

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年4月22日現在

機関番号：11301
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2011～2012
課題番号：23659343
研究課題名（和文） フィリピンにおけるヒトエンテロウイルス C の疫学解析とリスク評価
研究課題名（英文） Epidemiological analysis and risk analysis of enterovirus C in the Philippines
研究代表者
押谷 仁 (OSHITANI HITOSHI)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：80419994

研究成果の概要（和文）：ヒトエンテロウイルス（HEV）は A～D の 4 つの種に分けられている。しかし、このうち HEV-C の実態はよくわかっていない。まずフィリピンで過去 17 年間にわたり麻痺患者の便検体から分離されたウイルスの 790 株中 108 株が HEV-C に分類された。また、この解析を通して検出された Coxsackie A20 が、2001 年に麻痺例から分離されたウイルスの遺伝子の一部を構成していることが明らかになった。さらに河川水からも HEV-C が多く検出された。

研究成果の概要（英文）：Human enteroviruses (HEV) are classified into four species (HEV-A, B, C, and D). Epidemiology of HEV-C is still widely unknown. We typed non-polio enteroviruses, which had been isolated from acute flaccid paralysis cases during 17 years of polio surveillance in the Philippines. As results, 108 strains among a total of 790 non-polio enteroviruses were typed as HEV-C. Also one of HEV-C identified in this study was shown to be closely related to the virus detected in paralysis cases in 2001. Furthermore, HEV-C was detected from river water samples collected in urban and rural areas in the Philippines.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学、健康科学

キーワード：エンテロウイルス、ポリオウイルス、フィリピン

1. 研究開始当初の背景

ヒトエンテロウイルス (Human Enterovirus: HEV) は、かつてはヒトや実験動物での病態などから Poliovirus, Coxsackievirus A, Coxsackievirus B, Echovirus などと分類されていたが、現在はウイルス遺伝子の系統解析から 4 つの Species、すなわち Human Enterovirus A, B, C, D に分類されている。このうち HEV-C にはポリオウイルスが含まれる。エンテロウイルスはヒトの間で最も多く見られるウイルスの 1 つであり、ヒトに感染した場合さまざまな臨床症状を引き起こす。なかでもポリオウイルスは小児麻痺 (Poliomyelitis) の原因ウイルスであり、かつては世界中で多くの子供たちにポリオウイルス感染の後遺症としての麻痺を引き起こしていた。WHO (世界保健機関) が中心となりポリオ根絶計画 (The Global Polio Eradication Initiative) が 1988 年に始まり、世界各地でポリオ根絶のためのワクチン接種が積極的に行われるようになった。この結果、現在ではポリオが常在する国は 4 か国 (アフガニスタン、インド、ナイジェリア、パキスタン) のみとなり、地球上からのポリオ根絶に着実に近づいている。

先進国の多くでは生ワクチンである Oral Polio Vaccine (OPV) にかわって不活化ワクチンが使われるようになってきている、しかし途上国では今も安価で投与が容易な OPV が広く使われている。ポリオ根絶計画の進展とともに問題となってきた課題として circulating vaccine derived poliovirus (cDPV) の問題がある。これは生ワクチンである OPV ワクチン株由来のウイルスが地域で伝播し、そのようなウイルスが麻痺を引き起こすというものである。これまで世界各地で 9 回のそのような流行が確認されているが、その多くはワクチン株である Sabin 株と HEV-C

との Recombination の結果生じたものであることがわかっている (PLoS Pathog. 2009 May;5(5):e1000412)。さらに最近、ポリオウイルスはもともと HEV-C から進化してきたウイルスであることが示され (Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 May 29;104(22):9457-62)、ポリオ根絶に成功した後にポリオウイルスに代わって新たな麻痺を引き起こすようなウイルスが HEV-C から出現するという可能性も指摘されている。しかし、主に熱帯地域に常在していると考えられている HEV-C の実態についてはほとんど解明されていない。

2. 研究の目的

本研究はフィリピンにおいて HEV-C を様々な検体から検出することで、HEV-C の疫学および将来にわたる健康リスクの評価を行おうとするものである。

3. 研究の方法

(1) フィリピンにおいて過去 17 年間に急性弛緩性麻痺 (acute flaccid paralysis: AFP) 患者から分離された non-polio enterovirus (NPEV) の解析を行う。特に、これまで血清型特異的抗血清を用いた中和試験で同定されなかった株については、分子生物学的手法、つまり polymerase chain reaction (PCR) とシーケンスを用いて同定するとともに、それぞれのウイルスのシーケンスの特徴を明らかにする。

(2) メトロマニラ (都市部: Urban) とマニラ郊外のブラカン (農村部: Rural) の河川水から、HEV の検出とその血清型同定および遺伝子の解析を行う。河川水での検索を行う理由としては、①これまでの我々のフィリピンの河川水での検討からフィリピンにおいては河川水であっても高度にエンテロウイルスを含むウイルスに汚染されていることがわかっ

