄膜炎菌の流入が示唆されている。今後、入国者が国内滞在中に周辺へ髄膜炎菌を伝播させる機会は、入国者数の増加および国内でのマシギザリング等に伴って増すと予測され、適時のリスク評価が必要と考えられた。



## P-95 迅速検査キットが陰性であったマラリアの2症例

松井 昂介<sup>1)</sup>、小出 容平<sup>1)</sup>、木岡 ともみ<sup>1)</sup>、泉田 真生<sup>1)</sup>、山梨 啓友<sup>1)</sup>、高橋 健介<sup>1)</sup>、竹田 美香<sup>2)</sup>、  
麻田 正仁<sup>2)</sup>、金子 修<sup>2)</sup>、有吉 紅也<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学病院 感染症内科、<sup>2)</sup>長崎大学熱帯医学研究所原虫学分野

**【背景】** マラリア迅速検査キットは世界で様々なものが使用されているが、本邦では臨床検査キットとして認可されたものはなく、あくまで顕微鏡検査の補助として使用されている。今回当科で経験した迅速検査キット (Binax NOW Malaria, Alere Scarborough Inc., USA) 陰性のマラリア症例2例を、陰性となった原因に関する考察を含めて報告する。**【症例1】** 生来健康な56歳日本人男性、研究のため約6か月間ケニアのシアヤカウンティに滞在して入院29日前に帰国した。入院9日前より発熱、倦怠感、食欲低下が出現し、近医でレボフロキサシン処方されるも改善なく入院1日前に当科を受診、翌日入院となった。入院前日より4日間連続で検査した末梢血のスミアではマラリアを認めず、マラリア迅速検査も2回陰性であった。腸チフスやリケッチア感染症を考えセフトリアキソンやミノサイクリンを投与したが発熱は続き、入院6日目に施行した全血のマラリアPCR検査で四日熱マラリアが陽性となった。その後末梢血の塗抹を再検査したところ四日熱マラリアを認め (感染率0.018%)、Artemether/Lumefantrineを開始したところ速やかに解熱した。**【症例2】** 生来健康な27歳インド人男性、入院17日前にインドのムンバイを立ち翌日来日し、日本と中国を往復する船舶の船員の仕事を開始した。入院10日前に発熱ありアセトアミノフェンの内服で改善していたが、入院3日前より再び発熱あり船医よりセフトリアキソンが投与されたが改善なく、精査加療目的に当科入院となった。船医にて施行されたマラリア迅速検査は熱帯熱マラリアが陽性という情報があったが、当科で繰り返し行ったマラリア迅速検査はいずれも陰性であった。末梢血のスミアで三日熱マラリアと思われる栄養体を認め (感染率0.14%)、全血のPCR検査で三日熱マラリアと確定した。Artemether/Lumefantrineを開始したところ速やかに解熱した。**【考察】** マラリア迅速検査の感度は顕微鏡検査と比較して高いとされているが、非熱帯熱マラリアでは熱帯熱マラリアと比べて感度が低いとされている。マラリア高蔓延国からの帰国後の発熱では、例え迅速検査が陰性でもマラリアの可能性を除外できない。本2症例ではいずれも迅速検査で陰性であったため確定診断に苦慮したが、最終的にPCRを行うことで診断に至ることが出来た。

## P-96 Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* による壊死性筋膜炎

植山 徹<sup>1,2)</sup>、鶴田 啓亮<sup>2)</sup>、KAYALI Ahmad Yaman<sup>1)</sup>、Thongchankeaw Uraiwan<sup>1)</sup>、荒川 英二<sup>3)</sup>、  
西瀨 光昭<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>京都大学東南アジア地域研究研究所 グローバル生存基盤研究部門、

<sup>2)</sup>南奈良総合医療センター 救急科、<sup>3)</sup>国立感染症研究所 細菌第一部

壊死性筋膜炎は浅層筋膜を感染部位として急速に壊死が拡大する軟部組織感染症であり、DIC、敗血症を合併し予後不良な疾患である。起炎菌としてA群・G群溶血性連鎖球菌、*Vibrio vulnificus* などが報告されている。今回我々はNon-O1, non-O139 *Vibrio cholerae*が起炎菌と考えられる症例を経験したため、臨床経過や遺伝子解析を含めて検討を行った。

症例は58歳女性、台湾旅行で全身マッサージを受けた。滞在中に海水・淡水への暴露なし、外傷無し、海産物摂取無し、加熱調理したもののみ摂取。マッサージを受けた翌日帰国し、帰国2日目に左下腿疼痛出現。疼痛増悪のため帰国5日目に当院へ救急搬送され入院となった。入院当日に血液培養からGNR検出され、LRINECスコア5点。翌日にLRINECスコア9点へ悪化を認め、壊死性筋膜炎と判断し緊急減張切開とデブリードマン施行。

敗血症性ショックとDIC合併したため手術後にはPMX、CHDF施行。入院6日目に創部と血液培養からの菌がNon-O1,non-O139 *Vibrio cholerae*と判明した。

患者は抗癌剤治療中であり易感染状態であるが、感染源への暴露は考えにくい状態であった。起炎菌について精査行ったところ、血清型はO2、抗生物質への耐性は認めず、PCRではctxAとtcpAはともに陰性であり、toxR、rtx、hlyAは陽性であった。生化学的検査では高度なゼラチン分解能を示した。今回得られた結果と文献的考察を加えて感染経路と臨床経過の考察を行いたい。





# ワークショップ

## Workshop

**November 10 (Sat) 15:35 – 16:55**

Workshop 1 :

グローバルヘルス総合研究棟1階  
大セミナー室

**Global Health General Research**

**Building 1F**

**Main seminar room**

Workshop 2 :

