

## 学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
谷口博理	主査 教授 佐野 浩 一 副査 教授 河野 公 一 副査 教授 勝 健 一 副査 教授 清水 章 副査 教授 玉井 浩
主論文題名  Sentinel surveillance for international <i>Shigella</i> by a quarantine station in Japan (日本国の検疫所で行う国外赤痢サーベイランス)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究の目的》</p> <p>細菌性赤痢は発展途上国のみならず、先進国においても見られる腸管感染症で、日本では半数以上が輸入赤痢である。各国で行われている細菌性赤痢のサーベイランスは、分離・同定方法が異なるため国際的に比較検討することは困難である。近年、インターネット上で分離菌株の <b>restriction fragment length polymorphism (RFLP)</b> を比較検討するパルスネットシステムが開発されたが、<b>quality control</b> が難しく未だ完全に整備できていないのが現状である。日本の検疫所は様々な国由来の赤痢菌を単一機関で収集でき、しかも分離方法が一定しているため菌株を国際的に比較できると考えられる。また、検疫所で得られる菌株は日本から単一国を渡航した旅行者に由来するものが多く、感染国を容易に推定できる。そこで申請者は日本の検疫所で分離される赤痢菌株の異同を検討することで、国際的なサーベイランスを行うことが出来るのではないかと考え、その仮説を明らかにすることを目的とした。</p> <p>《材料と方法》</p> <p>対象: 2002 年に関西国際空港に入国した旅行者について検疫法などに基づいて得た疫学的情報を対象とした。</p> <p>赤痢菌の分離と同定: 赤痢菌の分離には公定法を用いた。すなわち、旅行者から糞便を採取し、SS 寒天培地(栄研化学)、TSI 培地および LIM 培地(栄研化学)で分離・確認培養し、生化学的性状検査および血清学的検査によって同定した。</p> <p>DNA の抽出とパルスフィールド電気泳動: CHEF バクテリア用ゲノム抽出キットにて抽出した DNA を制限酵素 <i>Xba</i>I および <i>Sfi</i>I にて消化した後、パルスフィールド電気泳動し、SYBR Green にて蛍光染色写真撮影した。菌株タイピングの判定基準には Tenover らの基準を準用し、菌株間の関連性を決定した。Tenover らは 2 種類以上の制限酵素を用いた場合の基準について述べていないので、最終判断には <i>Xba</i>I および <i>Sfi</i>I の両者の結果が一致するものを採用し、一致しないものについてはより関連性が低いと考えられる結果を採用した。</p>	

#### 《結 果》

2002年関西国際空港に到着した旅行者のうち有症者は22,282名であった。この中で13,315名に下痢症が見られた。そのうち5,080名が検疫所で糞便検査を受け、65名から赤痢菌65株が分離された。感染推定国が容易に判定できる1国のみからの訪問者から分離された48株の亜群は *Shigella dysenteriae* 1株、*S. flexneri* 2株、*S. boydii* 2株、*S. sonnei* 43株であった。*S. sonnei*は解析に足る株数が分離されていた。

そこで、異なる国に存在する菌株の RFLP パターンを解析しその異同を検出できるか否かを明らかにするために、*S. sonnei* 43株の中から5株を無作為に抽出し RFLP パターンを比較した。その結果、5株のうち1組が **closely related** であり、3組が **possibly related** であった。**Closely related** の赤痢菌はA国とB国に由来し、**possibly related** はA国とC国、B国とD国、C国とB国に由来するものであることを明らかにした。

#### 《考 察》

本研究では関西空港検疫所で分離した分離菌株を用いて複数国に極めて近縁の赤痢菌が存在していることを示し、日本の検疫所で分離した赤痢菌株を用いて国際的な疫学が可能であることを明らかにした。**Closely related** の関係にある菌株の由来するA国とB国、**possibly related** の関係にある菌株の由来するA国とC国、B国とD国、C国とB国は互いに海洋によって隔てられているか直接国境を接していないことから、それぞれの国に由来する近縁関係にある赤痢菌は河川や地下水の汚染によって広がっているのではなく、これらの国の間に赤痢菌に汚染された食品や感染した人の移動があるものと推定された。

近年、多施設間の RFLP パターン解析結果を比較検討できるパルスネットシステムが整備されつつある。このシステムを実用化するには各施設間での技術の標準化が必要であるが、発展途上国では困難なことが多い。分離された菌の疫学および細菌学的性状を解析することで菌株の国際的なサーベイランスが可能であることは予測できる。しかし実際にこのような比較を行った例はなかった。本研究では、日本の検疫所がこのような国際的な疫学の一端を解析できることを明らかにしたものである。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	谷 口 博 理
論文審査担当者		主 査 教 授 佐 野 浩 一 副 査 教 授 河 野 公 一 副 査 教 授 勝 健 一 副 査 教 授 清 水 章 副 査 教 授 玉 井 浩	
主論文題名			
Sentinel surveillance for international <i>Shigella</i> by a quarantine station in Japan (日本国の検疫所で行う国外赤痢サーベイランス)			
論文審査結果の要旨			
<p>細菌性赤痢は東南アジア諸国等に常在し日本では入国者増加に伴い輸入赤痢例が多く見られる。細菌性赤痢のサーベイランスは各国ごとに行われているが、分離・同定方法などが異なるため各国で分離された菌株を国際的に比較することは困難である。日本の検疫所では有症入国者から種々の病原細菌を一定の方法で分離している。その入国者の多くは1国のみを訪問し帰国するものが多いことから分離された病原細菌の感染国は容易に推定できる。申請者はこの分離菌を用いて日本の検疫所で国際的な赤痢サーベイランスが出来るとの仮説を立て、分離した赤痢菌 <i>Shigella sonnei</i> を用いてパルスフィールド電気泳動による restriction fragment length polymorphism (RFLP) パターンを Tenover らの基準に準じて解析した。その結果、直接国境を接しない東南アジア諸国に RFLP 上極めて近縁の <i>S. sonnei</i> が存在することを示し、少なくとも <i>S. sonnei</i> について赤痢菌の国際的サーベイランスを日本にしながらに示した。さらに、東南アジア諸国間では河川や地下水の汚染のみならずヒトや食品などによって地理的な遠隔地に <i>S. sonnei</i> が移動している可能性を示唆した。</p> <p>以上の結果は日本の検疫所が赤痢菌の国際的なサーベイランスの一端を解析できることを明らかにしたもので、今後の感染症疫学の実践に資するものである。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Epidemiology and Infection 133(4): 611-615, 2005</p>			