

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590770

研究課題名(和文) 東南アジア・南アジアにおける未診断熱性疾患の解析

研究課題名(英文) Studies on fever with unknown origin (FU00 in South and South East Asia

研究代表者

森松 組子(吉松組子)(Morimatsu, Kumiko)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90220722

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに申請者は東南アジアおよび南アジア諸国においてハンタウイルス関連疾患に関する調査を行ってきた。その結果、多くの不明熱症例は未診断のまま残されていることが明らかとなった。本研究では南アジア・東南アジアにおける熱性疾患の実態を明らかとすることを目的とした。予め、デング熱およびインフルエンザ患者ではないことが明らかな熱性疾患患者血清およびキャリアとなるげっ歯類の調査をベトナムおよびスリランカにおいて実施した。その結果、特定に至らない病原体の一部として、E型肝炎、レプトスピラ、およびハンタウイルスが含まれることが示唆された。げっ歯類は上記病原体を高率に保有し、感染源となりうることが示された。

研究成果の概要(英文)：The investigation of hantavirus-associated infectious diseases in Southeast Asia and South Asia had been conducted. Throughout the investigation, many examples of fever of unknown origin (FUO) were found from febrile diseases. In this report, it aimed to clarify FUO in this region. Febrile patient sera (not dengue fever and a flu victim) and wild rodent sera as a carrier of infectious agents conducted investigation of causative agent of febrile illness in Vietnam and Sri Lanka. Finally, it was suggested that seropositive cases against pathogenic organs, such as hepatitis E virus (HEV), leptospira, and hantaviruses are found from a part of FUO patient. Furthermore, it was shown that rodents in both countries also possessed these agents. Therefore rodents were able to be sources of these zoonotic agents.

研究分野：基盤研究(C)

科研費の分科・細目：衛生・公衆衛生

キーワード：ハンタウイルス感染症 レプトスピラ HEV 不明熱

## 1. 研究開始当初の背景

ハンタウイルスは、げっ歯類を自然宿主とする人獣共通感染症の原因ウイルスである。申請者はこれまでに東南アジア・南アジア諸国でのハンタウイルス関連疾患に関する研究を行ってきた。その結果、不明熱とされた中の一部にハンタウイルス感染症を見いだしてきた。が、依然として多くの検体は依然として不明熱のままであった。これは地球規模での公衆衛生上の大きな問題点であると考えられる。

## 2. 研究の目的

近年はアジア地区でのデング熱の大流行、チクングニア熱のアウトブレイク、水害にともなうレプトスピラ症のアウトブレイクも報告され、ますます診断体制の充実が必要となっている。標準的な診断法が存在するのはデング熱のみであり、不明熱に含まれるものには、上記の感染症に加えハンタウイルス感染症の他、レプトスピラ症、その他が存在すると考えられる。本研究では東南アジア・南アジア地区での不明熱の診断体制を整え、さらに新規病原体の特定を試みることを目的とする。

## 3. 研究の方法

東南アジア・南アジア諸国における不明熱患者(FUO)の血清でハンタウイルス、レプトスピラ、デング熱に対する血清抗体の測定および病原体遺伝子検出を行う。当初の予定の上記の病原体の他に、近年報告された新規の病原体である、ドブネズミが保有するラット型 E 型肝炎、重症熱性血小板減少症候群(SFTSV)も検査項目に加えた。慎重な実験室診断により、不明熱に占める上記疾患の割合を明らかにする。さらに、これらの疾患を取り除いた後に残った「真の不明熱」血清から新たな病原体を特定することを試みる。

## 4. 研究成果

これまでに申請者は東南アジアおよび南アジア諸国においてハンタウイルス関連疾患に関する調査を行ってきた。その結果、多くの不明熱症例は未診断のまま残されていることが明らかとなった。本研究では南アジア・東南アジアにおける熱性疾患の実態を明らかとすることを目的とした。予め、デング熱およびインフルエンザ患者ではないことが明らかな熱性疾患患者血清およびキャリアとなるげっ歯類の調査をベトナムおよびスリランカにおいて実施した。その結果、特定に至らない病原体の一部として、E型肝炎、レプトスピラ、およびハンタウイルスが含まれることが示唆された。げっ歯類は上記病原体を高率に保有し、感染源となりうることが示された。ベトナムのリケッチア疑いの患者血清では約半数が抗体陽性であり(共同研究者の研究成果より) HEV 抗体陽性者もおおよそ半数に上った。ハンタウイルス抗体陽性者は

