

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：82603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861458

研究課題名(和文) 性感染症におけるアデノウイルスの実態調査及び分子疫学的研究

研究課題名(英文) Molecular epidemiological survey of Human adenoviruses in sexually transmitted infections.

研究代表者

花岡 希 (HANAOKA, Nozomu)

国立感染症研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：00584517

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：2013年度～2014年度にかけて「性感染症におけるアデノウイルスの実態調査及び分子疫学的研究」を行った。性感染症の中でも特に近年アデノウイルスの関与が報告されている尿道炎に着目し、2年間で、研究の基盤となる医療機関との連携体制を確立し、網羅的な微生物探索法の検討、調査研究の実施と段階的に研究を推進出来た。結果として、尿道炎関連患者約200名分、無症状者コントロール約100名分の検体を検査することが出来た。その中で、非クラミジア性非淋菌性尿道炎患者の尿検体から、有意にAdが検出・分離された。同定したAdの型別解析を行ったところ、Ad56型が最も多く、次いでAd37型であった。

研究成果の概要(英文)：From 2013 to 2014, "Molecular epidemiological survey of Human adenoviruses (Ads) in sexually transmitted infections." was performed. In particular, we focused on "Urethritis" among STI (sexually transmitted infections) that recently reported adenovirus involvement. While research period, a collaboration system with urologic clinic was established as the basis for this study, comprehensive detection system for microorganism in urine was developed, And clinical surveillance for adenovirus in urethritis have been facilitated. Total of approximately 200 urine and gargle specimens from patients with urethritis and about 100 urine and gargle specimens from asymptomatic control were collected. Among them, from urine specimens of nonchlamydial nongonococcal urethritis. As results of screening, several Ad had been detected and isolated as statistically significant. According to genetically analysis of detected Ads, Ad56 type was the most numerous, followed by Ad37 type.

研究分野：感染症

キーワード：性感染症 非クラミジア性非淋菌性尿道炎 病原体探索 アデノウイルス

## 1. 研究開始当初の背景

性感染症 (STI: Sexually Transmitted Infection) は、性行為によって感染する感染症であり、性行動が多様化している現代社会において、大きな問題となっている。ヒトアデノウイルス (Human adenovirus : Ad) は、咽頭等の呼吸器系感染や眼感染、腸管感染や免疫不全患者には脳炎や全身性の血液感染等、ヒトの様々な部位に対して感染症を引き起こす DNA ウイルスであり、泌尿生殖器感染としては Ad11 型による出血性膀胱炎や、Ad19 型や Ad37 型による非淋菌性尿道炎 (NGU: Non-gonococcal urethritis)、子宮頸部炎が知られている (医学ウイルス学 第 4 判。White D and Fenner F. 1996)。しかしながら、2000 年頃以降、出血性膀胱炎については、眼感染症定点報告の一環として Ad11 型の検出報告があるものの、泌尿器関連のサーベイランスでは、NGU、子宮頸管炎の原因ウイルスとしての Ad 検出報告が無く、疫学的な流行が全く把握できていない状況にある。全国約 970 ヶ所におよぶ STD (Sexually Transmitted Diseases) 定点における方向では、全数報告である梅毒に加えて性器クラミジア感染症、性器ヘルペスウイルス感染症、尖圭コンジローマ、淋菌感染症の 4 疾患のみが報告対象であり、より積極的な STD サーベイランスの実施が望まれている。この現状は我が国に限らず欧米でも同様であり、わずかに 2007 年にオーストラリアでの NGU 患者サーベイランスにおける Ad スクリーニングの結果のみが報告されており、この結果では NGU 患者の 2% から原因微生物として Ad の検出が報告されている。

## 2. 研究の目的

近年大きな問題となっている非クラミジア性 NGU や、非クラミジア性子宮頸部炎では近年 PCR 法に代表される高感度遺伝子検

出法の開発等により、主な原因菌として、これまで同定が困難であったウレアプラズマやマイコプラズマが同定されている。しかしながらこれらの原因菌による疾患は、難治性であり治療期間が数カ月乃至数年に及ぶ場合があり、また慢性化した状態や、繰り返し頻繁に発症することもある。加えて、原因菌が検出されない場合も多く、病因は不明の場合が多い (性感染症 診断・治療 ガイドライン 2011)。これらの病因の一つとして、Ad 等の影響や共感染の可能性は否定できず、Ad の有無を調査すべきである。

そこで本研究では、膀胱炎のみならず STI における Ad の関与を確認するために、淋菌やクラミジア、マイコプラズマ、ウレアプラズマ、トリコモナス、ヘルペスそして Ad を対象とした網羅的な調査研究を行い、検出できた Ad の血清型や遺伝型について詳細に解析を行い、他の微生物との相関関係や STI における感染 Ad の分子疫学的解析を目指した。

