

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20603002

研究課題名 (和文) ポホール島 (フィリピン) における狂犬病コントロール

研究課題名 (英文) Rabies control in Bohol Island (Philippines)

研究代表者

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：80404234

研究成果の概要 (和文)：

本研究はフィリピンにおける狂犬病のモニタリングシステム構築およびフィリピン各地から収集した動物脳検体の分子疫学的解析を行ったものである。遺伝子解析の結果、1) 狂犬病ウイルスがフィリピンに持ち込まれてから島を越えたウイルスの移動はほとんどないこと 2) 地理的に隔離された場所(山に囲まれた場所など)ではウイルス遺伝子が保持される傾向にあること、3) 地域ごとの狂犬病対策が有効であること が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

The aims of this study were to consist the monitoring system of the rabies in the Philippines and to conduct the molecular epidemiology analysis using the animal brain samples collected from each region in the country. As the result of the genetic analysis, we found out 1) Since rabies virus has been imported to the Philippines, the transfer of the virus over the island were few 2) viruses were tend to be kept out in the geographically isolated area. 3) the control strategy conducted by the area might be effective for eliminate the rabies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：国際保健医療研究

キーワード：感染症対策、狂犬病、ウイルス、分子疫学

1. 研究開始当初の背景

狂犬病は、発症すればほぼ全例が死に至るウイルス性疾患である。フィリピンにおいては毎年約 300 人の死亡例が報告されている。①動物咬症報告例の PEP 接種率は 95%程度と高いこと ②一方、登録イヌの予防接種率は

5%程度にとどまり減少傾向が見られること ③さらにヒト狂犬病症例数は増加傾向があることといった現状がある。積極的な対策の一方で資金不足によるイヌワクチン不足が原因となり、制圧には程遠い状況である。現在ボホール島には 1) 限られた予算を効

率的に利用する政策の導入 2) 正確なサーベイランス法の導入 の 2 点が早急に必要であると考える。

2. 研究の目的

(1) モニタリングシステムの構築：フィリピン国内において狂犬病ネットワークを強化し、現行のサーベイランスシステムの問題点を明らかにする。

(2) ウイルスの分子疫学的検討：本島において蔓延しているウイルス株の由来を明らかにする。本島での狂犬病が外来ウイルスによるものでないことを証明できれば、いったん制圧に成功すればその状態を維持できることを意味し、この結果は狂犬病対策を決定する大きな要素となりうる。

3. 研究の方法

(1) モニタリングシステムの構築

コミュニティーから保健省に至る情報収集の流れをについて現行の方法を評価し問題点を把握する。

(2) ウイルスの分子疫学的検討

狂犬病を発症したイヌの検体が「コミュニティー → ボホール島 狂犬病担当部門 → RITM」の流れで速やかに輸送されるシステムを構築する。その後、狂犬病イヌからの遺伝子解析を含むウイルス学的検索を RITM にて行う。具体的には、まず蛍光抗体法にて脳検体の陽性を確認し、それを RT-PCR にて N 遺伝子および G 遺伝子を増幅する。それらの塩基配列をシーケンサーにて読み取り、MEGA を用いて系統樹解析を行う。系統樹解析の結果から、島国における狂犬病制圧の可能性について検討する。

4. 研究成果

(1) モニタリングシステムの構築：

Research Institution for Tropical Medicine (RITM) を拠点として、フィリピン全土からイヌの脳サンプル収集のネットワークを構築し、効率的な収集システムおよび問題点の迅速な把握システムが構築できた。まず本研究を始めるに当たり、協力を得る予定の州立動物衛生研究所を訪れ、各研究所の抱える問題点について、検体収集から検体処理、さらに結果のフィードバック方法に至るまでのアセスメントを行った。その結果、特にフィリピン全体では検体収集方法にバイアスがかかっており地域的な偏りがあること、研究所においては予算不足のため倍率の低い対物レンズを使用している場所や試薬不足のため検査が滞る地域があり、そのような場所ではウイルスの陽性率が低くする傾向にあること、実験室診断結果の患者へのフ

