

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2013～2015

課題番号：25305031

研究課題名(和文) 北部ベトナムにおけるコミュニティを基盤とした網羅的下痢症の疫学的研究

研究課題名(英文) A community based study of diarrheal diseases in agricultural village in northern Vietnam

研究代表者

山城 哲 (YAMASHIRO, Tetsu)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授

研究者番号：00244335

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：研究期間中に北部ベトナムナムディン省ヒエンカインコミュニティに在住の300家屋、約1,600人を対象に、細菌、ウイルス、原虫を含む広範な下痢症の起炎微生物の分布状況の把握および下痢症危険因子の解明を試みた。対象住民は1年間に約19%が下痢症を経験する事が示唆された。また、対象家屋において、非下痢性サンプルおよび下痢性サンプルをそれぞれ集積し解析した。その結果、ロタウイルス、アデノウイルス、全てのカテゴリーの下痢原性大腸菌、クロストリジウム、赤痢アメーバが下痢の起炎微生物として重要であることが示唆された。またウシ、ブタ、家禽等家畜の保有とジアルジア等下痢原性原虫感染症との関連が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：A prospective community based diarrheal study was conducted in a typical agricultural area in Nam Dinh province in northern Vietnam in the study period. A 300 out of approx. 2,100 households were randomly chosen, and stool samples and epidemiological data were collected in order to estimate 1) distributions of etiological agents of; and 2) possible risk factors for diarrhea. Approximately 1,200 diarrheal samples were collected and analyzed in the study, and rotavirus, adenovirus, any categories of diarrheagenic Escherichia coli, Clostridium difficile, and Entamoeba histolytica were estimated as significant etiologies of diarrhea including mild to moderate cases in the community. Approximately 20% of the all households raised livestock animals including cows, pigs, and poultry, and of those, cow raising was estimated to be a risk factor for Giardia infections, one of the intestinal protozoa to cause diarrhea, in Hien Khanh commune.

研究分野：下痢症疫学

キーワード：下痢症 疫学 住民基盤 コホート研究 熱帯微生物学 感染症 ベトナム 起炎微生物

1. 研究開始当初の背景

(1) 下痢症は公衆衛生上大きな問題である。病院を基盤とした小児急性下痢症の知見は多いが、それは重症例の解析に偏る傾向があり、軽症～中等症を含む網羅的な下痢症研究は、その起炎微生物分布解析も含めて十分とは言えない。

(2) 近年、ウイルス、細菌、原虫を標的とした広範な下痢症起炎微生物検出法が病院を基盤とした研究で用いられ、詳細な下痢症原因微生物情報を提供しつつある。その手法を用いて、住民基盤の研究拠点を選定し、全年齢層を対象として、軽症、中等症、および重症例を含む下痢症の全体像を詳細な疫学情報と併せて解析する事は重要であると思われる。これらの情報をえるため、北部ベトナムナムディン省の典型的な農村コミュニティを研究基盤として選定し、網羅的な下痢症の疫学的研究を試みた。

2. 研究の目的

下痢症は公衆衛生上大きな社会問題である。世界中で年間約 187 万の 5 歳未満の小児が下痢症で命を落とし同年齢層の全死亡原因のおよそ 19% に相当するとされている。これまで重症のウイルス性下痢症に偏りがちであった下痢症の解析を、軽症、中等症を含み、ウイルス、細菌、原虫を標的とした広範な下痢症起炎微生物検出法にての解析を試みる。それを実現するために、北部ベトナムの典型的な農村(コミュニティ)を選定し、研究期間において前向きに下痢症の疫学研究を実施する。具体的には次の目的を設定する。

- (1) 対象コミュニティにおける住民の非下痢時における下痢原性微生物の分布状況調査。
- (2) 対象コミュニティにおける住民の下痢症起炎微生物分布状況調査。
- (3) 下痢症感染症危険因子の推定。
- (4) 流行を伴う下痢症の疫学情報を得る。

3. 研究の方法

(1) 調査研究実施国・地域：北部ベトナムナムディン省ヒエンカインコミュニティを研究実施地域として選定した。同コミュニティは、約 2,100 家屋、約 8,000 人が登録されており、そのうち下痢症が問題となる、5 才未満の小児を持つ約 300 家屋、約 1,660 人を対象とした。

(2) 研究期間：2014 年 9 月より 2016 年 3 月

(3) 研究体制：長崎大学熱帯医学研究所ベトナム拠点(VRS)、同研究所小児感染症学分野、ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)細菌部、ウイルス部、疫学部の 5 研究室が参加する研究体制で行う。北部ベトナムナムディン市内の一地域より調査対象家庭として約 300 戸(約 1,660 人)を選定し、全ての構成員を対象にした住民基本台帳を作成する。研究補助員が週に 1 回程度各戸を訪問し、下痢症の有無を聞き取り調査する。下痢症がある場合は患者より採便し、同時に関連疫学情報を聴取