記念講堂

**Commemoration Hall**



## ●ワークショップ1 (第13回臨床熱帯感染症セミナー)

### W1-01 全身性強直間代性けいれんと高ビリルビン血症・急性腎不全を生じたタイ在住の34歳

早野 聡史  
亀田総合病院 感染症科

**【症例】** タイ北東部(Khon Kaen)に在住しているタイ人の34歳男性

**【主訴】** けいれん

**【現病歴】** 来院7日前に軽度の倦怠感・食欲低下が生じ、やや顔色が黄色になっていることに気づいたが無症状のために経過観察していた。来院5日前に軽度の腹痛・両腕の疼痛を認め、徐々に尿量が低下していた。来院当日、全身性強直性間代性けいれんが生じ、救急搬送となり、けいれんが頓挫した後も意識障害を認めたため、気管挿管され、入院となった。

**【既往歴】** なし **【服薬歴】** 定期内服なし **【生活歴】** 喫煙:なし, 飲酒:あり, 職業: 米農家

**【入院時現症】**

バイタルサイン: BT36.8℃, B109/54mmHg, HR124回/min, RR22回/min, SpO2 99%(FiO2: 0.21)

意識レベルGCS: E2VTM5

身体所見: 眼瞼結膜蒼白, 眼球結膜黄染(+), 結膜出血(+), 対光反射両側迅速3mm/3mm, 瞳孔不同(-), 眼球運動障害(-), 両側甲状腺腫大(-), 項部硬直(-), Kernig徴候(-), 呼吸音:清, 左右差(-), 心音:整, 心雑音(-), 腹部:平坦・軟, 圧痛(-), 肝脾腫(-), 下腿浮腫(-), 関節腫脹(-), 皮疹(-)

**【入院時血液検査】**

血液所見: WBC 23,500/ $\mu$ L Hb 6.9g/dL Plt  $7.5 \times 10^4$ / $\mu$ L MCV 83fL, Hct 18.7%, Alb 2.7g/dL, T-Bil 14mg/dL, T-Bil 12.9mg/dL, AST 50U/L, ALT 71U/L, ALP 300U/L, Na 134mEq/L, K 4.4mEq/l, Cl 87mEq/l, BUN 197 mg/dL, Cr 13.03mg/dL, CPK 3083U/L, PT-INR 1.26, HCO<sub>3</sub> 8.4 mmol/L, lactate 1.9 mg/dL

**【入院時尿検査】**

色調 赤, pH 5.0, 白血球30-50 /HPF, 潜血50-100 /HPF, 蛋白(3+), 糖(-), 亜硝酸塩(-), ケトン(2+)

**【画像検査】**

胸部XP: 浸潤影なし, 胸水なし, 心拡大なし

腹部エコー: 肝内LDAなし, 肝臓肝内胆管拡張なし, 胆嚢腫大なし,

総胆管拡張なし, 脾臓内にLDAあり, 両側水腎症なし, 腹腔内リンパ節腫脹なし

頭部CT: 異常所見なし

### W1-02 精神症状を主訴に受診した熱帯熱マラリア治療後の25歳男性

加勢田 富士子<sup>1)2)</sup>、松本 佑慈<sup>1)</sup>、高山 耕治<sup>1)</sup>、豊田 一弘<sup>1)</sup>、小川 栄一<sup>1)</sup>、村田 昌之<sup>1)</sup>、  
古庄 憲浩<sup>1)</sup>、林 純<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>九州大学病院 総合診療科、<sup>2)</sup>原土井病院 総合診療科

**【症例】** 25歳、男性

**【主訴】** 興奮、錯乱状態<BR> **【現病歴】** X年9月24日よりガーナに研究のため渡航。11月24日に高熱、頭痛あり、ガーナにて熱帯熱マラリアと診断され入院。アーテスネート経静脈投与後、アーテメター /ルメファントリンを内服し、末梢血塗抹陰性を確認され、11月30日に退院。12月3日に帰国し問題なく経過していたが、12月12日

頃より支離滅裂な発言を認めるようになり、15日には興奮状態となり、当院紹介受診。

**【入院時現症】** 見当識障害なし。多弁で落ち着きなく、思考混乱が顕著。独語、性的発言、脱抑制あり。発熱なし。神経学的所見異常なし。

**【検査結果】** 検尿異常なし。WBC 7800/ $\mu$ L、Hb 14.9g/dL、Plt 33.4万/ $\mu$ L、CRP 0.06mg/dL。肝障害なし。末梢血塗抹ギムザ染色原虫陰性。髄液検査異常なし。頭部造影MRI異常なし。脳波は後方優位に徐波出現。

**【経過】** 診断及びその後の治療経過の詳細に関しては、学会当日に提示する。

## W1-03 好酸球増多、一過性の肺結節、肝SOLが見られたシンガポール在住、腎移植後の28歳

佐原 利典<sup>1)</sup>、田宮 彩<sup>1)</sup>、中村 ふくみ<sup>1)</sup>、大西 健児<sup>1)</sup>、五十嵐 悠一<sup>2)</sup>、溝渕 莉恵<sup>3)</sup>

吉田 敦<sup>4)</sup>、井口 成一<sup>4)</sup>、菊池 賢<sup>4)</sup>、丸山 治彦<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>東京都保健医療公社 荏原病院 感染症内科、<sup>2)</sup>東京女子医科大学 消化器病センター、

<sup>3)</sup>東京女子医科大学 呼吸器内科、<sup>4)</sup>東京女子医科大学 感染症科、

<sup>5)</sup>宮崎大学 感染症学講座寄生虫学分野

**【症例】** 28歳 女性 **【主訴】** 右季肋部痛 **【既往歴】** 腎移植後 (HUS)

**【現病歴】** 201X-1年からシンガポール在住

201X年12月、下痢、微熱が続くためかかりつけである大学病院を受診。好酸球増多と肺結節影 (右上葉)、肝SOLを指摘された。肺内結節の精査目的に翌年1月に同病院で入院となる。画像では肺結節影は消褪傾向であった。抗寄生虫抗体スクリーニング検査で糞線虫class Iの判定であり、糞便検査が複数回施行されたが幼虫や虫卵は検出されなかった。また肺吸虫、トキソカラに対する抗体は陰性であった。肝SOLの精査として肝生検が施行されたが肝組織が含まれず診断困難、生検組織の病原体ゲノム解析では病原体ゲノムが検出されなかった。2月上旬、今後の診断について当院へコンサルトがあった。