ィードバックが適切になされていない地域もあること、などが明らかになった。本研究を開始するに当たり、まず実験室内の改善を図り、地域間での診断能力の差をできる限り小さくした。

検体収集方法としては、各州立動物衛生研究所で行っている蛍光抗体試験にて陽性となった検体を冷凍保管しておき、およそ月 1 回のペースでそれらの動物脳検体を凍結させた状態で迅速に RITM に輸送するというシステムを確立した。また同時に数件の陰性検体も輸送してもらい、RITM において改めて蛍光抗体試験を行うことにより、各州立動物衛生研究所の診断の精度についてもチェックできるようにした。動物脳サンプルの収集にはプロジェクトこのシステムが有効に活用できた。

(2) ウイルスの分子疫学的検討：フィリピン国内の 10 の州の州立動物衛生研究所からの協力を得て、合計約 350 検体を収集した。

収集したすべての検体について RITM において改めて蛍光抗体試験による実験室診断を行い、陽性検体においては RT-PCR およびシーケンサーにて G 遺伝子、N 遺伝子の解析を行った。G 遺伝子は表面蛋白質で最も変化しやすい部位である一方、N 遺伝子は核蛋白質であり、もっとも保存性の高い領域である。今回、両遺伝子において、ルソン島、ビサヤ諸島、ミンダナオ島から収集した検体は異なる遺伝クラスターに属することを認めた(図 1)。特に G 遺伝子のルソン株においては全部で 6 つのクラスターに分類され、それらが狭い地域で分布していることが判明している。マニラ首都圏では人の移動が多いため様々なクラスターが入り混じっていたが、地方においてはそれらのクラスターは比較的狭い地域ごとに限局された分布を示した。これらの結果を受け、現在これらが山脈や河川といった地理的な影響をどの程度うけているのか、また地理的要因に時間要因も含め、どのくらいの期間でウイルスが伝播しているのかといった解析も進行中である。

また今回収集したフィリピン国内の株は異なる島間であってもアミノ酸相同性が極めて高いことが判明した (99.7%)。さらに塩基配列の解析により現在フィリピンで流行しているウイルスは、東南アジア諸国ではなく中国から持ち込まれた可能性が高いことが示された (図 2)。

フィリピンでは 2020 年までに狂犬病撲滅という目標を掲げているが、以上の結果により、フィリピンでの狂犬病コントロールは全国一斉に行うのではなく、地域ごとにまとまったプログラムが有効であることが示唆された。

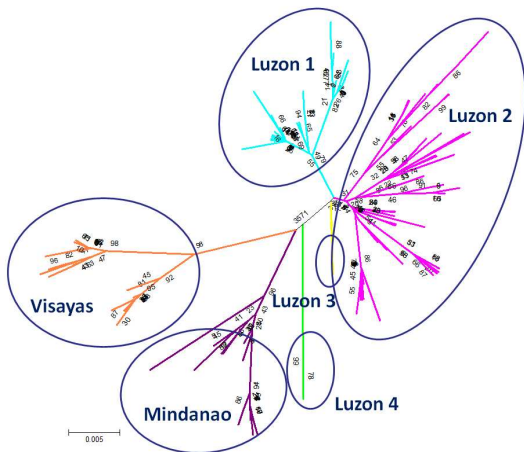


図 1-1 狂犬病 G 遺伝子 698bp の遺伝子解析結果 (Neighbor-Joining 法、N=275)

