

氏名	ムエン タン ヤー NGUYEN Thanh Gia
本籍（国籍）	ベトナム
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第 716 号
学位授与年月日	平成 30 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物環境科学
学位論文題目	Risk assessment of norovirus infection considering indirect impacts of seasonal flood in Southeast Asia（東南アジアにおける季節性洪水の間接影響を考慮したノロウイルス感染リスク評価）
学位審査委員	主査 山形大学教授 渡部 徹 副査 渡邊 一哉（山形 准教授），坂元 君年（弘前 准教授）， 颯田 尚哉（岩手 教授）

論文の内容の要旨

Floods are not only the dangerous disaster situation threatening human lives, but they also can pose additional risks for human health. Less attention has been paid to indirect health impacts of floods such as health problems than direct impacts (e.g. loss of life, destructions of property and agricultural crops). This is due to difficulty to prove the damage to human health via indirect routes such as contaminated water and food, although floods are likely to impact on human health physically and psychologically. In terms of physical health impacts, floods are potentially able to cause gastroenteritis diseases outbreaks. While norovirus (NoVs) is well known as a leading causal pathogen for acute gastroenteritis in developed countries, structured data on the prevalence of the disease in developing countries are not available thus far. Oysters are often associated with NoV infection due to its feature to accumulate the virus from surrounding water environment. If oysters are contaminated by NoVs transported from urban area by floodwater, urban flood potentially increases the risk of foodborne diseases by consuming oysters. On the other hand, based on the above feature, NoV contamination in oysters was reported to be well correlated to number of cases of gastroenteritis in some developed countries. In terms of psychological impact, in some areas of developing countries hit by flooding frequently, people seem to adapt their lives to the floodwater so well. As an indicator of the psychological impact, people's feeling to a disease is important in the estimation of its burden but this relationship has not been investigated especially for common diseases with a low fatality.

Hue City, located in central of Vietnam, is known as a flood city. About two-thirds of the city's residents are likely exposed to flooding when a heavy rainy occurs. Since the city has no wastewater treatment plant, domestic wastewater is discharged directly into drainage channels, although a part of wastewater passes through septic tanks. The

channels flow directly into the Perfume River. Oysters cultivated in the downstream of the river are probably affected by contaminants from the city where urban flooding occurs regularly. This area has potential to show indirect impacts of flood as above described and so it was selected for the field of this study. The present study aims (1) to estimate the prevalence of NoVs in cases of acute gastroenteritis in developing countries; (2) to reveal the epidemic of gastroenteritis in Hue city by monitoring NoV contamination in oysters collected in a downstream lagoon; (3) to assess the risk of NoV infection due to the contaminated oysters; (4) to test the hypothesis that frequent exposures to flood can change the feeling about gastroenteritis; and (5) to propose a new method to estimate burden of gastroenteritis considering the feeling about the disease.

To estimate the prevalence of NoVs in developing countries, relevant studies were identified by searching PubMed and Web of Science for the period from January 1, 1990 through March 31, 2016. Studies performed in developing countries with a study period of at least 12 months and which provided information on PCR-confirmed NoVs prevalence in patients diagnosed with acute gastroenteritis were included. A meta-analysis was conducted on NoVs prevalence, focusing on viral genogroups GI and GII, in cases of acute gastroenteritis. Using evidence from 178 articles, the estimated NoVs prevalence among 148,867 patients with acute gastroenteritis was 17% (95% CI: 15-18%). The prevalence decreased from 18% (95% CI: 16%-20%) for upper middle-income countries to 15% (13%-18%) and 6% (3%-10%) for lower middle- and low-income countries, respectively. There were no significant differences in NoVs prevalence by age group (under 5 years, 5 years and over, and mixed ages) or severity of symptoms as defined by community, outpatient, or inpatient setting. The pooled prevalence of NoV GII (15%, 95% CI: 13-17%) was significantly higher than that of NoV GI (1%, 95% CI: 1-1%) in patients with acute gastroenteritis.

As a potential indicator for the epidemic of gastroenteritis in Hue city, the level of NoV contamination in oysters collected in the lagoon receiving urban drainage from Hue City for 17 months (August 2015 to December 2016) was investigated. A total of 34 oyster samples were collected at two sampling sites in the lagoon. NoV GI was more frequently detected than GII (positive rate 79% vs. 41%). Maximum concentrations of GI and GII were 2.4×10^5 and 2.3×10^4 copies/g, respectively. Co-contamination with GI and GII was observed in 35% of samples. NoV GII concentration was higher at station A in the flood season than in the dry season ($P= 0.04$, Wilcoxon signed-rank test). Six genotypes (GI.2, GI.3, GI.5, GII.2, GII.3, and GII.4) were identified in both wastewater and oyster samples, and genetically similar or identical sequences were obtained from the two types of samples. These observations suggest that urban drainage and seasonal flooding contribute to NoVs contamination of oysters in the downstream. On the other hand, due to this impact of flood, monitoring of NoVs concentration in oysters seemed ineffective to reveal the epidemic of gastroenteritis in the city. Estimated risk of NoV infection due to consuming oysters harvested in the lagoon was quite high (36.3 to 72.2%).

