

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16222

研究課題名(和文)日本で流行する梅毒のゲノムタイピングによる分子疫学研究の確立

研究課題名(英文)Molecular epidemiological study of syphilis in Japan

研究代表者

安達 英輔(Adachi, Eisuke)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：80725804

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は日本で流行する梅毒の分子疫学であり、培養することができない梅毒を臨床検体から遺伝子を直接同定することによりゲノム解析を行うことを目的としていた。3年間で47の血液検体と7つの一期梅毒の病変部からのスワブ検体から最終的にDNAを抽出しメタゲノム解析を試みた。梅毒は培養ができないため、検体から直接菌体を得る必要があるため、解析に必要なDNAを抽出することが困難であったが、PCR法の試行錯誤により13クローンをえることができた。梅毒の遺伝子型として主要なNichols型とSS14型は日本では約半数流行しており、どちらかがドミナントであるということがないことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2015年度の東京都の梅毒報告数は5年前の6倍と激増し現在も増加傾向にある。一方、申請者の施設では以前より梅毒はcommonな疾患であり、実に初診のHIV患者の40%程度がTP抗体陽性で、年間10-30例程度を報告していた。日本のHIV感染者はMSM(Men who have sex with men)が多数で、heterosexualな性行為を行う集団も一定数含まれているが、梅毒の感染経路が粘膜の接触を伴う性行為に限られることを考えると集団間の伝播は少なく梅毒の分子疫学研究による成果はHIVなど他の重要な性感染症の感染防止施策に関しても効果的な介入方法を提供できる

研究成果の概要(英文)：The aim of this research is to establish a method of ¥molecular epidemiology for syphilis which is caused by the Treponema Pallidum, T.pallidum has been hindered by an inability to culture the organism continuously in vitro. we performed molecular typing of TPA, using a newly introduced MLST typing system, on samples collected in IMSUT hospital from 2016 to 2018, Out of 47 typeable samples, 13 were fully-typed at all TP0136, TP0548, and TP0705 loci. Among the fully and partially typed samples, several different allelic profiles were identified. Altogether, some novel allelic variants were found. The distribution of TPA allelic profiles identified in IMSUT hospital revealed that multiple strains have involved the syphilis endemic in Japan. e A2059G mutation was also found in half of strains identified in this study.

研究分野：HIV感染症 分子疫学

キーワード：梅毒 分子疫学 ゲノム解析 MLST

## 1. 研究開始当初の背景

2010 年以降梅毒の患者数は増加しているが、従来の HIV 感染者や男性同性愛者などのリスク集団に加え、若年女性の早期顕性梅毒が増えている。この要因を探るためには *T.pallidum* の流行型の把握が求められるが、試験管内培養できないことが分子疫学研究を困難にしていた。本研究は 1)日本由来 *T. pallidum* のゲノム解析と、識別能の高い系統解析が可能となる 2) MLST 法の確立による分子疫学研究である。流行以前から梅毒を多く診療している当施設を中心として海外の拠点を含めた他施設と連携して検体を集め、世界中から集めた病原体を用いた分子疫学研究を行っている研究者と連携することにより、流行の要因を突き止め、感染防止対策を打ち出す。更にこれらの技術により新しい診断技術を創出し、未解明である微毒の病態解明を行なっていく。

## 2. 研究の目的

本研究により、現在の流行が、MSM を主体とした既存のリスク集団から広がったものか、男女間の性行為を行う集団中の minor population のアウトブレイクか、あるいは国外から新規に流入したものが固定しているのを明らかにできる。これは梅毒の感染拡大防止のため今後の啓発活動等を考える上で重要な情報であり、分子疫学研究に裏付けされた介入方法は世界的にも梅毒の感染対策で欠けていた部分である。

