

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金

(感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)
(英語) Japan Initiative for Global Research Network on Infectious Diseases

補助事業課題名： (日本語) デング熱国内流行阻止のためのデングウイルス及びデング熱媒介蚊
ゲノムデータベースの強化と利用
(英語) Strengthening and effective utilization of the genome database of dengue virus
and its vector mosquitoes for the prevention of dengue epidemic in Japan

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所・昆虫医科学部・部長・沢辺京子
所属 役職 氏名： (英語) Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious Diseases,
Director, Kyoko Sawabe

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語) デング熱媒介蚊のゲノム情報および生物学的情報の収集
(英語) Collection of genome information and biological characteristics of mosquitoes

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

2014年、約70年ぶりにデング熱国内感染例が発生した。デング熱の輸入症例は年々増加し、媒介蚊のヒトスジシマカは広く本州に分布している。今後も同様の事態が発生することが予測されるため、海外流行地の情報を迅速に入手し利用することが必要不可欠となった。本研究では、国内外に散在するデングウイルス及びデング熱媒介蚊のゲノム情報をはじめとする種々情報を積極的に収集・蓄積し、既知のデータベースを強化・推進し、有効に利用することでデング熱の国内流行阻止ならびに流行予測に資することを目的とした。デング熱が国内で発生した場合の対応・対策が可能になるとともに、デング熱流行予測および新規殺虫剤の開発に貢献する。

1. 媒介蚊のゲノム情報および生物学的情報の収集

- 1) 近隣諸国に生息するデング熱媒介蚊のデングウイルス増殖性の評価を継続した。人工吸血装置により蚊への経口感染を行ったが、感染蚊が必要数に達しなかったため、本計画は終了できなかった。今後、蚊の生理状態、ウイルスの増殖性の変化等を考慮して、再度感染実験を行う予定である。
- 2) ベトナム北部 (ハノイ)・高地 (ダクラク省)・南部 (ホーチミン) において、それぞれ住宅周辺と

公園で蚊の生息調査を行った。得られたネッタイシマカ 13 集団、ヒトスジシマカ 24 集団についてペルメトリンに対する殺虫試験を行った。すべてのネッタイシマカおよび一部のヒトスジシマカに抵抗性の個体が見つかった。抵抗性個体のナトリウムチャンネルの塩基配列を解析した結果、ネッタイシマカからは 5 つの抵抗性型ハプロタイプ、ヒトスジシマカからは新規の抵抗性型変異が見つかった。この変異を有するヒトスジシマカを系統化し、殺虫剤感受性の様式を解析中である。

2. デングウイルスのゲノム情報収集

- 1) 昨年度までに確立した次世代シーケンサーを用いたゲノム解析システムにより、デング熱患者 140 以上の検体を次世代シーケンス解析に供し、63 件をデータベース化プラットフォーム GenEpid-J に登録した。また、ベトナム拠点で得られたデングウイルスのゲノム情報の登録も開始した。
- 2) デングウイルス 2 型のコスモポリタン型が侵入すると大きな流行をおこすことがあり、コスモポリタン型を迅速に検出することは有用である。そこで、これまでに実験室診断を実施したデング熱輸入症例患者からウイルス遺伝子を解析し、ウイルス遺伝子データベース可視化ツール Dengue Genograph Viewer (DGV) で分類した結果、アジア・アメリカの遺伝子型はコスモポリタン型同様に「拡大型」である可能性が高いことが明らかになった。
- 3) 2014 年国内流行時に都内公園で捕集されたヒトスジシマカから分離されたデングウイルス 11 株のゲノム全長配列を GenEpid-J に登録した。ベトナムの捕集蚊 6,406 頭のうち、ネッタイシマカとヒトスジシマカ（合計で約 1,400 頭）からウイルス分離を試み、デングウイルスは分離されなかったが、*Aedes flavivirus*、*Goutanap virus* および未分類のウイルス（レオウイルス科）が検出された。