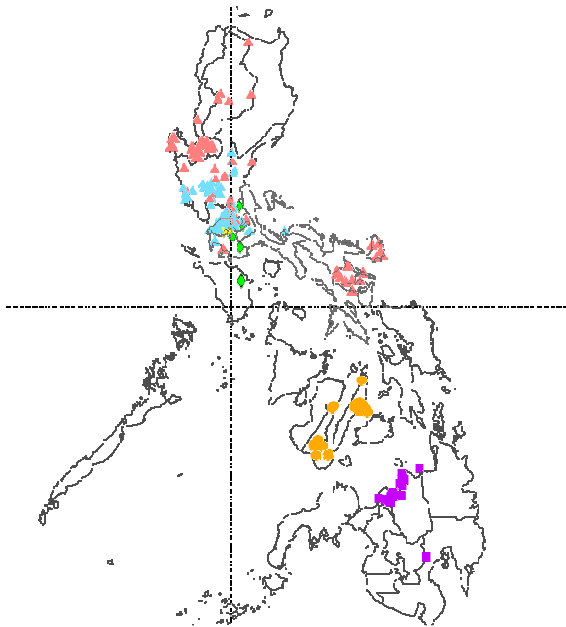


図 1-2 狂犬病 G 遺伝子のクラスターごとの色分けと収集場所表示 (色は図 1-1 と対応)

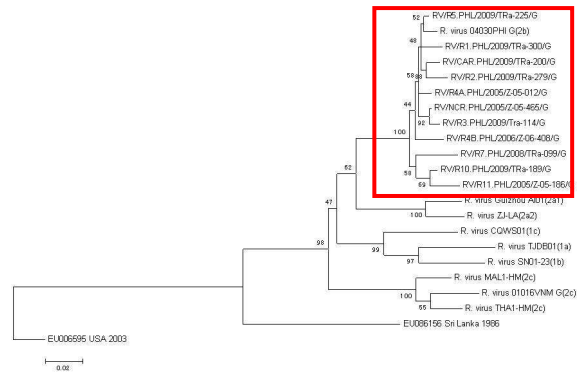


図 2 フィリピン株 (赤枠) と近隣諸国との狂犬病ウイルス G 遺伝子のアミノ酸配列比較

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 0 件)

〔学会発表〕 (計 9 件)

1) 熱帯地で問題となっている人獣共通感染症：狂犬病/第 51 回日本熱帯医学会大会 (宮城) /2010 年 12 月 3~4 日/神垣太郎

2) Molecular epidemiology of rabies in the Philippines /2010 年 11 月 11~12 日/ Asia Africa Research Forum (Hanoi Vietnam)/齊藤麻理子

3) フィリピンにおける狂犬病ウイルスの分子疫学的検討/第 57 回 日本ウイルス学会学術集会/2009 年 10 月 26~27 日/齊藤麻理子

4) フィリピンにおける狂犬病ウイルスの分子疫学的検討/2009 年 10 月 22~23 日/第 50 回日本熱帯医学会大会 (沖縄) /齊藤麻理子

5) Molecular epidemiology of rabies in the Philippines/2009 年 9 月 16 日/International Forum for Infectious Disease/ (Bangkok, Thailand) /Jun Ryan Orbina

6) Molecular Epidemiology of Rabies in the Philippines/新興・再興感染症に関するアジア・アフリカリサーチフォーラム (札幌) /2008 年 12 月 15 日/齊藤麻理子

7) Stochastic Analysis of Rabies Epidemiology in the Philippines/新興・再興感染症に関するアジア・アフリカリサーチフォーラム (札幌) /2008 年 12 月 15 日/神垣太郎

8) Assessment of Four Regional Animal Disease Diagnostic Laboratories for

Rabies Control in the Philippines/新興・再興感染症に関するアジア・アフリカリサーチフォーラム（札幌）/2008年12月15日/
Catalino Demetria

9) Molecular Diversity of Rabies in the Philippines（講演）/仙台人獣共通感染症国際シンポジウム（仙台）/2008年12月12日/
齊藤麻理子

〔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

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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：80404234

(2) 研究分担者

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

鈴木 陽 (SUZUKI AKIRA)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：20443989

神垣 太郎 (KAMIGAKI TARO)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：80451524

(3) 連携研究者

Dr. Remigio M. Olveda
Director, Research Institute of Tropical
Medicine, Philippines
(H20-H21 連携研究者、H22 研究協力者)