## 3. 研究の方法

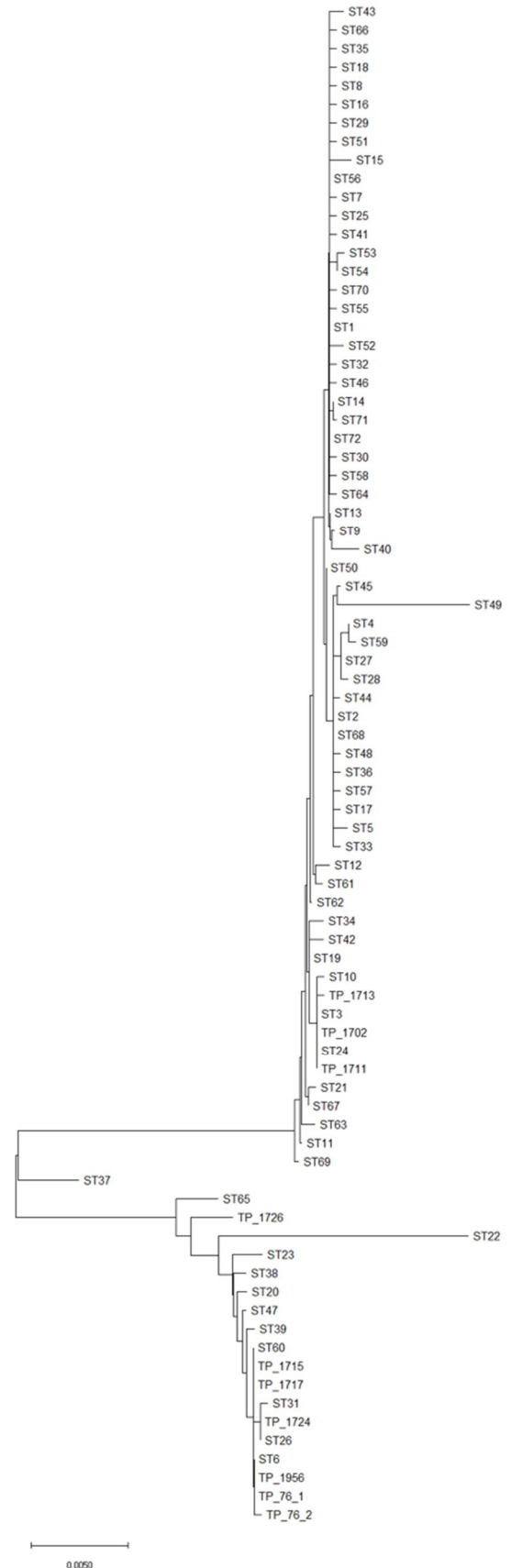
この解析では時間軸をより正確に反映した系統解析が可能であり、流行型の把握とリスク集団推定ができる。申請者は現在の流行以前より梅毒の臨床所見に関連した報告を多く行い、臨床情報の蓄積がある。研究協力者は世界中の *H.pylori* の MLST 法解析を行っており、この解析に習熟している。MLST 法を用いた遺伝子の多型性の研究は様々な細菌で行われている一方で、梅毒ではこれまで行われていないが、梅毒の housekeeping gene に関しては報告があり、MLST 法の確立は可能である。

## 4. 研究成果

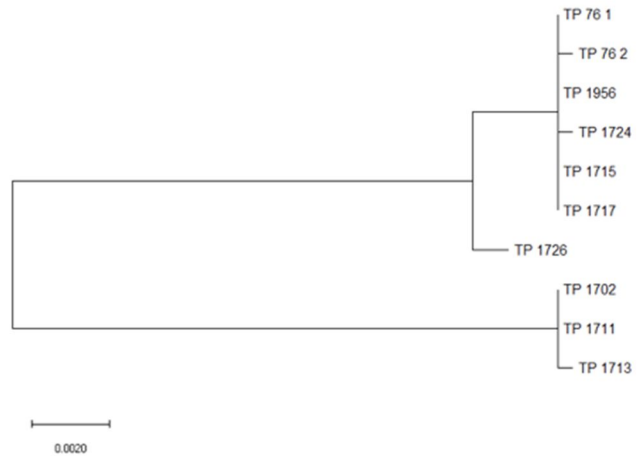
本研究は、日本由来の *T. pallidum* のゲノム解析と、識別能の高い系統解析が可能となる MLST 法の確立による分子疫学研究である。MLST 法は数種類のハウスキーピング遺伝子と呼ばれる同種で変異の少ない遺伝子の相同性を調べる方法であり、ある集団内で伝播している病原菌の分子系統解析に用いられているが、梅毒は培養ができないため、実際の患者の組織から直接、DNA を抽出する必要がある。最終年度には、当施設において、これまで収集した検体をもとに、DNA を抽出を行い、ゲノム解析をおこなった。