As another indirect impact of flood, its psychological impact on human health was

investigated by a cross-sectional study involving 293 people living in flooding areas and 365 people in non-flooding areas in T. T. Hue province, Vietnam, and three provinces in Cambodia. A questionnaire was developed for this investigation. As the result, the participants felt that diarrhea, severe diarrhea, cough, fever, skin problems, and eye problems happened more frequently during/after flooding. The feeling about all those diseases of the people living in the flooding areas, except eye problems, was significantly different from that of the people living in non-flooding areas in Cambodia ($P < 0.05$). The same results were observed in Vietnam for diarrhea and cough. In Vietnam, factors associated with the feeling about diseases that happened more frequently during and after flood, were age and education. According to this finding, a new method was proposed to incorporate psychological impact of floods into health burden of gastroenteritis, which was estimated by Disability Adjusted Life Years (DALYs), by modifying the disability weight.

Overall, the findings from the study demonstrated that seasonal floods were able to adversely cause indirect impacts on human health not only physically but also psychologically. The prevalence of NoVs in patients with acute gastroenteritis in developing countries was 17%. The urban drainage surely contributed to the oyster contamination with NoVs in the study area however there was no significant correlation between NoV concentration in oysters and the number of diarrhea cases recorded in the largest hospital in the city during the study period. This is due to poor surveillance system in Vietnam as well as virus transportation enhanced by flood. A considerable risk of NoV infection due to consuming oysters contaminated with NoVs induced by flood-water mixed with domestic wastewater from Hue City was noticeable. Also, our findings suggest that, among those living in the flooding areas, floods can change their feelings to gastroenteritis. More supports to those who are frequently affected by floods with considering of the change of their feelings could contribute to reduction of adverse impacts of floods.

【和訳】

洪水は、人命を脅かす危険な災害であるだけでなく、それに接触する人々に疾病のリスクももたらす。洪水の直接的な影響（例：人命の損失、財産や農産物の喪失）に比べて、健康問題のような洪水の間接的な健康影響には、これまで注目がされてこなかった。これは、洪水が人の健康に身体的および心理的な影響を与えそうであるにも関わらず、汚染された水や食品のような間接的な経路での人の健康への損害を立証することが難しいためである。身体的な健康影響という点では、洪水は潜在的に胃腸系疾患の流行を引き起こすことがある。ノロウイルス（NoV）は、先進国での急性胃腸炎の主たる原因病原体として良く知られているが、途上国でのこの疾病の罹患率に関する構造化されたデータは、現在のところ利用可能でない。牡蠣は、ウイルスをため込みやすい性質により、NoV感染にしばしば関連づけられる。牡蠣が洪水により都市域から運ばれてきたNoVに汚染されるとすれば、都市洪水は牡蠣の喫食による食中毒のリスクを増加させる。一方で、幾つかの先進国では、牡蠣のこの性質にもとづいて、牡蠣のNoV汚染が胃腸炎の患者数とよく相関することが報告されている。心理的な影響に関しては、洪水に頻繁に見舞われる地域では、人々は洪水にうまく生活を適応させているように見える。疾病負荷を推定するために、疾病に対する感覚は重要であるものの、特に胃腸炎のように

死亡率が低く、ありふれた疾病に対してこの関係について研究が行われてこなかった。

ベトナム中部に位置するフエ市は、洪水に見舞われる都市として有名である。豪雨が起ると、都市住民の約3分の2が洪水に曝される。フエ市には下水処理場がないため、都市下水は直接（一部は浄化槽を通過して）、排水路に放流される。その排水路はパフューム川につながっている。その川の下流に生息する牡蠣は、洪水が定期的に起こる都市からの汚染物質による影響を受けているだろう。上記の背景のもとで、この都市を本研究のフィールドに選定した。この研究の目的は、(1)途上国における急性胃腸炎の患者の中で NoV 罹患率を推定すること、(2)下流のラグーンで牡蠣の NoV 汚染をモニタリングすることで、この地域の胃腸炎流行を明らかにすること、(3)汚染された牡蠣を食べることによる NoV 感染のリスクを評価すること、(4)洪水に頻繁に見舞われることで胃腸炎に対する感覚が変わるという仮説を検証すること、そして、(5)胃腸炎に対する感覚を考慮した胃腸炎による疾病負荷の推定手法を提案することである。