### **【食歴】**

201X年8月 旅行先のオーストラリアでユッケ

野菜サラダ、無農薬のネギは摂取歴あり

レバー、淡水産のカニ、イノシシ・シカ肉の摂取なし

**【検査所見】** X+1年1月末：WBC 7270, Eo 17.2% (1250/ $\mu$ L), AST 22, ALT 29, LDH 150, ALP 283, CRP 1.7

12月胸腹部CT: 右上葉(S2)結節影、肝SOL(S5,6,7,8)

X+1年1月胸腹部CT: 肺内結節影は消退、肝SOL変化なし

腹部MRI：肝内に蛇行し連続した管状構造

本症例でどのような疾患が鑑別に挙がり、どのように診断していくかをワークショップでdiscussionしたい。

## ●ワークショップ2（第5回熱帯医学男女共同参画ワークショップ）

### タイトル

「グローバルヘルス：日本の女性・若手が世界で活躍するために II」  
サイエンスを国際医療支援へ

### オーガナイザー

平林 史子（DNDi Japan 理事）

小林 富美恵（麻布大学 客員教授）

### 要 旨

平成30年度版 内閣府男女共同参画白書によると、オリンピック日本選手団に占める女子選手の割合は、夏季大会では、2008年北京大会49.9%、2012年ロンドン大会53.2%、2016年リオ大会48.5%と約半数で推移しており、冬季大会では、2014年ソチ大会で5割を超え、2018年平昌大会で58.1%と過去最高となっています。最近では全米オープンテニス女子シングルスで優勝した大坂なおみ選手や、第18回アジア競技大会での池江璃花子選手の輝かしい活躍が記憶に新しいところです。

一方、研究分野・科学技術分野についてみると、日本の研究者に占める女性の割合は、2017年3月31日現在で15.7%にとどまっています。所属機関別に比較すると、企業・非営利団体、公的機関及び大学等のいずれにおいても女性の割合が低く、特に企業・非営利団体で低い（9.2%）という結果です。「大学及び公的研究機関における女性研究者の採用割合を自然科学系全体で平成28年(2016年)までに30%にする」ことが「科学技術イノベーション総合戦略2014」に盛り込まれましたが、2017年度版では自然科学系の博士課程学生や研究者全体に占める女性の割合は主要国と比較すると未だ低く、理学や工学における女性研究者の新規採用割合も低い水準にあるとされています。また、リーダーシップを発揮できる地位や組織の意思決定の場に参画している女性研究者がまだ少なく、女性が十分な活躍の機会を得られるようにすることが課題となっています。

一般社団法人日本熱帯医学会では、我が国のこうした状況に鑑み、会員における男女共同参画に関する意識の醸成と女性研究者の活躍推進支援を目的として、2014年度に男女共同参画推進委員会を設置し、毎年の熱帯医学会大会における企画シンポジウムの開催と男女共同参画学協会連絡会での情報発信を行っています。これまでの本大会での企画シンポジウムは、第1回（2014）「女性研究者/若手研究者のキャリアパス形成」、第2回（2015）「熱帯医学研究における女と男」、第3回（2016）「男女共同参画：世界のビジョン、熱帯医学会のビジョン」、第4回（2017）はグローバルヘルス合同大会の企画シンポジウム「グローバルヘルス：日本の女性・若手が世界で活躍するために」として、女性研究者の活躍・キャリアパス形成において学会は何が出来るか、熱帯医学研究における女性の役割とは何か、女性が、若手が、世界に進出して活躍するには何が必要とされるか、などについて議論を深めてきました。そして第5回となる本年は、引き続き将来を担う若い研究者に焦点を当ててワークショップを開催し、異なる文化・背景からの経験を共有、意見交換をしていただきたいと思います。まず、国境なき医師団（MSF）よりDr. Su Myat Hanをお迎えして「多剤耐性結核治療の医療現場での経験と国際的視点からの課題」についてお話を頂くこととしました。女性研究者のrole modelとしての彼女の存在に期待したいところです。また講演の後、日本で熱帯医学研究に携わる女性研究者たちをパネリストとして、あらためて女性研究者の意識、直面する問題、フィールドでの研究、日本の研究環境などに対するリクエストや提案などについて、率直な討論をしていただき、参加学会理事他のコメンテーターを交えて、会場の皆さんと共に今回のテーマに関しディスカッションを深めていく予定です。（本ワークショップは「男女共同参画学協会連絡会」が後援するシンポジウムです。多くの会員の皆様をご参加下さい。）



## **W2-01 How can we end TB in SDG era?**

Su Myat Han

Interim head of South East and East Asia Pacific for Access Campaign Medecins Sans Frontieres (MSF)

Tuberculosis (TB) is one of the world's biggest global health crises. Even the high- and upper-middle income countries also been failing to end the tuberculosis epidemic. The burden of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) is much higher than previously estimated. Many factors contribute to high levels of drug resistance. The low proportion of people who need MDR-TB treatment that are successfully diagnosed and treated. Delayed diagnosis and misdiagnosis lead to low treatment outcome. For those MDR-TB patients successfully diagnosed, treatment remains complex, onerous, expensive and, in some countries, unavailable to treat all patients in need. Current treatment for MDR-TB last for two years including painful daily injections for about eight months and ingest up to 14,000 pills.