## 3. 研究の方法

STI の中でも特に、尿道炎や子宮頸管炎に着目し、これらの疾患における Ad の寄与を調査した。また、他の主要な原因菌についても同時にスクリーニングし、バクテリアとウイルス感染、疾患との関連を見出すため、検出方法は PCR 法を基とした遺伝子検出系を用いた。また、同時に各種培養細胞を用いたマイコプラズマ、ウイルス分離も行った。用いた細胞は、ヒト肺線癌上皮細胞由来の A549 細胞である。初年度の基盤的な研究として、既に感染症サーベイランスや積極的疫学的調査研究によって採取された検体からの、Ad の DNA 検出と解析を試みた。同時に本研究課題に基づいた研究計画を国立感染症研究所や関連協力機関の倫理審査委員会に提出し、対象として約 200 検体の STI 関連検体(尿)の収集を目指し、

一般的な STI 関連のバクテリア等に加えて Ad も検出可能な遺伝子検査と、培養細胞を用いた分離培養を試みた。

#### 4. 研究成果

「性感染症におけるアデノウイルスの実態調査及び分子疫学的研究」を推進するため、(1) 研究体制の確立 (2) 研究方法の選定、(3) 研究試料の確保 (4) 調査研究の実施と、大きく 4 段階に分けて研究を進めた。

(1) 研究体制の確立では、泌尿器科クリニック及び STI 研究者との連携が確立できた。

(2) 研究方法の選定では、複数種のバクテリアやウイルスを同一反応条件下での PCR 法によって検出し、増幅された DNA 産物をシーケンス解析する一連の検出系を検討し、構築した。既存の臨床検体を用いた検討では、これまでの系と同等に病原体微生物の検出が可能であることがわかった。具体的な検出対象微生物は、Ad: Human adenovirus、Herpesvirus、淋菌: *Neisseria gonorrhoeae*、クラミジア: *Chlamydia trachomatis*、*Chlamydia caviae* (クラミジア属全種)、マイコプラズマ: *Mycoplasma genitalium*、*Mycoplasma hominis*、ウレアプラズマ: *Ureaplasma urealyticum* (biovar2)、*Ureaplasma parvum*、腐性ブドウ球菌: *Staphylococcus saprophyticus*、肺炎レンサ球菌: *Streptococcus pneumoniae*、B 群 溶血性レンサ球菌: *Streptococcus agalactiae*、インフルエンザ菌: *Haemophilus influenzae*、髄膜炎菌: *Neisseria meningitidis*、パラインフルエンザ菌: *Haemophilus parainfluenzae*、ヘモフィリス他: *Haemophilus haemolyticus*、*Atopobium vaginae*、トリコモナス: *Trichomonas vaginalis*、真菌全般であり、

これらの微生物をスクリーニングし、Ad 特異的な症例を調査することとした。また、

(3) 研究試料の確保では、国立感染症研究所倫理審査での承認を経て、泌尿器科クリニック受診患者へ主治医による説明と同意のもと、尿やうがい液検体を収集する体制を確立できた。

(4) 実際のスクリーニングでは、尿道炎関連患者約 200 名分、無症状者コントロール約 100 名分の検体を収集し、検査することが出来た。

以上の結果から、非クラミジア性 NGU の尿検体から、有意に Ad が検出・分離された。同定した Ad の型別解析を行ったところ、Ad56 型が最も多く、次いで Ad37 型であった。Ad37 型は古くから流行性角結膜炎と泌尿器関連疾患に関与することが知られており、現在でも蔓延している状況が確認できた。Ad56 型は新たな遺伝型として報告された型であり、Ad37 型と同様に流行性角結膜炎を引き起こすことが報告されているが、近年、我が国においてはじめて尿道炎に関連することが報告された型であり、本探索においても同様に存在が確認出来た。Ad56 型が Ad37 型よりも多く分離できたことは、新たな遺伝型である Ad の流行が示唆された。今後さらなるスクリーニングの継続によって、より多くの尿道炎関連 Ad の分離同定が期待でき、それらを用いた病原性解析等への展開が期待できた。また、STI における関連病原体の周知等を含めたインターネットを用いた感染症啓発効果に関する検討も進め、広く応用可能な啓発方法も開発し提案した。

#### 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 3 件)

花岡希、伊藤晋、高梨真樹、安田満、出口隆、山岸拓也、藤本嗣人。尿道炎におけ

るアデノウイルスについて。第 27 回 日本性感染症学会学術大会。2014 年 12 月。神戸。

、伊藤晋、安田満、高梨真樹、伊藤貴子、花岡希、前田真一、出口隆。マイコプラズマ、アデノウイルス、単純ヘルペス、脛トリコモナスを含む尿道炎原因微生物の検討。第 27 回 日本性感染症学会学術大会。2014 年 12 月。神戸。

花岡希。インターネットを利用した感染症啓発における要点と課題。第 87 回日本細菌学会総会。2014 年 3 月。東京。

〔その他〕

アデノウイルス解説ページ

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/aden-pfc-m/2110-idsc/4th/4325-adenovirus-page.html>

リケッチア症啓発ページ

<http://www0.nih.go.jp/niid/Rickettsia/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

花岡 希 (HANAOKA, Nozomu)

国立感染症研究所感染症疫学センター  
第四室・研究員

研究者番号：00584517