0.5%程度と低かったが、ベトナムのドブネズミにおける陽性率は場所によっては 30%以上となるところもあり、ヒトへの感染源となりうると考えら得る。スリランカにおいてはタイランド型ハンタウイルス感染を示唆する結果が得られており、疾病との関連を解明することが重要であると考えられる。げっ歯類集団における抗レプトスピラ抗体の陽性率はハンタウイルス抗体陽性率よりも高い。しかしながら、ハンタウイルスとレプトスピラは同時に感染している可能性が認められ、伝播ルートが共通している可能性が示唆された。

近年報告された新規の病原体である、ドブネズミが保有するラット型 E 型肝炎ウイルス(HEV)、重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)も検査項目に加えた。SFTSV に関しては ethical clearance を持たないため、げっ歯類のみの解析となり、未だ進行中である。SFTSV のげっ歯類での陽性例は今のところ確認されておらず浸淫度は高くないと予想されるが、さらなる解析が必要である。HEV についてはドブネズミおよびクマネズミ集団への感染が確認された。感染率は捕獲場所により異なり、また、クマネズミの方が若干高い傾向が認められた。ヒトへの浸淫度も高かったが、ラット型、ヒト型いずれに感染しているかを明らかにする方法は現在のところ確立していない。しかしながら血清反応のパターンからラット型感染と思われ、ペア血清での抗体上昇の確認された症例が見いだされてきている。今後の解析によってラット型 HEV のヒトへの病原性について結論づける必要があると考えられる。

今回 HEV およびリケッチア抗体の検出の導入により、不明熱をさらに限定することができたと考えら得る。ここから能動的に新たな病原体を特定することは今回の研究では終了することができなかったが、「真の不明熱」材料を確定することができたと考えられる。

## 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 15 件)

1. Yasuda PS, Gamage CD, Koizumi N, Nishio S, Isozumi R, Shimizu K, Koma T, Amada T, Suzuki H, Yoshimatsu K, Arikawa J. (査読あり) 2014. Distinct genetic characteristics of Sri Lankan Rattus and Bandicota (Murinae, Rodentia) inferred from mitochondrial and nuclear markers. Genes Genet. Syst.:in press.
2. Amada T, Yoshimatsu K, Koma T, Shimizu K, Gamage CD, Shiokawa K, Nishio S, Ahlm C, Arikawa J. (査読あり) 2014. Development of an immunochromatography strip test based on truncated