3. ゲノムデータベースの構築と情報公開の基盤整備

- 1) 海外からの来訪者が増えつつある日本において、出来る限り病原体の遺伝型特定を行ない、病原体の由来の特定は重要である。2016 年度は、公開データベースに登録されている全てのデングウイルス配列(1945 -2016 年)を収集し、分離国・地域と血清型および遺伝型としてデータベース化し Google Maps 上で表現できるよう作成した。
- 2) デングウイルスは遺伝型ごとに分布域が制限されており、媒介蚊となる蚊の種類が生息域も制限されることが改めて明瞭になる俯瞰図の描画ツール Dengue Genograph Viewer (DGV) を開発した。さらに、媒介蚊のゲノムデータベースを構築するため、対象となるゲノム領域の特定と簡易 genotyping への応用に関する情報解析に着手し、媒介蚊の種類と生息域等の地域特性を併せて地図上に表示する機能の準備ができた。

II. Summary of results (Overall Research Report)

In 2014, autochthonous dengue cases occurred in Japan after approximately 70 years. Imported cases of dengue fever have been increasing year by year and the dengue vector mosquito, *Aedes albopictus*, has been widely distributes south of Honshu district. Because similar incidents are expected to occur in the future, it is essential to promptly obtain information from endemic areas worldwide. In FY2016, we collected genome information on dengue virus (DENV) and dengue vector mosquitoes from both domestic and international sources. We aim to contribute to epidemic prediction and prevention of dengue fever in Japan by strengthening and promoting the known database and using this database effectively. Achieving these goals would allow for response measures upon occurrence of dengue fever in Japan, contributing to epidemic prediction of dengue fever and the development of new insecticides.

1. Collection of genome information and biological characteristics of dengue vector mosquitoes

- 1) We continued evaluating the susceptibility of DENV on vector mosquitoes inhabiting neighboring countries. We performed oral infection of DENV to mosquitoes using an artificial blood feeding system. However, this plan could not be completed within FY2016, because enough numbers of infected mosquitoes were not prepared. In the future, we will perform the infection experiment again considering the physiological condition of mosquitoes and changes in viral proliferation.

- 2) We surveyed mosquito habitats in residential areas and parks in northern Vietnam (Hanoi), the highlands (Dak Lak province), and southern Vietnam (Ho Chi Minh). We performed an insecticide-resistant assay for 13 *Ae. aegypti* and 24 *Ae. albopictus* against pyrethroid insecticide, permethrin. All *Ae. aegypti* and some *Ae. albopictus* showed resistant to the permethrin. Analysis of the nucleotide sequence of sodium channels of resistant individuals revealed 5 resistant haplotypes in *Ae. aegypti* and new amino acid substitutions in *Ae. albopictus*. We colonized *Ae. albopictus* with this substitutions and are analyzing insecticide susceptibility.

2. Collection of genome information of DENV

- 1) Using a genome analysis system with a next-generation sequencer developed previously, we analyzed 140 human-derived samples with dengue fever and registered 63 cases on a database platform, GenEpid-J. Furthermore, we began registering genome information of DENV obtained in Vietnam under the cooperation of NEKKEN, Nagasaki University.
- 2) Invasion of DENV serotype 2 (DENV-2) cosmopolitan genotype may cause to a large outbreak, thus, it is important to detect it as promptly as possible. We analyzed the viral genes of DENV obtained from patients with imported cases for whom laboratory diagnosis was performed. Classification using a DENV genome database visualization tool, Dengue Genograph Viewer (DGV) showed that Asian and American genotypes of DENV were likely “expanded types” that were similar to the DENV-2 cosmopolitan genotype.
- 3) We registered 11 complete genome sequences of DENV isolated from *Ae. albopictus* captured in parks in Tokyo Metropolis during the 2014 outbreak in Japan in GenEpid-J. We attempted to isolate DENV from a total of 1,400 *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* out of 6,406 mosquitoes captured in Vietnam. Although DENV was not isolated, *Aedes flavivirus*, Goutanap virus, and an unclassified virus (family *Reoviridae*) were detected.

3. Construction and utilization of the genome database integrating DENV and its vector mosquitoes

- 1) As the number of foreign visitors in Japan is increasing, it is important to identify the genotypes and origins of pathogens as much as possible. In FY2016, we collected all DENV sequences registered in the published database (1945–2016), created a database of countries and regions in which the virus was isolated, and documented the serotypes and genotypes for display on Google Maps.
- 2) We developed DGV which clearly shows the limited distribution of each DENV genotype and habitats of the vector mosquitoes. Furthermore, to develop a genome database of vector mosquitoes, we simplified information analysis for easy genotyping and specification of a target genomic region. We prepared a function to evaluate regional characteristics such as species of vector mosquitoes and their habitats, which is displayed on the map.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 4 件、国際誌 0 件）