The success rate of the MDR-TB treatment is very low (only 54% succeed). The current price for a 24-month course of conventional treatment ranges from US\$2,000 to US\$20,000. The costliness, difficulty and length of current treatments make them hard to implement in many high-burden countries. First time in almost 50 years, newer drugs namely Bedaquiline and Delamanid can help increase cure rates and reduce mortality. However, it is estimated that less than 5% of people have access to newer drugs to treat MDR-TB. Currently several trials on the use of shortened MDR-TB treatment regime (9 months duration) and use of the newer drugs (Bedaquiline and Delaminid) are investigating (e.g. MSF is involved in two clinical trials - EndTB and TB PRACTECAL - seeking optimal treatment regimens for MDR-TB using the newer drugs). Most importantly, tuberculosis is finally getting on the agenda of head of states. In 2017, 75 ministers agreed to take urgent action to end TB by 2030 during WHO Global Ministerial Conference in Moscow, Russia and UNHLM on TB in September 2018.

# 著者索引 Author Index

K	： 基調講演	Keynote lecture
S	： シンポジウム	Symposium
PL	： 学会賞受賞講演	Awardees' lectures
P	： 一般演題（ポスター）	Poster presentation
W	： ワークショップ	Workshop



## 【あ】

青木 克己	P-62
赤畑 渉	S6-03
浅川 満彦	P-22
麻田 正仁	P-42, P-95
新井 明治	P-43
新井 礼子	P-90
荒川 英二	P-96
有川 二郎	P-23, P-83
有馬 弘晃	P-66, P-67
有吉 紅也	S5-01, PL-01, P-95
安藤 豪	P-21, P-24

## 【い】

五十嵐 郁男	P-54, P-56
五十嵐 悠一	W1-03
井口 成一	W1-03
池田 董	P-90
生駒 栄司	S1-03
石塚 爽香	P-90
泉田 真生	P-95
何森 健	P-43
五十棲 理恵	P-71
一瀬 休生	P-82
一盛 和世	P-87
稲岡 健 ダニエル	P-59, P-64
井上 真吾	P-16, P-21 P-24
井上 昇	S3-01, P-55
井上 弘樹	S7-03
伊波 英克	P-85
今里 祐平	P-82
今西 望	P-92
石上 盛敏	P-44, P-69
岩崎 もにか	P-73
岩下 華子	P-32, P-58

## 【う】

植山 徹	P-96
内田 玲麻	P-10, P-22
浦田 秀造	S4-03

## 【え】

江島 伸興	P-85
-------	------

江尻 寛子	P-94
江藤 浩之	P-41

## 【お】

オオタケ サトウ マルセロ	P-84
大津 聡子	P-77
大西 健児	W1-03
大平 亘	S1-04
大吉 慶	P-68, P-69
岡 靖哲	P-74
岡田 稔	P-41
小川 栄一	W1-02
奥山 弘幸	P-93
押谷 仁	P-79
小柳 愛佳	P-90

## 【か】

貝森 峻	P-20
垣野 あずみ	P-51
加來 浩器	P-94
笠井 俊二	P-49
風間 真	P-57
加勢田 富士子	W1-02
片貝 佑子	P-39
片倉 賢	P-42
金内 理	P-01
金山 敦宏	P-94
金子 明	P-46
金子 修	PL-02, P-41, P-42 P-57, P-95
金子 聡	S1-04, P-76, P-87
狩野 繁之	P-44, P-69
鎌田 一宏	P-29
神垣 太郎	P-79
川合 覚	P-39, P-84
川田 均	P-71
神田 眞男	P-52
菅野 恵也	P-35

## 【き】

木岡 ともみ	P-95
菊池 賢	W1-03
菊池 三穂子	P-53, P-91

北 潔	P-38, P-59 P-64
城戸 康年	P-73
君付 和範	P-20
金 恵淑	PL-03
桐木 雅史	P-84

## 【く】

久保 健児	P-77
久米 愛子	P-49

## 【こ】

小泉 信夫	P-88
小出 容平	P-95
小林 謙一郎	P-77
小林 正規	P-51, P-52
小林 睦生	P-93
駒形 修	P-93
古宮 伸洋	P-77
米納 孝	P-20
小安 重夫	P-53
小山 玄紀	P-52
是永 正隆	P-61

## 【さ】

齋藤 明彦	P-29
齋藤 玲子	P-28, P-29
坂井 紀公子	P-86
坂口 美亜子	P-21
坂本 穰	P-60
佐倉 孝哉	P-65
佐々木 善信	P-68, P-69
佐藤 恵春	P-38
サトウ 恵	P-84, P-90
佐藤 行人	P-33
真井 優	P-88
佐原 利典	W1-03
沢辺 京子	P-93

## 【し】

志波 智生	P-64
柴崎 亮介	S1-04
渋谷 美貴	P-10
清水 健太	P-23

## 【す】

菅沼 啓輔	P-42
菅又 美穂	P-01
杉本 千尋	S3-01
鈴木 弘章	P-01
鈴木 宏志	P-49
鈴木 定彦	S3-01
砂原 俊彦	P-16, P-19 P-89, P-92

## 【せ】

千馬 正敬	P-53
-------	------

## 【そ】

園田 憲悟	S6-04
-------	-------

## 【た】

多賀 優	S1-04, P-87
高田 礼人	S2-01
高田 律美	P-74
高橋 健介	P-95
高山 耕治	W1-02
田栗 利紹	P-19, P-26
竹田 美香	P-41, P-42 P-95
竹村 太地郎	P-06, P-32 P-34, P-58 P-88
橘 裕司	P-51
田殿 武雄	P-68, P-69
田中 健Q	P-43
玉記 雷太	P-79
溜 宣子	P-70
田宮 彩	W1-03
田村 務	P-90

## 【ち】

千種 雄一	P-39, P-84
-------	------------

## 【つ】

辻 亮平	P-01
津田 祥美	P-23
鶴田 啓亮	P-96

## 【と】

東城 文柄	P-38
時沢 亜佐子	P-58
徳田 雅明	P-43
戸田 有恒	P-22
豊田 一弘	W1-02

## 【な】

中尾 亮	P-42
中岫 奈津子	P-60
中澤 秀介	P-39
長島 渡	P-93
中津 雅美	P-44
中野 政之	P-66, P-67
中村 ふくみ	W1-03
中村 梨沙	P-53
鍋島 武	P-16, P-21 P-81