する。下痢検体を用いて細菌、ウイルス、原虫を標的とした広範囲にわたる下痢症起炎微生物の検出を試みる。

4. 研究成果

(1) 対象コミュニティにおける非下痢時における下痢原性微生物の分布状況調査

調査研究対象 300 家屋(1,660 人)より、約 100 家屋(471 人)を無作為に抽出し、同意のもとに非下痢性便を提出してもらい、便中の下痢原性微生物の分布状況を調査した。途上国における典型的農村地区住民の非下痢時における下痢原性微生物の基礎データとなると同時に、下痢症時における下痢原性微生物分布に関するデータと比較する事により、より正確な比較ができるものと思われる。その結果、ロタウイルス、ノロウイルス、全てのパソタイプの下痢原性大腸菌(DEC)、クロストリジウム・ディフィシル(CD)、赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウムがそれぞれ、3.5%、5.6%、8.4%、7.6%、0%、1.7%、2.3%であった(表 1)。以上より、北部ベトナム農村地区住民に於いては非下痢状態便においても、これらの下痢原性微生物が、ある一定の割合で存在する事が示唆された。下痢症起炎微生物研究においても、これらの基礎データを考慮する事は重要であるとおもわれた。

(2) 対象コミュニティにおける住民の下痢症起炎微生物分布状況調査

調査対象 300 家屋(1,666 人)を対象に、2014 年 10 月より 2016 年 3 月まで下痢症検体および疫学情報を約 1,200 人分採取し、ウイルス性、細菌性、原虫性の下痢症起炎微生物を対象に疫学情報と併せて解析した。その結果、ロタウイルス、ノロウイルス、全てのパソタイプの下痢原性大腸菌(DEC)、クロストリジウム・ディフィシル(CD)、赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウムがそれぞれ、14.7%、7.4%、15.5%、11.7%、3.6%、1.9%、1.2%であった(表 1)。非下痢時における下痢原性微生物の分布とともに勘案すると、研究対象地区においては下痢症の発症において、ロタウイルス、DEC、CD、赤痢アメーバがより関与する可能性が強く示唆された。

下痢原性微生物	非下痢検体	下痢検体
Rotavirus	17/479 (3.5)	16/109 (14.7)
Norovirus G2	27/479 (5.6)	8/108 (7.6)
AdenoV	15/479 (3.1)	7/101 (7.6)
Any categories of DEC	40/479 (8.4)	186/1198 (15.5)
Shigella spp.	0/479 (0)	0/1183 (0)
Salmonella spp.	5/479 (1.0)	12/1183 (1.0)
Campylobacter spp.	1/479 (0.2)	0/1183 (0)
Aeromonas spp.	0/479 (0)	0/1183 (0)
Vibrio spp.	0/479 (0)	0/1183 (0)
C. difficile (toxigenic)	20/264 (7.6)	14/120 (11.7)
E. histolytica	0/479 (0)	43/1192 (3.6)
Giardia lamblia	8/479 (1.7)	14/734 (1.9)
Cryptosporidium	11/479 (2.3)	9/735 (1.2)

(陽性数/検査数 (%))

表 1 ヒエンカインコミュニティ地区対象住民における下痢起炎微生物の分布状況

(3) 下痢症感染症危険因子の推定。

下痢原性原虫感染症の危険因子の推定を、「(1) 対象コミュニティにおける非下痢時における下痢原性微生物の分布状況調査」の結果を用いて行った。ヒエンカインコミュニティにおいては約20%の家屋がウシ、ブタ、家禽等を飼育しているが、ジアルジア感染症においては、ウシの飼育が危険因子として関与している可能性が統計学的に示唆された(表2)。

	Exp(β)	P
Pig	1.03	0.727
W_Buffalo	-	-
Cow	2.41	0.002
Chicken	0.99	0.778
Duck and Goose	1.00	0.766
Dog	0.63	0.319
Cat	1.29	0.264

表2 ジアルジア感染症と家畜の飼育との関連

一方、クリプトスポリジウム感染においては、貯蔵していた天水を用いて、生野菜を洗浄する行為との関連が強く示唆された。また、ヒエンカイン地区に飼育されているウシ(n=28)から、アエロモナス、ビブリオフルビアリス、志賀毒素産生大腸菌(STEC)がそれぞれ18%、3.6%、14.3%に分離され、ブタ(n=7)からはアエロモナス、病原大腸菌(EPEC)がそれぞれ14%程度に分離された。以上の結果より、ヒト下痢症の危険因子としての家畜の果たす役割が大きい事が示唆された。