1. 前川芳秀, 小川浩平, 駒形修, 津田良夫, 沢辺京子. 日本産蚊の分子生物学的種同定のための DNA バーコードの整備. 衛生動物, 2016, 67(3), 183-198.
2. 前川芳秀, 津田良夫, 沢辺京子. 日本産蚊の国内分布に関する全国調査. 衛生動物, 2016, 67(1), 1-12.
3. 沢辺京子. コラム 1, 海外から侵入する蚊媒介感染症とそのベクター. 日本昆虫科学連合編. 「招かれぬ虫たちの話ー虫がもたらす健康被害と害虫管理ー」. 東海大学出版部, 2017, pp. 20-25.
4. 沢辺京子. IV. 特論, 蚊媒介感染症の予防と対策. 特集「新興・再興感染症ーグローバル化に伴う注目すべき感染症ー」, 日本臨牀, 日本臨牀社, 2016, 74(12), 2057-2063.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ベトナム・ハノイ市における都市部と農村部の蚊相調査, ポスター, 前川芳秀, 葛西真治, Nguyen TY, Tran VP, 沢辺京子, 第 57 回日本熱帯医学会大会, 2016/11/5-6, 国内.
2. ガーナ共和国における疾病媒介節足動物の採集調査ならびに保有ウイルスの解析, ポスター, 小林大介, 伊澤晴彦, 藤田龍介, Joseph O, Esinam A, Kofi B, Samuel D, 沢辺京子, 大橋光子, 太田伸生, 第 57 回日本熱帯医学会大会, 2016/11/5-6, 国内.
3. 都会の蚊とどう向き合うか?, 口頭, 沢辺京子, 第 57 回日本熱帯医学会大会市民公開講座「蚊がもたらす感染症から身を守る」, 2016/11/5-6, 国内.
4. デング熱等蚊媒介感染症と媒介蚊について, 口頭, 沢辺京子, 日本内科学会学術集会第 44 回内科学の展望, 内科領域におけるウイルス感染症～ウイルス感染症に対する最新の知識と治療～, 2016/11/27, 国内.
5. The 2014 dengue outbreaks in Japan and vector control after the dengue, SAWABE K, Arbovirus Symposium, 2017/3/8-9, 海外 (レシフェ市, ブラジル).
6. デング熱・ジカ熱国内流行阻止に向けた媒介蚊対策, 口頭, 沢辺京子, 新興・再興感染症制御プロジェクト新興再興事業・J-GRID 合同シンポジウム「感染症研究連携のフロンティア」, 2017/3/16, 国内.
7. 媒介蚊対策の最前線, デング熱・ジカウイルス感染症対策の現状と将来展望, 口頭, 沢辺京子, 第 61 回日本応用動物昆虫学会大会シンポジウム「人間社会と虫」, 2017/3/27-29, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 媒介蚊および蚊媒介感染症対策についてーデング熱・ジカウイルス感染症の話題ー, 沢辺京子, 埼玉県媒介蚊対策研修会, 2016/5/9, 国内.
2. 蚊およびマダニ調整法の実際と各検体の取り扱い, 沢辺京子, H28 年度蚊類調査に係る技術研

修, 2016/5/30, 国内.

3. 蚊媒介性感染症の現状と対策－ジカ熱・デング熱等の対策－沢辺京子, 新潟市ねずみ・昆虫等研究会, 2016/6/1, 国内.
4. ウイルス媒介蚊とその対策, 沢辺京子, 国立感染症研究所戸山庁舎安全連絡協議会, 2016/9/14, 国内.
5. 蚊媒介感染症対策と蚊の防除, 沢辺京子, 平成 28 年度感染症対策講習会, 2016/11/17, 国内.
6. 蚊およびマダニからの病原体検出法について, 沢辺京子, 地方衛生研究所地域リファレンスセンター連絡会議, 2016/11/29, 国内.
7. 蚊やマダニが媒介する感染症の流行拡大と日本における感染リスク, 沢辺京子, 2016 年度ユネスコ協会シンポジウム「国際都市と感染症」, 2017/1/27, 国内.