## 【に】

西園 晃	P-20, P-85
西淵 光昭	P-96

## 【の】

野口 賀津子	P-20
野村 拓志	S6-03

## 【は】

萩原 克郎	P-10
橋本 宗明	S3-02
長谷部 太	P-06, P-18 P-81, P-88
濱野 真二郎	S1-04 P-53, P-91
早野 聡史	W1-01
早坂 大輔	P-21, P-22 P-24
林 純	W1-02
原 史絵	P-91
原田 繁春	P-64

## 【ひ】

比嘉 直美	P-95
-------	------

比嘉 由紀子	P-16, P-19 P-92, P-93
日達 真美	P-76
左 一八	P-13
平井 誠	P-43
平山 和宏	P-88
平山 謙二	S1-04 P-57, P-64
平山 訓子	P-60

## 【ふ】

胡 錦萍	P-91
二見 恭子	P-16, P-19 P-71, P-91
古田 要介	P-20
古庄 憲浩	W2-01

## 【ほ】

星 友矩	P-38
------	------

## 【ま】

前川 芳秀	P-93
前野 芳正	P-39
俣野 哲朗	S6-03
松井 昂介	P-95
松浦 千晶	P-33
松尾 祐一	P-59
松原 圭一	P-74
松本文昭	P-16, P-19 P-26
松本 佑慈	W1-02
松原 圭一	P-74
松本-高橋 エミリー	P-69
丸山 治彦	W1-03

## 【み】

三浦 佳奈	P-16, P-19 P-26
三浦 こずえ	P-88
三木田 馨	P-52
水上 陽誠	P-68, P-69
溝渕 莉恵	W1-03
三井 義則	P-62
皆川 昇	P-71, P-91 P-92



源 利文 P-84  
 宮崎 和雄 P-41  
 宮崎 浩之 S1-04  
 宮本 和子 P-60  
 三好 康広 P-74

【む】

向井 徹 S3-01  
 村岡 優 P-60  
 村田 昌之 W2-01  
 村松 康和 P-10, P-22

【も】

門司 和彦 P-38  
 望月 恒太 P-64  
 森 大輔 P-85  
 森田 公一 S6-03  
 P-06, P-13  
 P-16, P-18  
 P-21, P-22  
 P-24, P-81  
 P-82  
 森保 妙子 S1-04, P-87  
 茂呂 和世 P-53

【や】

矢口 貴志 P-57  
 安田 二郎 S4-01  
 S4-03  
 矢幡 一英 P-41  
 八尋 孝明 P-85  
 山内 繁 P-93  
 山岡 吉生 P-85  
 山下 綾香 P-16, P-19  
 P-26  
 山城 哲 P-32, P-33  
 P-34, P-58  
 山田 健太郎 P-20  
 山中 拓也 P-78  
 山梨 啓友 P-95  
 山本 太郎 P-66, P-67  
 山本 直樹 P-01  
 山本 典生 P-01

【よ】

横山 直明 P-54, P-55  
 P-56  
 吉川 亮 P-16, P-19  
 吉田 敦 W1-03  
 吉田 菜穂子 P-51  
 吉田 レイミント S6-02  
 吉松 組子 P-23, P-83

【わ】

和田 昭裕 P-10  
 渡辺 幸三 S3-02  
 渡部 久実 P-06, P-18

【A】

Ahmed Kamruddin P-17, P-25  
 P-38, P-85  
 Alcides Pissinatti P-40  
 Amit Lia Natasha P-25  
 Ana Carolina Faria da Silva Santelli  
 P-40  
 Ando Tsuyoshi P-14  
 André Luiz Lisboa Areas P-40  
 Andre Machado Siqueira P-40  
 Angeles Jose Ma S3-03  
 Anh Son Dao P-58  
 Anielle de Pina-Costa P-40  
 Ansari Hifzur R P-65  
 Anthony D Luz Mark P-81  
 Ariyoshi Koya P-30, P-31  
 Asada Masahito P-37  
 Asare Kwame Kumi P-37  
 Asik Surya P-48  
 Aung Kyaw Kyaw P-21  
 Aung Min Soe P-02  
 Awuor Beatrice P-70

【B】

Balogun Emmanuel P-64  
 Barroso Paola Andrea P-61  
 Basu Dev Pandey P-09  
 Basuki Sukmawati P-48  
 Batiha Gaber P-45, P-56  
 Battsetseg Badgar P-55  
 Battur Banzragch P-55

Bawm Saw P-42  
 Beatrice Awuor P-71  
 Behera Swadhin S1-01  
 Beshbishy Amany P-56  
 Bhakta Raya Ganendra P-31  
 Binti Sabri Shahnaz Irwan  
 P-17  
 Binti Shaharom Saliz Mazrina  
 P-17  
 Brey Paul P-44  
 Bringaud Frederic P-64  
 BT Slingsby K-01  
 Budi Armika P-48  
 Budiono P-48  
 Buerano Corazon P-03, P-21  
 P-81  
 Bui Minh-Trang P-18  
 Bui Thu Thuy P-04, P-81  
 Bundi Martin P-82

【C】

Cajal Pamela P-61  
 Cassio Leonel Peterka P-40  
 Cepkirui Francesca P-76  
 Cesare Bianco Júnior P-40  
 Chaiworakul Suchart P-42  
 Channumsin Manun P-42  
 Chigusa Yuichi S3-03  
 Chin Zefong Abraham P-25  
 Chua Paul P-72  
 Cimino Ruben Oscar P-61  
 Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro  
 P-40  
 Clyde Dapat P-79  
 Cox Sharon S5-01  
 P-78, P-80  
 Cristiana Ferreira Alves de Brito  
 P-40  
 Culleton Richard P-40, P-46