- nucleocapsid antigens of three representative hantaviruses. *Virology Journal*: in press.
3. Nakamura I, Hang'ombe BM, Sawa H, Kobayashi S, Orba Y, Ishii A, Thomas Y, Isozumi R, Yoshimatsu K, Mweene AS, Takada A, Sugimoto C, Arikawa J. (査読あり)2013. Cross-reactivity of secondary antibodies against African rodents and application for sero-surveillance. *J Vet Med Sci* 75:819-825.
  4. Li TC, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Yasuda SP, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takeda N, Wakita T. (査読あり)2013. Susceptibility of laboratory rats against genotypes 1, 3, 4, and rat hepatitis E viruses. *Vet Microbiol* 163:54-61.
  5. Li TC, Ami Y, Suzaki Y, Yasuda SP, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takeda N, Takaji W. (査読あり)2013. Characterization of full genome of rat hepatitis e virus strain from Vietnam. *Emerg Infect Dis* 19:115-118.
  6. Ibrahim IN, Shimizu K, Yoshimatsu K, Yunianto A, Salwati E, Yasuda SP, Koma T, Endo R, Arikawa J. (査読あり) 2013. Epidemiology of hantavirus infection in Thousand Islands regency of Jakarta, Indonesia. *J Vet Med Sci* 75:1003-1008.
  7. Amada T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Shimizu K, Koma T, Hayashimoto N, Gamage CD, Nishio S, Takakura A, Arikawa J. (査読あり)2013. Rapid, whole blood diagnostic test for detecting anti-hantavirus antibody in rats. *J Virol Methods* 193:42-49.
  8. Yoshimatsu K, Arikawa J. (査読なし) 2012. Bunyavirus and its ecology. *Uirusu* 62:239-250.
  9. Yasuda SP, Yoshimatsu K, Koma T, Shimizu K, Endo R, Isozumi R, Arikawa J. (査読あり) 2012. Application of Truncated Nucleocapsid Protein (N) for Serotyping ELISA of Murinae-Associated Hantavirus Infection in Rats. *J Vet Med Sci* 74:215-219.
  10. Saasa N, Yoshida H, Shimizu K, Sanchez-Hernandez C, Romero-Almaraz MD, Koma T, Sanada T, Seto T, Yoshii K, Ramos C, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I, Kariwa H. (査読あり) 2012. The N-terminus of the Montano virus nucleocapsid protein possesses broadly cross-reactive conformation-dependent epitopes conserved in rodent-borne hantaviruses. *Virology* 428:48-57.
  11. Luan VD, Yoshimatsu K, Endo R, Taruishi M, Huong VT, Dat DT, Tien PC, Shimizu K, Koma T, Yasuda SP, Nhi L, Arikawa J. (査読あり)2012. Studies on hantavirus infection in small mammals captured in southern and central highland area of Vietnam. *J Vet Med Sci* 74:1155-1162.
  12. Koma T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Li T, Amada T, Shimizu K, Isozumi R, Mai LT, Hoa NT, Nguyen V, Yamashiro T, Hasebe F, Arikawa J. (査読あり) 2012. A survey of rodent-borne pathogens carried by wild Rattus spp. in Northern Vietnam. *Epidemiol Infect*:1-9.
  13. Koma T, Yoshimatsu K, Taruishi M, Miyashita D, Endo R, Shimizu K, Yasuda SP, Amada T, Seto T, Murata R, Yoshida H, Kariwa H, Takashima I, Arikawa J. (査読あり) 2012. Development of a serotyping enzyme-linked immunosorbent assay system based on recombinant truncated hantavirus nucleocapsid proteins for New World hantavirus infection. *J Virol Methods* 185:74-81.
  14. Li TC, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Arikawa J, Koma T, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Mai le TQ, Hoa NT, Yamashiro T, Hasebe F, Takeda N, Wakita T. (査読あり)2011. Characterization of self-assembled virus-like particles of rat hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. *J Gen Virol* 92:2830-2837.
  15. Gamage CD, Yasuda SP, Nishio S, Kularatne SA, Weerakoon K, Rajapakse J, Nwafor-Okoli C, Lee RB, Obayashi Y, Yoshimatsu K, Arikawa J, Tamashiro H. (査読あり) 2011. Serological evidence of Thailand virus-related hantavirus infection among suspected leptospirosis patients in Kandy, Sri Lanka. *Jpn J Infect Dis* 64:72-75.
- [学会発表](計18件)
1. Arikawa J, Amada T, Yoshimatsu K, Hayashimoto N, Koma T, Shimizu K, Gamage CD, Shiokawa K, Nishio S, Ahlm C, Takakura A : Development of an Immunochromatography Strip Test for Detecting Anti-hantavirus Antibody in Rodent and Human Sera by Using an N-terminal Common Antigenic Site of Hantavirus N protein. IX International Conference on HFRS HPS & Hantaviruses, Beijing International Convention Center, Beijing, CHINA, June 5-7, 2013
  2. Yoshimatsu K, Koma T, Nagata N, Sato Y, Shimizu K, Amada T, Nishio S, Hasegawa H, Arikawa J : Role of Neutrophils in the Induction of Pulmonary Edema during Hantavirus Infection in C.B-17Scid Mice. IX International Conference on HFRS HPS & Hantaviruses, Beijing International Convention Center, Beijing, CHINA, June 5-7, 2013
  3. Shiokawa K, Gamage CD, Koizumi N, Nishio S, Koarashi Y, Tsuda Y, Shimizu K, Yoshimatsu K, Arikawa J : Application of recombinant LigA and LipL32 to the lateral flow immunoassay for the detection of pathogenic *Leptospira* spp. specific IgG in rodent sera. 8th Scientific Meeting of International Leptospirosis Society, Centennial Hall Kyushu University School of Medicine, Fukuoka, Japan, 8-11 Oct. 2013
  4. 清水健太, 濱口杉大, Cuong Ngo Chi, 李天成, 吉松組子, 津田祥美, 塩川愛絵, 西尾佐奈恵, 吉田レイミント, 有吉紅也, 有川