(4) 特許出願

該当なし

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金

(感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)
(英語) Japan Initiative for Global Research Network on Infectious Diseases

補助事業課題名： (日本語) デング熱国内流行阻止のためのデングウイルス及びデング熱媒介蚊
ゲノムデータベースの強化と利用
(英語) Strengthening and effective utilization of the genome database of dengue virus
and its vector mosquitoes for the prevention of dengue epidemic in Japan

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所・昆虫医科学部・第三室室長・葛西真治
所属 役職 氏名： (英語) Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious
Diseases, Head, Shinji Kasai

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語)
(英語)

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業代表者： 国立感染症研究所・昆虫医科学部・沢辺京子 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2件、国際誌 0件)

1. 葛西真治. ヒトスジシマカの殺虫剤抵抗性. ペストコントロール, 2016, 175, 9-13.
2. 葛西真治. 13章, 作用点の変異による衛生害虫の殺虫剤抵抗性機構. 日本昆虫化学連合編.
「招かれない虫たちの話」. 東海大学出版部, 2017, pp. 179-195.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. KASAI S, Metabolic and target site resistance to pyrethroids, Symposium: Duplications, Deletions,

and Other Mutations: Deciphering the Molecular Basis of Insecticide Resistance, XXV International Congress of Entomology, 2016/09/27, 海外（フロリダ，アメリカ合衆国）.

2. KASAI S, Genetics of insecticide resistance: target site modifications, International Workshop on Insecticide Resistance in Vectors of Emerging Arboviruses, 2016/12/05, 海外（リオデジャネイロ，ブラジル）.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 「意外と知られていない蚊の秘密」クイズ形式の講演，葛西真治，国立感染症研究所一般公開，2016/10/01，国内（新宿区）
2. 「これであなたも蚊の博士」武蔵村山市立雷塚小学校出前授業，葛西真治，2017/02/24，国内（武蔵村山市）

(4) 特許出願

該当なし

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金

(感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)
(英語) Japan Initiative for Global Research Network on Infectious Diseases

補助事業課題名： (日本語) デング熱国内流行阻止のためのデングウイルス及びデング熱媒介蚊
ゲノムデータベースの強化と利用
(英語) Strengthening and effective utilization of the genome database of dengue virus
and its vector mosquitoes for the prevention of dengue epidemic in Japan

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所・ウイルス第一部・主任研究官・中山絵里
所属 役職 氏名： (英語) Department of Virology I, National Institute of Infectious Diseases,
Senior Researcher, Eri Nakayama

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語)
(英語)

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業代表者： 国立感染症研究所・昆虫医科学部・沢辺京子 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 1 件、国際誌 4 件)

1. NAKAYAMA E, KOTAKI A, TAJIMA S, KAWADA M, MIURA K, GEMMA A, ADACHI T, SEKIZUKA T, KATO K, YAMASHITA A, MOI ML, IKEDA M, YAGASAKI K, SHIBASAKI K, SAIJO M, KURODA M, TAKASAKI T. Two different dengue virus strains in the Japanese epidemics of 2014. *Virus Genes*. 2016, 52(5), 722-726.
2. TSUBOI M, KUTSUNA S, KATO Y, NAKAYAMA E, SHIBASAKI K, TAJIMA S, TAKASAKI T,

KATANAMI Y, YAMAMOTO K, TAKESHITA N, HAYAKAWA K, KANAGAWA S, OHMAGARI N. Autochthonous Chikungunya Fever in Traveler Returning to Japan from Cuba. *Emerging Infectious Diseases*. 2016, 22(9), 1683-1685.

3. KUTSUNA S, KATO Y, NAKAYAMA E, TANIGUCHI S, TAKASAKI T, YAMAMOTO K, TAKESHITA N, HATAKAWA K, KANAGAWA S, OHMAGARI N. A case of consecutive infection with Zika virus and Chikungunya virus in Bora Bora, French Polynesia. *Journal of Infectious Chemotherapy*. 2017, 23(2), 114-116.
4. TAKAYA S, KUUTSUNA S, NAKAYAMA E, TANIGUCHI S, TAJIMA S, KATANAMI Y, YAMAMOTO K, TAKESHITA N, HAYAKAWA K, KATO Y, KANAGAWA S, OHMAGARI N. Chikungunya Fever in Traveler from Angola to Japan, 2016. *Emerging Infectious Diseases*. 2017, 23(1), 156-158.
5. 中山絵里, 高崎智彦. 蚊が媒介するウイルス感染の我が国への脅威と今後 (デング、チクングニア、ジカ). *感染・炎症・免疫*. 2016, 46(3), 59-62.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金
(感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 感染症研究国際展開戦略プログラム
(英語) Japan Initiative for Global Research Network on Infectious Diseases

