

平成30年6月25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：2015～2017

課題番号：15H05286

研究課題名(和文) ロタウイルス感染症の疫学と感染モード解明に関する研究

研究課題名(英文) Epidemiological study on rotavirus diarrhea and a study on the mode of transmission

研究代表者

一瀬 休生 (ICHINOSE, Yoshio)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授

研究者番号：70176296

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,300,000円

研究成果の概要(和文)：ケニアにおけるロタウイルスワクチンの導入に関連して、ワクチンの効果を分析し、ロタウイルス感染症のウイルス株の変化をみるための疫学調査を実施し、ロタウイルス感染症の感染モードの解明を行うのが本研究の目的である。ワクチン導入でロタウイルス感染症はほぼ50%以下に減少し、接種後に出現したロタウイルスのジェノタイプの主体はG2P4であった。ロタウイルスの感染モードの解明については、金属メッシュを用いて捕集した空気検体からロタウイルス粒子をPCR法で検出した結果、6.1%の空気検体からロタウイルス粒子は検出可能であり、食物や飲料水を介した感染経路とさらに空気を介して拡散する感染の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have performed the epidemiological study of rotavirus diarrhea in Kenya in relation to countrywide introduction of a rotavirus vaccine (Rotarix vaccine) as well as the its impact to reduce the infections and the study of mode of transmission of rotavirus particles. Rotavirus vaccine reduced 50% of Rotavirus diarrhea in Kenya and a genotype G2P4 increase as a dominant genotype. We also could identify rotavirus particles out of 6.1% of the air samples collected by a metal mesh device by semi-nested PCR. It is suggested that rotavirus particles can spread via air in addition to the transmission via water and food.

研究分野：細菌学、熱帯医学

キーワード：ロタウイルス ジェノタイプピング ワクチン効果 感染モード ケニア

### 1. 研究開始当初の背景

ロタウイルスは乳幼児胃腸炎の主要な病原体であり、アフリカを中心に年間 50 万人の乳幼児死亡の原因であり、極めて重要な公衆衛生学的課題である。2014 年 7 月からケニアにおいてもロタウイルスワクチンの導入が国家レベルで行われている。しかしその効果や流行ロタウイルス株のジェノタイプについては未だ知られていない。我々はこれまでケニアのロタウイルス感染症の実態解明のために、疫学調査を行い、ロタウイルス流行株の分析を行ってきた。本研究は途上国のロタウイルス感染症の実態解明をさらに深化させると共に、汚染した食物や飲料水からの感染ルート以外の感染モードの可能性を追求するものである。

### 2. 研究の目的

ロタウイルスワクチン導入の効果判定を含め、種々のロタウイルス株の経時的な変化に関する分析を行い、ケニアにおけるロタウイルス感染症実態解明、さらにロタウイルス感染症の感染モード解明に迫るのが目的である。

### 3. 研究の方法

- (1)ロタウイルス感染症に関する疫学調査の実施：ナイロビ近郊のキアンブ地区における小児から下痢検体を採取し、ELISA 法によるロタウイルスの検出やそのジェノタイプを semi-nested PCR などを用いて分析を行う。このように免疫学的、分子生物学的解析から特に下痢症患者の入院例を対象として、ケニアのロタウイルス感染症の実態解明を行う。
- (2)ロタウイルス検出システムの定量性の検討：ロタウイルス標準株を用いて、ロタウイルス段階希釈液によりその定量性の検討を行う。また PCR 検査結果に影響を及ぼすような反応を抑制する検出システムの開発を熱帯医学研究所において実施する。また空気検体を用いた検討は実

験室での分析は困難であり、フィールドで実証する。

- (3)ロタウイルス検出システムの開発と応用可能性の検討：ケニアのナイロビ近郊部のキアンブ地区の 4 地点（繁華街、学校、農村部、住宅地）から空気採取し、さらに河川や井戸などの数地点を選定し、検体の採取量、採取時間等の検討を行う。
- (4)ロタウイルス感染症発生動向と気象データとの関連の検討：キアンブ地区の病院の患者発生データを一定期間収集し、ロタウイルス感染症発生との関連因子の分析を行うため、地上観測の気象データ（降水量、気温、湿度、風量等）とロタウイルス患者数との時系列解析を行い、関連性を明らかにする。
- (5)環境中の水や空気検体からウイルス粒子を検出する疫学調査の実施：前年度行った調査の結果からウイルス測定最適の地点を選定し、開発した検出システムで、ウイルス粒子の検出を定期的を実施する。得られた結果から、ロタウイルス検出と気象データとの相関やロタウイルスの空気伝搬に関する可能性を分析する。