【D】

Dahanayake Madushani P-83  
 Dang Duc Anh P-15  
 Danh Trinh Minh Anh S3-03  
 Dao Huy Manh P-04, P-07  
 P-08  
 David Kareko S1-02

Dejan Zurovac	S1-02
Deloer Sharmina	P-53
Dembele Bindongo	P-79
Denise Anete Madureira de Alvarenga	P-40
Dhoubhadel Bhim Gopal	P-30, P-31
Do Phuong-Loan	P-18
Doan Hang	P-58
Dony Jiloris Julian Frederick	P-25
Doan Hang	P-58
Dorotan MM	P-72
Dumre Shyam Prakash	P-04, P-07 P-08

## 【E】

Edith Tria	P-03
Elizabeth Ajema Chebichi Luvai	P-15
Elsayed Hend	P-80
Emran Nor Amalina	P-25
Ernest Medard	P-46
Espinola Emilio	P-63
Estanislao D	P-72
Ezugbo-nwobi Ifeoma	P-46

## 【F】

Ferdous Farzana	P-75
Filipe Vieira Santos de Abreu	P-40
Filipinas Natividad	P-03
Fitriah	P-48
Fukuda Michiko	P-50

## 【G】

Gamage Chandika	P-23, P-83
Gantuya Sambuu	P-45
George Sonye	P-71
Giloi Nelbon	P-38
Gitaka Jesse	P-42
Goodfellow Ian	S3-04
Goto Yasuyuki	S3-03
Graziela Maria Zanini	P-40
Gunarathne Lishanta	P-23, P-83

## 【H】

Hakimi Hassan	P-42
Hang Pham Thi Thu	P-04, P-12
Hartuti Endah Dwi	P-47
Hasebe Futoshi	P-02, P-03
	P-04, P-05
	P-11, P-12
Hashimoto Muneaki	P-70
Hashizume Masahiro	S1-01
Hau Vu T Bich	P-12
Hayasaka Daisuke	P-14
Hermano Gomes Albuquerque	P-40
Hermawan Idam	P-33
Hirayama Kenji	P-04, P-07 P-08, P-50
	P-63
Hlaing Myat Thu	P-02
Hoang Vu Mai Phuong	P-06
Hongvanthong Bouasy	P-44
Horii Toshihiro	S2-03
Houghton Raymond	S3-03
Hoyos Carlos Lorenzo	P-61
Htay Htay Tin	P-28, P-29
Htun Lat Lat	P-42
Hwai Tan Bee	P-25

## 【I】

Ibrahim Abdalla Mohamed	P-42
Ibrahim Mohd Yusof	P-25
Igarashi Ikuo	P-45
Iha Hidekatsu	P-17
Ikeda Takayoshi	S1-01
Inaoka Daniel Ken	P-47
Inoue Shingo	P-02, P-03 P-12, P-14
Irina Chon	P-28
Ismail Ahmed Ali	P-42
Isozumi Rie	P-48

## 【J】

James Kongere	P-71
Jeffree Saffree Mohammad	P-25, P-38 P-85

Jinping Hu	P-71
Jongwutiwes Somchai	P-51
Jung Junho	S7-02

## 【K】

Kaewlamun Winai	P-42
Kaewthamasorn Morakot	P-42
Kamel Mohamed Gomaa	P-08
Kaneko Osamu	P-37
Karbwang Juntra	P-07
Kasmiyati	P-48
Katakai Yuko	P-37
Kataoka Masatoshi	P-70
Katepongpun Wichit	P-42
Kato Kentaro	P-30
Kaushik Abhinav	P-65
Kawai Satoru	P-37
Kawazu Shin-ichiro	S3-03
KAYALI Ahmad Yaman	P-96
Kemp Alan	S4-04
Keomalaphet Sengdeuane	P-44
	P-44
Khattignavong Phonepadith	P-44
Khin Nyo Thein	P-29
Kim OckJoo	S7-02
Kirinoki Masahi	S3-03
Kishor Pandey	P-09
Kita Kiyoshi	P-47
Kitamura Noriko	P-15
Koirala Sweta	P-66, P-67
Komatsuya Keisuke	P-47
Kongere James	P-70
Kruger Philip	S1-01
Kugan Omar Kwang	P-38, P-85
Keomalaphet Sengdeuane	P-30
	P-30
Kyaw Zin Thant	P-02, P-21

## 【L】

Lady Anne Pangilinan	P-03
Laghu Ujjwal	P-31
Langsley Gordon	P-65
Larissa Kolesnikova	P-27
Lasham Di Ja	P-28, P-29
Latt Latt Kyaw	P-28