2016 年 1 月から 2018 年 12 月までに同意のもとに得られた、梅毒 RPR 陽性者の血液 47 検体と、一期梅毒の病変部のスワブ 7 検体の解析を行った。

*Treponema pallidum*(*T.pallidum*)が試験管内で培養できないことが、分子疫学研究を困難にしていた。本研究も患者検体もメタゲノム解析であるため、解析に必要な DNA の抽出は困難であった



が、最終的に MLST 解析に必要な配列を 13 クローンから得ることができた。右の図に系統樹解析の結果を示す。MLST に関しては、2019 年に発表され、データベースに登録されている Grillova らの文献(PLoS One . 2018 Jul 30;13(7):e0200773)と同様に方法で行った。ST\_と表示されているものデータベースのもので TP\_は当院の文献である。新規のものについては下の図で示した。結果を要約すると、世界に分布している 2 種類の梅毒とされる、Nichols 型と、SS14 型にわけると、それぞれ、6 種類、7 種類あることがわかった。右図(9 クローンのみ)。また、マクロライド系抗菌薬に対する薬剤耐性変異は、Nichols 型で 3 例、SS14 で 3 例認めた。また、SS14 型はマクロライド耐性が多く、近年の世界的な梅毒流行の主要な株であると考えられていたが、本研究とは一致しなかった。今回の対象は、当院に通院する、男性間性交渉により感染した HIV 患者であるが、日本の男性同性愛者で流行していた梅毒は複数の株であることが推測された。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Eisuke Adachi, Tomohiko Koibuchi, and Hiroshi Yotsuyanagi	4. 巻 2
2. 論文標題 Gastric Syphilis in a Human Immunodeficiency Virus-Infected Patient	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JMA journal	6. 最初と最後の頁 93-94
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.31662/jmaj.2018-0025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Matsuzawa Y, Adachi E, Takahashi A, Sato H, Lim LA, Komatsu T, Koibuchi T, Nagamura-Inoue T, Tojo A, Nagayama H, Yotsuyanagi H	4. 巻 58
2. 論文標題 Cytokine Profile in Sweet's Syndrome under the Treatment of Pulmonary Toxoplasmosis Complicated with Myelodysplastic Syndrome.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 2079-2083
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.2372-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Adachi E, Miharuru Y, Suzuki M, Yotsuyanagi H	4. 巻 57
2. 論文標題 Imported Tungiasis in a Non-endemic Country.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 3497-3498
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.1314-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Eisuke Adachi, Tomohiko Koibuchi, and Hiroshi Yotsuyanagi	4. 巻 2
2. 論文標題 Gastric Syphilis in a Human Immunodeficiency Virus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Internal Med	6. 最初と最後の頁 93-94
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.31662/jmaj.2018-0025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 安達 英輔, 佐藤 秀憲, 菊地 正, 古賀 道子, 堤 武也, 鯉淵 智彦, 四柳 宏	4. 巻 20
2. 論文標題 DRV/COBIへのブースター変更症例における臨床所見の変化	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本エイズ学会誌	6. 最初と最後の頁 173-178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 3.Koibuchi T, Koga M, Kikuchi T, Horikomi T, Kawamura Y, Lim LA, Adachi E, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H	4. 巻 in press