### 4. 研究成果

ナイロビ近郊のキアンブ地区におけるキアンブ県病院に入院した 5 歳以下の下痢症患者から下痢検体を採取し、A 群ロタウイルスの ELISA のスクリーニングでロタウイルスを検出した結果、ロタウイルスによる下痢症はロタウイルスワクチン導入で 49.8%（ワクチン導入前の 2009 年の 7 月から 2014 年 6 月までの 5 年間）から 27.5%（ワクチン導入後の 2014 年 7 月から 2016 年 6 月までの 2 年間）へとほぼ 50% 以下に減少した。先進国においてはこのワクチンの接種によるインパクトは 80% を超すと報告されているが、ケニアにおいてはほぼ 50% と、他の途上国同様の低い結果であった。また検出されたウイルス株

のジェノタイプを semi-nested PCR で分析した結果、ワクチン導入後に出現したロタウイルスのジェノタイプの主体は G2P4 であり、G3P[6] と G3P[8] がそれに続いた。本格的に本ロタウイルスワクチンを導入した場合、途上国においてはこのように新たに出現してくるワクチン株に対する対策が望まれる。一方、ロタウイルスの感染モードの分析については、金属メッシュ (Metal Mesh Device, MMD) を用いて捕集した約 80L の空気検体からロタウイルス粒子の VP4 および VP7 蛋白遺伝子に焦点を絞り semi-nested PCR 法で検出を試みた結果、もちろん土壤中に含まれる PCR 反応阻害物質の抑制を行う必要があるが、6.1% (18/291) の空気検体からロタウイルス粒子の何らかの蛋白が検出された。この点はさらに研究を進めていく必要がある。キアンブ病院の下痢症による入院患者の発生データと地上観測の気象データとの時系列解析については現在解析中であり、本報告には間に合わせることはできなかった。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 12 件)

- 1) Ernest Apondi Wandera<sup>1</sup>, Shah Mohammad, Martin Bundi, James Nyangao, Amina Galata, Cyrus Kathiiko, Erick Odoyo, Sora Guyo, Gabriel Miring'u, Satoshi Komoto, Yoshio Ichinose. Impact of rotavirus vaccination on rotavirus hospitalization rates among a resource-limited rural population in Mbita, Western Kenya. *Tropical Medicine & International Health*, Feb. 2018, doi:10.1111/tmi.13040、査読有
- 2) Ernest A. Wandera, Mohammad S., Bundi M., Komoto S., Nyangao J., Kathiiko C., Odoyo E., Miring'u G., Taniguchi K., Ichinose Y. Impact of Rotavirus and All-cause Gastroenteritis in Peri-Urban Kenyan Children. *Vaccine*. 2017; 35:5217-5223. 査読有
- 3) Makoto Hasegawa, Ernest A. Wandera, Yuka Inoue, Nanami Kimura, Ryuzo Sasaki, Tamio Mizukami, Mohammad Monir Shah, Nobuaki Shirai, Osamu Takei, Hironori Shindo, Yoshio Ichinose. Detection of rotavirus in clinical specimens using an immunosensor prototype based on the photon burst counting technique. *Biomed. Opt. Express* 8(7), 3383-3394, 2017, 査読有
- 4) Shah M, Odoyo E, Wandera EA, Bundi M, Miringu G, Guyo S, Kathiiko C, Galata A, Komoto S, Nyangao J, Karama M, Tsuji T, Taniguchi K, Morita K, Ichinose Y. Burden of Rotavirus gastroenteritis in children under five years old admitted with diarrhea in an urban and a rural setting in Kenya. *Jpn. J. Infect. Dis.* 70, DOI: 10.7883/yoken.JJID. 2016. 398、2017、査読有
- 5) Ernest A. Wandera<sup>1</sup>, Shah Mohammad<sup>1</sup>, John Ouko, James Yatitch, Koki Taniguchi, Yoshio Ichinose. Variation in Rotavirus Coverage by Sub-counties in Kenya. *Trop Med Health*;45:9.2017DOI:10.1186/s41182-017-0051-z. 査読有
- 6) Mohammad Shah, Cyrus Kathiiko, Akihiro Wada, Erick Odoyo, Martin Bundi, Gabriel Miring'u, Sora Guyo, Mohamed Karama, Yoshio Ichinose. Prevalence, Seasonal Variation and Antibiotic Resistance Pattern of Enteric Bacterial Pathogens Among