(4) 流行を伴う下痢症の疫学情報を得る。

本疫学研究を実施する中で、対象となるヒエンカインコミュニティにおいてサルモネラ感染症の小アウトブレイクが発生した。その解析を試みた。2015年9月より同年11月の期間で同地区において12症例のサルモネラによる下痢症が見られ、血清学的解析の結果、グループBサルモネラ(SGB)が分離された。男女比は1:1.4であり、年齢は5カ月から59才であった。DNAを抽出し、制限酵素による切断後PFGEにて遺伝子的背景を比較すると、2つの電気泳動パターン(clone A、clone B)が認められた(図1)。その後の解析で、clone Aを示した株(3株)は、Salmonella Typhimurium(4,5,12:i:1,2)、clone Bを示した株(9株)は、Salmonella Stanleyである事が判明した。これらの菌の薬剤感受性試験を行ったところ、全ての株はErythromycin、Sulfisoxazoleに対して体制を示した。一方、Norfloxacin、Gentamicin、Nalidixic acid、Ampicillin、Ciprofloxacin、Tetracycline、Meropenemに対しては感受性を示した。また、12株中9株がStreptomycinおよびCefotaximに感受性を示した。

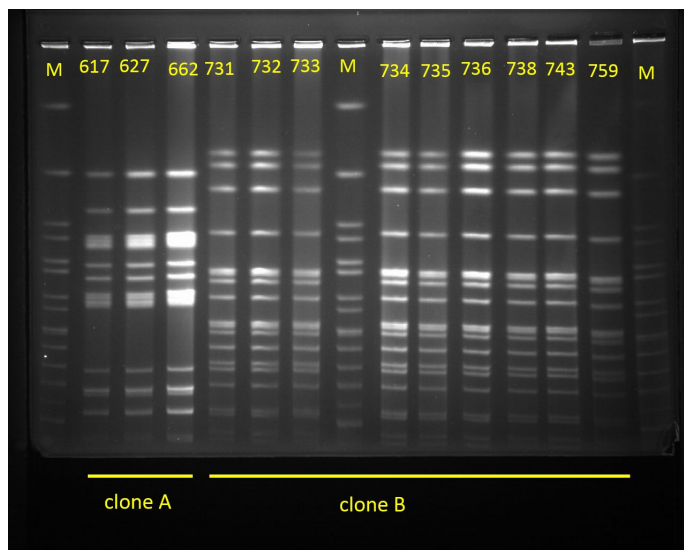


図1 下痢症アウトブレイク時に分離されたサルモネラ菌のPFGE解析像。

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 1 件)

1. Yamashiro T, Tokizawa A, Nguyen BM, Nguyen TPL, Nguyen VT, Vu DT, Takemura T, Vu VC, Do DL, Dang CC. A hospital based study of a broad range of etiologies of childhood diarrhoea in Vietnam. Proceedings of the US-Japan Joint Panel Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections. Bethesda USA. Jan. 12-15. 2016. (査読無し)

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Yamashiro T, Tokizawa A, Nguyen BM, Nguyen TPL, Nguyen VT, Vu DT, Takemura T, Vu VC, Do DL, Dang CC. A hospital based study of a broad range of etiologies of childhood diarrhoea in Vietnam 第56回日本熱帯医学会大会. 2015年12月6日. 大阪大学(大阪府吹田市)
2. Yamashiro T, Tokizawa A, Nguyen BM, Nguyen TPL, Nguyen VT, Vu DT, Takemura T, Vu VC, Do DL, Dang CC. A hospital based study of a broad range of etiologies of childhood diarrhoea in Vietnam. 第49回腸炎ビブリオシンポジウム. 2015年9月15日. 国立医薬品食品衛生研究所(東京都渋谷区)
3. Yamashiro T, Tokizawa A, Nguyen BM, Nguyen TPL, Nguyen VT, Vu DT, Takemura T, Vu VC, Do DL, Dang CC. A hospital based study of a broad range

of etiologies of childhood diarrhoea in Vietnam. 第 68 回日本細菌学会九州支部総会. 2015 年 9 月 4 日. ビーコムセンター (大分県別府市).

4. 山城 哲、時沢 亜佐子、Nguyen BM、Nguyen TPL、Nguyen VT、Vu DT、竹村 太地郎、Vu VC、Do DL、Dang CC. Hospital based study of a broad range of etiologies of childhood diarrhoea in Vietnam. 第 88 回日本細菌学会総会, 2015 年 3 月 28 日. 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)
5. 菅本 鉄広、時沢 亜佐子、八木田 健司、Dao Anh Son、本田 純久、Vu Dinh Thiem、山城 哲: 北部ベトナムナムディン省における農村部住民の下痢原性原虫感染状況と感染に影響を与える要因. 第 33 回日本国際医療学会西日本地方会, 2015 年 2 月 28 日. 純心女子大学 (鹿児島県川内市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山城 哲 (YAMASHIRO, Tetsu)
長崎大学・熱帯医学研究所・教授
研究者番号 : 00244335

(2) 研究分担者

橋爪 真弘 (HASHIZUME, Masahiro)
長崎大学・熱帯医学研究所・教授
研究者番号 : 30448500