途上国における NoV 罹患率を推定するために、1990 年 1 月から 2016 年 3 月までに発表された関連研究を、PubMed と Web of Science から同定した。少なくとも 12 ヶ月に渡って途上国で行われた研究で、急性胃腸炎と診断された患者の中での PCR で確認された NoV 罹患率に関する情報を提供している研究が選ばれた。急性胃腸炎の患者の中で、遺伝子群 GI と GII に着目しながら、NoV 罹患率に関するメタ解析が行われた。178 の論文からのエビデンスを用いて、148,867 人の患者の間での NoV 罹患率は 17% (95%CI: 15-18%) と推定された。罹患率は、中程度で上位の所得の国の 18% (16-20%) から、中所得で下位の 15% (13-18%)、低所得の 6% (3-10%) に低下した。年齢層や症状の重さによる NoV 罹患率の違いはなかった。急性胃腸炎患者の間でプールされた NoV GII の罹患率 (15%、95% CI: 13-17%) は、NoV GI のそれ (1%、95% CI: 1-1%) よりも有意に高かった。

幾つかの先進国ではその有効性が報告されていることから、フエ市における胃腸炎流行の潜在的な指標として、同市からの下水を受容するラグーンで採取された牡蠣の NoV 汚染レベルを 17 ヶ月間 (2015 年 8 月～2016 年 12 月) に渡って調査した。ラグーンの 2 地点で 1 回に 34 個の牡蠣試料を採取した。NoV GI (検出率 79%) は NoV GII (41%) よりも高い頻度で検出された。GI および GII の最大濃度は、それぞれ 2.4×10^5 および 2.3×10^4 copies/g であった。35%の試料では、両方の遺伝子群が検出された。河口に近い地点での NoV GII の濃度は雨季に乾季よりも高かった ($p=0.04$)。牡蠣試料と都市下水試料の両方から 6 つの遺伝子型 (GI.2、GI.3、GI.5、GII.2、GII.3、GII.4) が同定され、2 つの試料からは類似した、あるいは同一の遺伝子配列が得られた。この結果は、都市下水と洪水が、下流での牡蠣の NoV 汚染に貢献していることを示している。一方で、この洪水による影響のために、牡蠣の NoV 濃度のモニタリングは、この地域の胃腸炎流行を明らかにするには効果的ではないようであった。なお、このラグーンで採取された牡蠣を食べることによる NoV 感染のリスク推定値は非常に高かった (1 ヶ月のリスクとして 0.36～0.72)。

もう 1 つの洪水の間接影響として心理面への影響を、ベトナムのフエ省とカンボジアの 3 つの県において、洪水域の住民 293 人と非洪水域の住民 365 人を巻き込んだクロスセクショナル研究によって調査した。この調査のために、質問票を作成した。参加者は、洪水の間あるいは洪水後に、下痢症、ひどい下痢症、風邪、熱、皮膚病、眼病がより多く発生すると感じていた。これらの疾病に対する感覚は、眼病を除いて、カンボジアでは洪水域の住民と非洪水域の住民の間で有意に異なっていた。ベトナムでの調査でも、下痢症と風邪に関して同じ結果が得

られた。これらの結果は、洪水の経験が、疾病に対する感覚を変化させることがある事実を示している。なお、ベトナムにおいては年齢と教育が、洪水によって疾病に対する感覚を変えるときの影響因子として見いだされた。この知見にしたがって、胃腸炎による疾病負荷（障害調整損失年（DALYs）で推定される）に洪水による心理的な影響を組み込む新しい方法を提案した。

全体的に見て、本研究からの知見は、季節的な洪水が人間の身体的な健康だけでなく心理的にも間接影響を与えうることを示した。途上国の急性胃腸炎の患者の中での NoV の罹患率は 17% であり、先進国と同等のレベルにあった。フエ市では、都市排水が確かに牡蠣の NoV 汚染に貢献していたが、牡蠣の NoV 濃度と下痢症患者数に相関はなかった。これは、ベトナムにおける貧弱なサーベイランスシステムと、洪水によって促進されるウイルスの輸送によるものである。フエ市からの下水が混じった洪水が運んだであろう NoV に汚染された牡蠣を食べることによる高い感染リスクは、特筆すべきものであった。また、我々の知見は、洪水が起こる地域の住民の間で、洪水が胃腸炎に対する感覚を変化させることを示した。洪水に頻繁に見舞われる人々に対するこの感覚の変化に配慮した支援は、洪水の健康影響の低下に貢献するだろう。