- 二郎：ラットE型肝炎ウイルスは人獣共通感染症の病原体か？第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場（神戸市）2013.11.10-12
5. Kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Kenta Shimizu, Takaaki Koma, Takako Amada, Tetsu Yamashiro, Futoshi Hasebe, Nguyen Thuy Hoa, Le Thi Quynh Mai, Jiro Arikawa : Persistence of Seoul virus in natural host (*Rattus norvegicus*). The 9th Japan-China International Conference of Virology, Sapporo, Japan, June 12-13, 2012
  6. Takako Amada, Kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Takaaki Koma, Kenta Shimizu, Rie Isozumi, Nobuhito Hayashimoto, Akira Takakura, Jiro Arikawa : Development of immunochromatographic test strips for the detection of HFRS and HPS hantavirus antibody in the human and rodent serum. The 9th Japan-China International Conference of Virology, Sapporo, Japan, June 12-13, 2012
  7. Tian-Cheng Li, Kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Jiro Arikawa, Michiyo Kataoka, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Koji Ishii, Naokazu Takeda and Takaji Wakita : Antigenicity and infectivity of rat hepatitis E viruses. The 9th Japan-China International Conference of Virology, Sapporo, Japan, June 12-13, 2012
  8. Kenta Shimizu, Tian-Cheng Li, Shumpei P. Yasuda, Kumiko Yoshimatsu, Takaaki Koma, Futoshi Hasebe, Tetsu Yamashiro, Nguyen Thuy Hoa, Le Thi Quynh Mai, Koya Ariyoshi, Jiro Arikawa : Epidemiology of rat hepatitis E virus infection in human and rodents in Vietnam. The 9th Japan-China International Conference of Virology, Sapporo, Japan, June 12-13, 2012
  9. Takako Amada, Nobuhito Hayashimoto, Kumiko Yoshimatsu, Shumpei Yasuda, Kenta Shimizu, Takaaki Koma, Rie Isozumi, Akira Takakura, Jiro Arikawa : Development of Immunochromatographic Rapid Test for the Detection of IgG Antibodies Specific to HFRS and HPS Hantaviruses in Human and Rodent Serum. Mini-symposium on Emerging and Re-emerging Viral Diseases in Asia, 46th Joint Working Conference on Viral Diseases, The Japan-United States Cooperative Medical Science Program, Beppu, Japan, June 19-20, 2012
  10. Amada T, Hayashimoto N, Yoshimatsu K, Yasuda S, Shimizu K, Koma T, Isozumi R, Takakura A, Arikawa J : Development of immunochromatographic test for the detection of HFRS and HPS Hantavirus antibody in the human and rodent serum. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Rio de Janeiro, Brazil, September 23-27, 2012 (poster)
  11. Amada T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Koma T, Shimizu K, Nishio S, Hayashimoto N, Takakura A, Arikawa J : Rapid and whole blood diagnostic test for detecting anti-hantavirus antibody in human and rodent. The 5th Asian Federation of Laboratory Animal Science Associations Congress, Bangkok, Thailand, October 10 – 12, 2012 (oral)
  12. Koma T, Yoshimatsu K, Shimizu K, Yasuda SP, Isozumi R, Amada T, Arikawa J : The role of neutrophils in the induction of pulmonary edema during hantavirus infection in C.B-17Scid mice, 31st Annual Meeting of American Society of Virology, Madison, USA, July 21-25, 2012
  13. 天田 貴子、吉松 組子、安田 俊平、清水 健太、駒 貴明、林元 展人、高倉 彰、有川 二郎 : イムノクロマト法による抗ハンタウイルス抗体の迅速抗体検出法の開発。第60回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、大阪市、2012.11.13～15
  14. 吉松 組子、有川 二郎 : ハンタウイルスの持続感染成立機構について。第60回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪、大阪市、2012.11.13～15(シンポジウム)
  15. Kenta Shimizu, Kumiko Yoshimatsu, Takaaki Koma, Shumpei P. Yasuda, Jiro Arikawa : Role of hantavirus nucleocapsid protein in intracellular traffic of glycoproteins. XV International Congress of Virology, Sapporo Convention Center, Sapporo, 11-16 September 2011
  16. Shumpei P. Yasuda, Kumiko Yoshimatsu, Rika Endo, Kenta Shimizu, Takaaki Koma, Rie Isozumi, Jiro Arikawa : Development of the method for monitoring cytotoxic t lymphocyte (CTL) responses to hantavirus in laboratory rats. XV International Congress of Virology, Sapporo Convention Center, Sapporo, 11-16 September 2011
  17. Tiancheng Li, Kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Jiro Arikawa, Michiyo Kataoka, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Takaji Wakita : Characterization of virus-like particles of rat hepatitis e virus generated by recombinant baculovirus. XV International Congress of Virology, Sapporo Convention Center, Sapporo, 11-16 September 2011
  18. Rie Isozumi, Kumiko Yoshimatsu, Sirima Pattamadilok, Sanit Kumperasart, Jiro Arikawa : Seroprevalence of anti-leptospira antibodies among patients with acute febrile illness with renal dysfunction in spite of negative result with several laboratorial leptospira tests in Thailand. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Sapporo Convention Center, Sapporo, 6-10 September 2011
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)  
取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者 森松 組子(吉松組子)  
(MORIMATSU KUMIKO (YOSHIMATSU KUMIKO))  
北海道大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：90220722

(2)研究分担者 該当なし

研究者番号： 該当なし

(3)連携研究者 有川 二郎 (ARIKAWA JIRO)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号： 10142704

(3)連携研究者 清水 健太 (SHIMIZU KENTA)  
北海道大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号： 20466840