- |                         |            |                           |            |                        |             |
|-------------------------|------------|---------------------------|------------|------------------------|-------------|
| Laurence Yoko           | P-78       | Mizukami Shusaku          | P-04, P-07 | Nguyen Co Thach        | P-06, P-11  |
| Lauthier Juan Jose      | P-61       |                           | P-08, P-50 |                        | P-12        |
| Le Thi Quynh Mai        | P-04, P-05 |                           | P-63       | Nguyen Dong Tu         | P-36        |
|                         | P-06, P-11 | Mizuta Satoshi            | P-50       | Nguyen Le Khanh Hang   |             |
| Leaslie John Jecelyn    | P-17       | Mo Mo Win                 | P-02       |                        | P-06, P-88  |
| Leonardo Lydia          | S3-03      | Mochizuki Kota            | P-63       | Nguyen Linh Ngoc       | P-04        |
| Leyritana Katerina      | P-80       | Moendeg Kharleezelle      | S3-03      | Nguyen Thi Ngoc Phuong |             |
| Lokupathirage Sithumini |            | Moi Meng Ling             | S6-03,     |                        | P-08        |
|                         | P-23, P-83 |                           | P-02, P-03 | Nguyen Co Thach        | P-04, P-05  |
| Lorphachan Lavy         | P-44       |                           | P-04, P-05 |                        | P-06, P-08  |
| Lucky Amuza Byaruhanga  |            |                           | P-06, P-11 |                        | P-12        |
|                         | P-37       |                           | P-12, P-15 | Nguyen Tien Huy        | P-07, P-08  |
| Lynda Rossyanti         | P-48       | Morales Vargas Ronald     | P-10       |                        | P-50, P-63  |
| Leonardo Lydia          | S1-02      | Mori Daisuke              | P-17, P-25 | Nguyen Trang Thu       | P-04        |
|                         |            | Morioka Yushi             | S1-01      | Nguyen Tuan Hai        | P-32, P-34  |
|                         |            | Morita Kouichi            | S1-02,     | Nguyen Tuyen Quang     | P-39        |
|                         |            |                           | P-02, P-03 | Nguyen Weiss Lan       | P-08        |
|                         |            |                           | P-04, P-05 | Ngwe Tun Mya Myat      | S6-03, P-02 |
|                         |            |                           | P-07, P-09 |                        | P-05, P-09  |
|                         |            |                           | P-11, P-12 |                        | P-13, P-14  |
|                         |            |                           | P-14, P-15 |                        | P-15, P-17  |
|                         |            |                           | P-17       |                        | P-21, P-22  |
|                         |            |                           | P-36       |                        | P-24, P-81  |
|                         |            | Morita Masatomo           | P-15       | Nishimura Yasuharu     | P-07        |
|                         |            | Moriuchi Hiroyuki         | P-15       | Noda Takeshi           | P-27        |
|                         |            | Moriuchi Masako           | P-15       | Nugraha Arifin         | P-45        |
|                         |            | Morra Mostafa Ebraheem    |            | Nyandieka Lilian       | P-76        |
|                         |            |                           | P-08       |                        |             |
|                         |            | Mosaddeque Farhana        | P-50       |                        |             |
|                         |            | Mosiun Andau Konodan      | P-25       |                        |             |
|                         |            | Mossaad Ehab              | P-42       |                        |             |
|                         |            | Muhammad Habibi           | P-48       |                        |             |
|                         |            | Muhydeen Abdurraheem      | P-46       |                        |             |
|                         |            | Mulholland Kim            | S6-01      |                        |             |
|                         |            | Murase Kazunori           | P-36       |                        |             |
|                         |            | Murata Kazuyoshi          | P-37       |                        |             |
|                         |            | Mureithi Dominic K.       | P-42       |                        |             |
|                         |            | Muthusinghe Devinda       | P-23, P-83 |                        |             |
|                         |            | Mwatasa Changoma          | P-76       |                        |             |
|                         |            | Myagmarsuren Punsantsogvo |            |                        |             |
|                         |            |                           | P-55       |                        |             |
- 
- |                                  |             |  |  |  |  |
|----------------------------------|-------------|--|--|--|--|
| <b>【M】</b>                       |             |  |  |  |  |
| Mabunda Qavanisi                 | S1-01       |  |  |  |  |
| Maharaj Rajendra                 | S1-01       |  |  |  |  |
| Mandira Adhikari                 | P-09        |  |  |  |  |
| Mapua Cynthia                    | P-03        |  |  |  |  |
| Marcelo Pelajo-Machado           | P-40        |  |  |  |  |
| Marco Jorge Diego                | P-61        |  |  |  |  |
| Margueron Raphael                | P-65        |  |  |  |  |
| Maria de Fátima Ferreira-da-Cruz |             |  |  |  |  |
|                                  | P-40        |  |  |  |  |
| Maria Luisa Daroy                | P-03        |  |  |  |  |
| Maria Terrese Dimamay            | P-03        |  |  |  |  |
| Maria Terrese Galvez Alonzo      |             |  |  |  |  |
|                                  | P-81        |  |  |  |  |
| Mariano Gustavo Zalis            | P-40        |  |  |  |  |
| Mark Anthony Luz                 | P-03        |  |  |  |  |
| Mark Pierre Dimamay              | P-03        |  |  |  |  |
| Martha Cecilia Suárez Mutis      |             |  |  |  |  |
|                                  | P-40        |  |  |  |  |
| Martinelli Axel                  | P-65        |  |  |  |  |
| Maruyama Fumito                  | P-36        |  |  |  |  |
| Mathias Ronald                   | P-03        |  |  |  |  |
| Matilu Mwau                      | S1-02       |  |  |  |  |
|                                  | S1-04       |  |  |  |  |
| Matsuo Yuichi                    | P-47        |  |  |  |  |
| Mercy Mwanja                     | P-71        |  |  |  |  |
| Merrylin                         | P-48        |  |  |  |  |
| Miller Russell J                 | P-47        |  |  |  |  |
| Minakawa Noboru                  | S1-01, P-70 |  |  |  |  |
| Miyazaki Shinya                  | P-37        |  |  |  |  |
| Miyazaki Yukiko                  | P-47        |  |  |  |  |
| Maruyama Fumito                  | P-36        |  |  |  |  |
| Mathias Ronald                   | P-03        |  |  |  |  |
- 
- |                      |            |  |  |  |  |
|----------------------|------------|--|--|--|--|
| <b>【N】</b>           |            |  |  |  |  |
| Nabeshima Takeshi    |            |  |  |  |  |
|                      | P-02, P-03 |  |  |  |  |
|                      | P-04, P-12 |  |  |  |  |
| Nanayakkara Nishanta | P-23       |  |  |  |  |
| Nay Chi Win          | P-02, P-03 |  |  |  |  |
| Nay Lin              | P-28       |  |  |  |  |
| Nguyen Anh Kieu Thi  | P-05       |  |  |  |  |
- 
- |                       |       |  |  |  |  |
|-----------------------|-------|--|--|--|--|
| <b>【O】</b>            |       |  |  |  |  |
| Oconnor Cara          | P-80  |  |  |  |  |
| Ohnishi Makoto        | P-36  |  |  |  |  |
| Orimadegun Adebola E. | P-46  |  |  |  |  |
| Oshitani Hitoshi      | S2-02 |  |  |  |  |
| Ota Atsushi           | P-36  |  |  |  |  |
| Otake-Sato Marcello   | P-39  |  |  |  |  |
- 
- |                                |            |  |  |  |  |
|--------------------------------|------------|--|--|--|--|
| <b>【P】</b>                     |            |  |  |  |  |
| P Marchand Ron                 | P-39       |  |  |  |  |
| Pain Arnab                     | P-65       |  |  |  |  |
| Pancawati Ariami               | P-48       |  |  |  |  |
| Panthong Jarus                 | P-42       |  |  |  |  |
| Parry Christopher M            | P-30, P-31 |  |  |  |  |
| participants ASANTE-NAGOYA NPO |            |  |  |  |  |
|                                | P-73       |  |  |  |  |
| Patrícia Brasil                | P-40       |  |  |  |  |
| Pattanawong Urassaya           | P-51       |  |  |  |  |
| Paweska Janusz T.              | S4-04      |  |  |  |  |