ていること、②便検体は採取する検体数が限られており、下水・河川水の方が地域でのウイルス伝播の状況を把握するのにより適切であると考えられる、という理由による。

4. 研究成果

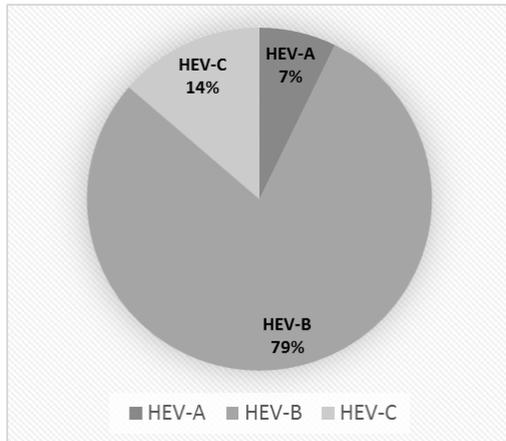


図1：急性弛緩性非患者から検出されたエンテロウイルス

フィリピンにおいて過去 17 年間に急性弛緩性麻痺 (Acute Flaccid Paralysis: AFP) 患者から分離された Non-polio Enterovirus (NPEV) の解析を行った。この結果、17 年間に分離された NPEV の 798 株のうち 108 株 (13.5%) は HEV-C と同定された (図 1)。

熱帯・亜熱帯の地域では HEV-C が高頻度に検出されることが知られているが、アメリカや日本では HEV-C は、ほとんど検出されていない。AFP 検体で高率に HEV-C が検出されたことは、フィリピンにおいても HEV-C が広く伝播している可能性を示しているが、この検索だけでは HEV-C が実際に麻痺を起しているかどうかは不明である。

フィリピンにおいても 2001 年に cVDPV による麻痺例が相次いで報告されたが (J Virol. 2004 Dec;78(24):13512-21)、我々はフィリピンで AFP 患者から分離された Coxsackie A20 (HEV に分類される) が 2000 年に流行した cVDPV の Non-capsid Region の相同性が非常に高いことを見出した。これはフィリピ

ンにおいてもワクチン株と HEV-C が Recombination を起こし、その結果麻痺例が生じたことを意味する。さらに我々はフィリピンのマニラおよびマニラ北部のブラカンの 2 か所の河川水から PCR によるウイルスの検出を試みた。これにより検出されたエンテロウイルスを含む 48 クローン中 33 クローン (68.8%) は HEV-C であった。このことはフィリピンにおいては HEV-C は広くヒトの間で伝播している可能性が高いことを示唆するものであった (図 2)。

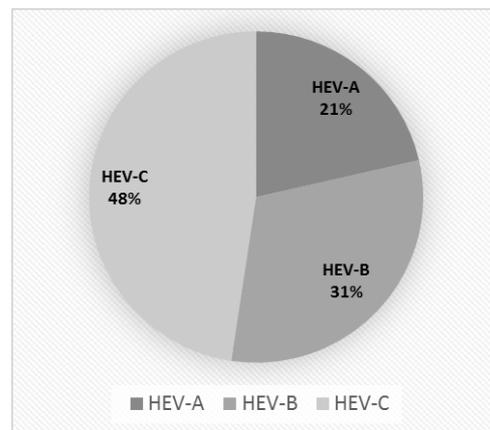


図2：フィリピンの河川水から検出されたエンテロウイルス

これらの結果、フィリピンにおいては多様性に富む HEV-C が広く伝播していることが明らかになった。このことは今後もフィリピンにおいて cVDPV の流行が起こり得ることを示しており、HEV-C についてのさらに詳細な調査が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Apostol LN, Suzuki A, Bautista A, Galang H, Paladin FJ, Fuji N, Lupisan S, Olveda R, Oshitani H. Detection of non-polio enteroviruses from 17 years of

virological surveillance of acute flaccid paralysis in the Philippines. Journal of Medical Virology、査読有、84巻、2012年、624-631、doi:10.1002/jmv.23242.

② Apostol LN, Imagawa T, Suzuki A, Masago Y, Lupisan S, Olveda R, Saito M, Omura T, Oshitani H. Genetic diversity and molecular characterization of enteroviruses from sewage-polluted urban and rural rivers in the Philippines. Virus Genes. 査読有、45巻、2012年 Oct;45(2):207-217.

<http://link.springer.com/article/10.1007/s11262-012-0776-z>

[学会発表] (計3件)

① Apostol LN、Characterization of Coxsackievirus A20 as the donor strain of the recombinant type 1 circulating vaccine-derived polioviruses in the Philippines、15th International Congress on Infectious Diseases、2012年06月12日～2012年06月15日、Bangkok, Thailand

② Apostol LN、Identification of Coxsackievirus A20 as the recombinant counterpart of circulating vaccine derived poliovirus 1 in the Philippines、Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infectious 2012、2012年1月11日、神戸市

③ Apostol LN、Detection of non-polio enteroviruses from 17 years of virological surveillance of acute flaccid paralysis in the Philippines、第65回日本細菌学会東北支部総会、2011年8月19日、山形市

[その他]

ホームページ等

<http://www.virology.med.tohoku.ac.jp/>
http://www.eid.med.tohoku.ac.jp/index_j.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

押谷 仁 (OSHITANI HITOSHI)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：80419994

(2) 研究協力者

Lea Apostol
フィリピン熱帯医学研究所・研究員

齊藤 麻理子 (SAITO MARIKO)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：80404243

山本 大 (YAMAMOTO DAI)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：50530565

今川 稔文 (IMAGAWA TOSHIFUMI)
東北大学・大学院医学系研究科・大学院生

Remigio Olveda
フィリピン熱帯医学研究所・所長