補助事業課題名： (日本語) デング熱国内流行阻止のためのデングウイルス及びデング熱媒介蚊
ゲノムデータベースの強化と利用
(英語) Strengthening and effective utilization of the genome database of dengue virus
and its vector mosquitoes for the prevention of dengue epidemic in Japan

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所・ウイルス第一部・主任研究官・田島茂
所属 役職 氏名： (英語) Department of Virology I, National Institute of Infectious Diseases,
Senior Researcher, Shigeru Tajima

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語)
(英語)

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業代表者： 国立感染症研究所・昆虫医科学部・沢辺京子 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 3 件)

1. NAKAYAMA E, KOTAKI A, TAJIMA S, KAWADA M, MIURA K, GEMMA A, ADACHI T, SEKIZUKA T, KATO K, YAMASHITA A, MOI ML, IKEDA M, YAGASAKI K, SHIBASAKI K, SAIJO M, KURODA M, TAKASAKI T. Two different dengue virus strains in the Japanese epidemics of 2014. *Virus Genes*. 2016, 52(5), 722-726.
2. TSUBOI M, KUTSUNA S, KATO Y, NAKAYAMA E, SHIBASAKI K, TAJIMA S, TAKASAKI T,

KATANAMI Y, YAMAMOTO K, TAKESHITA N, HAYAKAWA K, KANAGAWA S, OHMAGARI N. Autochthonous Chikungunya Fever in Traveler Returning to Japan from Cuba. Emerging Infectious Diseases. 2016, 22(9), 1683-1685.

3. TAKAYA S, KUUTSUNA S, NAKAYAMA E, TANIGUCHI S, TAJIMA S, KATANAMI Y, YAMAMOTO K, TAKESHITA N, HAYAKAWA K, KATO Y, KANAGAWA S, OHMAGARI N. Chikungunya Fever in Traveler from Angola to Japan, 2016. Emerging Infectious Diseases. 2017, 23(1), 156-158.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金

(感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 感染症研究国際展開戦略プログラム (J-GRID)
(英語) Japan Initiative for Global Research Network on Infectious Diseases

補助事業課題名： (日本語) デング熱国内流行阻止のためのデングウイルス及びデング熱媒介蚊
ゲノムデータベースの強化と利用
(英語) Strengthening and effective utilization of the genome database of dengue virus
and its vector mosquitoes for the prevention of dengue epidemic in Japan

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター・
センター長 黒田誠

所属 役職 氏名： (英語) Pathogen Genomics Center, National Institute of Infectious Diseases,
Director, Makoto Kuroda

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語)
(英語)

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業代表者： 国立感染症研究所・昆虫医科学部・沢辺京子 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 3 件)

1. NAKAYAMA E, KOTAKI A, TAJIMA S, KAWADA M, MIURA K, GEMMA A, ADACHI T, SEKIZUKA T, KATO K, YAMASHITA A, MOI ML, IKEDA M, YAGASAKI K, SHIBASAKI K, SAIJO M, KURODA M, TAKASAKI T. Two different dengue virus strains in the Japanese epidemics of 2014. *Virus Genes*. 2016, 52(5), 722-726.
2. YAMASHITA A, SAKAMOTO T, SEKIZUKA T, KATO K, TAKASAKI T, KURODA M. DGV:

Dengue Genographic Viewer. Front Microbiology, 2016, 7, 875.

3. YAMASHITA A, SEKIZUKA T, KURODA M. VirusTAP: Viral Genome-Targeted Assembly Pipeline. Front Microbiology, 2016, 2, 7:32.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 病原体メタゲノムデータベース構築と疫学への利用：デング熱を例にして，口頭，黒田誠，ウイルス性下痢症研究会第28回学術集，会 2016/10/22，国内.
2. DGV: Dengue Genographic Viewer. Yamashita A, SEKIZUKA T, KATO K, TAKASAKI T, KURODA M. Jonit International Tropical Medicine Meeting, 2016/12/07, 国外（タイ）.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 病原体ゲノム～微生物ゲノミクスと公衆衛生学的活用～，黒田誠，知の市場，2016/05/10，国内.

(4) 特許出願

該当なし