2. 論文標題 Prevalence of hepatitis A immunity and decision-tree analysis among HIV-infected men who have sex with men, in Tokyo	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Infect Dis	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1093/cid/ciz843	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Hidenori Sato, Yasunori Ota, Yasuo Matsubara, Tadashi Kikuchi, Michiko Koga, Tomohiko Koibuchi, Takeya Tsusumi, Tetsuro Matano, Ai Kawana-Tachikawa, Hiroshi Yotsuyanagi, Eisuke Adachi.
2. 発表標題 GUT HOMING CD4+ T CELL COUNT IS ASSOCIATED WITH CHRONIC GASTRITIS ACTIVITY
3. 学会等名 International AIDS Conference 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 城戸康年, 安達英輔, 佐藤秀憲, 菊地正, 古賀道子, 鯉淵智彦, 堤武也, 四柳宏
2. 発表標題 HIV感染者におけるヘリコクターピロリと胃マイクロバイオームのクロストーク
3. 学会等名 第92回日本感染症学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安達英輔, 林阿英, 佐藤秀憲, 古賀道子, 鯉淵智彦, 堤武也, 四柳宏
2. 発表標題 放射線療法により治癒したエイズ関連原発性中枢神経リンパ腫症例 第67回日本感染症学会東日本地方学術集会
3. 学会等名 第67回日本感染症学会東日本地方学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 桧垣朱友子, 城戸康年, 安達英輔, 松本昂, 岩崎もにか, 松原康朗, 大田泰徳, 佐藤秀憲, 菊地正, 古賀道子, 鯉淵智彦, 堤武也, 四柳宏, 山岡吉生
2. 発表標題 HIV感染者におけるヘリコバクターピロリと胃マイクロバイオームの相互作用
3. 学会等名 第32回日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安達英輔, 城戸康年, 佐藤秀憲, 松澤幸正, 菊地正, 古賀道子, 鯉淵智彦, 四柳宏
2. 発表標題 HIV感染者におけるHelicobacter pylori感染
3. 学会等名 第91回日本感染症学会総会・学術講演会、東京
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古賀道子, 菊地正, 佐藤秀憲, 安達英輔, 鯉淵智彦, 四柳宏
2. 発表標題 HIV陽性者の死亡原因から見た現状 AIDS指標悪性腫瘍と非AIDS指標疾患の後方視的研究
3. 学会等名 第31回日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安達英輔、佐藤秀憲、菊地正、古賀道子、鯉淵智彦、堤武也、四柳宏
2. 発表標題 EVG/cobi/FTC/TAF使用症例における臨床所見の変化
3. 学会等名 第31回日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安達英輔、佐藤秀憲、菊地正、古賀道子、鯉淵智彦、堤武也、四柳宏
2. 発表標題 DRV/rtvからDRV/cobiへのプースター変更症例における臨床所見の変化
3. 学会等名 第31回日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松澤 幸正, 安達 英輔, 亀井 潤, 西松 寛明
2. 発表標題 上部尿路結石に伴う閉塞性腎盂腎炎の検討
3. 学会等名 第65回日本化学療法学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤秀憲, 古賀道子, 菊地正, 安達英輔, 鯉淵智彦, 堤武也, 四柳宏
2. 発表標題 HIV感染者におけるB型急性肝炎の検討
3. 学会等名 第66回日本感染症学会東日本地方会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Eisuke Adachi, Yasutoshi Kido, Ayuko Higaki, Monica Iwasaki, Takashi Matumoto, Hidenori Sato, Michiko Koga, Tomohiko Koibuchi, Yasuo Matsubara, Takeya Tsusumi, Yasunori Ota, Yoshio Yamaoka, Hiroshi Yotsuyanagi
2. 発表標題 CROSS-TALK BETWEEN H.PYLORI AND GASTRIC MICROBIOME AMONG PEOPLE LIVING WITH HIV
3. 学会等名 International AIDS Conference. July21-24 ,2019. Mexico City, Mexico (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----