Pedro Cravo P-40  
 Peter Lutiali P-71  
 Petronella M. Risamasu P-48  
 Pham Do Quyen P-11  
 Pham Ha Chau P-06  
 Pham Hong Quynh Anh P-58  
 Pham Tho Duc P-32  
 Phan Thi-Nga P-18  
 Phu Ly Minh Huong P-06  
 Pokharel Savee P-31  
 Prabandari Erwahyuni E P-47  
 Putaporntip Chaturong P-51

## 【Q】

Quiroga Benjamin P-63

## 【R】

Raekiansyah Muhareva P-07  
 Rafalimanantsoa Armand P-84  
 Rahetilahy Alain Marcel P-84  
 Ramarokoto Charles P-84  
 Raqib Rubhana P-75  
 Rchiad Zineb P-65  
 REGILME Maria Angenica F.  
 P-90  
 Revollo Jimmy P-63  
 Reyes Dindo S3-03  
 Ricardo Lourenço-de-Oliveira  
 P-40  
 Rivera Pilarita S3-03  
 Russomando Graciela P-63  
 Ruybal Paula P-61

## 【S】

Sabri Shanaz Irwani Binti P-85  
 Sah Asok P-31  
 Saimoto Hiroyuki P-47  
 Saito Nobuo P-30  
 Saito Tomoya S4-02  
 Saiwichai Tawee P-42  
 Sakaguchi Miako P-37  
 Salazar M P-72  
 Samson Muuo S1-04  
 San Mya P-29  
 Sandra Kendra Raini P-09, P-14  
 P-15

Sarani Ali P-42  
 Sarathkumara Yomani P-23, P-83  
 SATO OTAKE MARCELLO  
 P-90  
 Saunders Todd P-05  
 Senju Satoru P-07  
 Shah Mohammad P-82  
 Shaharom Saliz Mazrina Binti  
 P-85  
 Shrestha Dhruba P-31  
 Siat Yee Fong Alison P-17  
 Sidnei Silva P-40  
 Sigua J P-72  
 Sivakumar Thillaiampalam  
 P-45, P-54  
 P-55

Smith Chris S5-01  
 Socorro P Lupisan P-79  
 Song Chihong P-37  
 Sonye George P-70  
 Soundala Pheovaly P-44  
 Stephan Becker P-27  
 Su Mon Kyaw Win P-28, P-29  
 Su Myat Han W2-01  
 Suhintam Pusrarawati P-48  
 Sujan Shresta P-02  
 Suzuki Motoi P-30, P-31  
 Sweijd Neville S1-01

## 【T】

Tajeri Shahin P-65  
 Tajima Shigeru P-04  
 Takamatsu Yuki P-27  
 Takegata Mizuki P-15  
 Takemura Taichiro P-04, P-36  
 Takizawa Yu P-36  
 Tanaka Yoshimasa P-50  
 Taniguchi Mayumi P-50  
 Teeveerapunya Surapong  
 P-42  
 Teklemichael Awet P-50  
 Teng Hwa-Jen P-92  
 Theingi Win Myat P-02  
 Thongchankeaw Uraiwan  
 P-96  
 Tiawsirisup Sonthaya P-42  
 Toma Claudia P-33  
 Tsuzuki Ataru S1-01

Tuvshintulga Bumdureen  
 P-45

## 【U】

Uemura Haruki P-48  
 Ung Trang P-88  
 Urena-Tatis Keyla Eliasmar  
 P-62

## 【V】

Van Vuren Petrus Jansen S4-04  
 Vargas Ortiz Roberto P-63  
 Vasquez Velasquez Clara P-63  
 Vassall Anna P-78  
 Veronica Tallo P-79  
 Villacorte Elena S3-03  
 Virak Khieu P-60  
 Voahangy Rasolofo P-84  
 Vu Dinh Thiem P-58  
 Vu Thi Bich Hau P-05, P-11  
 Vu Thi Que Huong P-08  
 Vu Thi Thu Huong P-58

## 【W】

Wagatsuma Yukiko P-75  
 Wang Xinying P-47  
 Wanjihia Violet P-76  
 Wassef Michel P-65  
 Wekesa Norah P-76  
 Widho Aspriyanto P-48  
 Wijesooriya Shashika Lavangi  
 P-12  
 Win Mar Mar P-42

## 【Y】

Yadanar Kyaw P-28  
 Yahata Kazuhide P-37  
 Yamashiro Tetsu P-36  
 Yamauchi Akihito P-30, P-31  
 Yanagawa Manami P-30  
 Yasuda Jiro P-30  
 Yokoyama Naoaki P-45  
 Yoshida LayMyint P-15