論文審査の結果の要旨

洪水は、人命を脅かす危険な災害であるだけでなく、それに接触する人々に疾病のリスクももたらす。洪水の直接的な影響（例：人命の損失、財産や農産物の喪失）に比べて、健康問題のような間接的な影響には、これまで注目されてこなかった。洪水時や洪水後には胃腸系疾患が流行することがあり、先進国での報告例を参考にすると、胃腸炎の原因にノロウイルス

(NoV) が挙げられる。特に、NoV を蓄積する性質がある牡蠣は、洪水時に都市域から運ばれる NoV によって容易に汚染され、牡蠣の喫食による感染のリスクは高まることが疑われる。一方、洪水が頻発する地域では、人々は洪水に適応して生活しているように見える。洪水にとまなう胃腸炎に対しても、たびたび経験することで負担感が小さくなっていることが予想される。本研究では、ベトナムのフエ市をフィールドに、洪水の間接影響（食品汚染、胃腸炎に対する心理的変化（慣れ））を考慮しながら、NoV 感染のリスクを評価した。

1. フエ市を含む途上国における NoV 罹患率を推定するために、1990 年 1 月から 2016 年 3 月までに発表された関連研究論文（178 編）を入手し、メタ解析を行った。その結果、急性胃腸炎患者 148,867 人の中での NoV 罹患率は 17%（95%CI：15-18%）と推定された。また、遺伝子群 GII の罹患率（15%）は、GI の罹患率（1%）よりも有意に高かった。

2. フエ市の下流にあるラグーンで採取された牡蠣の NoV 汚染レベルを 17 ヶ月間に渡って調査した。GI の陽性率は 79% であり、GII（41%）よりも高かった。GI および GII の最大濃度は、それぞれ 2.4×10^5 、 2.3×10^4 copies/g-DT であった。河口に近い地点で採取された牡蠣の GII 濃度は雨季に乾季よりも高かった（ $p=0.04$ ）。同じ期間に採取した都市下水試料から、牡蠣試料中のウイルスと同一の遺伝子配列を持つ NoV が複数検出され、都市下水が牡蠣の NoV 汚染に確かに貢献していることが示された。ただし、フエ市内の病院を訪れた胃腸炎患者報告数と、牡蠣の NoV 汚染レベルには相関が見られなかった。

3. 上記のラグーンで採取された牡蠣を生で食べることによる NoV 感染のリスクは非常に高かった（1ヶ月のリスクとして 0.36~0.72）。

4. 洪水が引き起こす疾病に対する心理的な変化について、洪水域の住民 293 人と非洪水域の住民 365 人を対象に調査した。参加者は、洪水時や洪水後に、下痢症を含む幾つかの疾病がより多く発生すると感じており、その感覚は洪水域と非洪水域の住民間で有意に異なっていた。ただし、洪水の経験によって住民の下痢症に対する負担感は変化していなかった。

5. 洪水が引き起こす心理的な変化は否定されたが、疾病負荷（障害調整損失年（DALY）で推定）にこの心理的な影響を組み込むための新しい方法を提案した。

以上のように、本論文は、これまで注目されてこなかった途上国の洪水が引き起こす食品の汚染や住民の疾病に対する心理的な変化に関する貴重なデータを報告し、途上国における洪水にともなう感染症のリスクを考える上で重要な新しい知見を提供している。よって、本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

主論文

1. Gia Thanh Nguyen, Kevin Phan, Ian Teng, Jian Pu, Toru Watanabe. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis in developing countries. *Medicine*, 96(40), e8139. doi: 10.1097/MD.00000000000008139
2. Gia Thanh Nguyen, Jian Pu, Takayuki Miura, Hiroaki Ito, Shinobu Kazama, Yoshimitsu Konta, An Van Le, Toru Watanabe. Oyster contamination with human noroviruses impacted by urban drainage and seasonal flooding in Vietnam. *Food and Environmental Virology*, 10(1), 61-71, 2018

参考論文

1. 伊藤絵里香, 伊藤紘晃, 浦剣, Nguyen Thanh Gia, 渡部徹, トウガラシ微斑ウイルスおよびアイチウイルスの牡蠣への蓄積とノロウイルス汚染指標としての利用可能性, 土木学会論文集 G (環境), 72(7), III_295-III_304, 2016