Hospitalized Diarrheic Children in Suburban Regions of Central Kenya. Tropical Medicine and Health, 2016, 44:39. 査読有

- 7) Ochi, S., Mohammad S., Odoyo, E, Bundi, M., Miringu, G., Sora G., Wandera, E., Kathiiko C., Kariuki S., Karama, M>, Tsuji T., Ichinose Y. An outbreak of diarrhea in Mandera, Kenya due to Escherichia coli serogroup O-nontypable strain that had a coding gene for enteroaggregative E. coli heat-stable enterotoxin 1 American Journal of Tropical Medicine and Hygiene,16-0310. 査読有
- 8) Ernest A. W., S. Mohamed, S. Komoto, Y. Maeno, J. Nyangao, T. Ide, C. Kathiiko, E. Odoyo, T. Tsuji, K. Taniguchi, Y. Ichinose. Molecular Epidemiology of Rotavirus Gastroenteritis in Central Kenya Before Vaccine Introduction, 2009-2014, 2016, J. of Medical Virology DOI:10.1002/jmv.24691 査読有

〔学会発表〕(計 15 件)

- 1) Shah Mohammad, Ernest Apondi Wandera, Martin Bundi, James Nyangao, Amina Galata, Cyrus Kathiiko, Erick Odoyo, Gabriel Miringu, Satoshi Komoto, Yoshio Ichinose. Early Impact of Rotavirus Vaccination in Rural Resource-Limited Setting in Kenya. The 16th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep. 5-8, 2017.
- 2) Shah Mohammad、一瀬休生、ケニアにおける小児下痢症の疾病負荷について、日本熱帯医学会総会シンポジウム 3, 熱帯地域における臨床疫学研究 (S3-4) 第 5

7 回日本熱帯医学会、2016 年 11 月 5, 6 日 東京、一橋大学

- 3) Ernest A. Wandera, M. Shah, S. Komoto, J. Nyangao, C. Kathiiko, E. Odoyo, A. Galata, G. Miringu, K. Taniguchi, Y. Ichinose. Early Impact of Rotavirus Vaccination in Central Kenya. 12th International Rotavirus Symposium. Sep. 7-9, 2016, Melbourne, Australia.
- 4) Yamamoto, K., E. Shirai, Y. Inoue, S. Kanba, T. Kondo, E. Wandera, Y. Ichinose, M. Hasegawa. Separation and sensing of aerosol particles in Kenya using metal mesh sensor with periodic microstructures IEEE sensors 2015, Busan, South Korea, November 1 - 4, 2015 (<http://ieee-sensors2015.org/>)
- 5) Wandera, E.A., M Shah, S Komoto, J Nyangao, C Kathiiko, E Odoyo, A Galata, G Miringu, K Morita, K Taniguchi, Y Ichinose. Hospital-Based Surveillance of Rotavirus Gastroenteritis in Central Kenya, 2009-2014. [Presented as a poster at the 4th Medical and Veterinary Virus Research Symposium, October 15-16, 2015, Nairobi, Kenya].

〔図書〕(計 5 件)

- 1) 一瀬休生、「アジアアフリカでの感染症動向 .ケニアでの下痢症研究」日本防菌防黴学会、2016 年、12 月号、P643-649
- 2) Makoto Hasegawa, Yuka Inoue, Nanami Kimura, Ernest Wandera, Yoshio Ichinose. Detection of Rotavirus in Clinical Specimens Using an Immunosensor Based on the Principle of Fluorescence Fluctuation Spectroscopy, IEEE sensors, 2016 1-2, November, Florida USA
- 3) 一瀬休生、長崎大学ケニア拠点の概要、『感染症研究国際ネットワーク推進プロ

グラム ( J-GRID )』 10 年のあゆみ、最新  
医学 , 70 巻 4 号特集、 2015 年

4) 一瀬休生、細菌性赤痢、医学書院、 p 1338,  
2015 年

〔産業財産権〕

出願状況 ( 計 0 件 )

取得状況 ( 計 0 件 )

〔その他〕なし

## 6 . 研究組織

(1) 研究代表者 :

一瀬 休生 ( ICHINOSE, Yoshio )

長崎大学・熱帯医学研究所・教授

研究者番号 : 70176296

(2) 研究分担者 :

長谷川 慎 ( HASEGAWA, Makoto )

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学  
部・教授

研究者番号 : 10367899

(3) 連携研究者 : なし

(4) 研究協力者 :

Ernest Apondi Wandera

Mohamed Monir Shah

Erick Odoyo