1.ウイルス第一部

部長　倉根一郎

概　要

ウイルス第一部において、本年度、以下の人事異動があった。平成 16 年 4 月 1 日付で井上直樹主任研究官が第四室長となった。同日付で後藤英介主任研究官が遺伝子資源室からウイルス第一部に配置換えとなった。また、同日付で安藤秀二が主任研究官として採用され富山県衛生研究所より、伊藤睦代が第三室研究員として採用され岐阜大学より就任した。5 月 1 日付で野澤直樹が第四室研究員として採用され名古屋大学から就任した。8 月 1 日付で林昌宏が第二室研究員として採用され大阪大学から就任した。

研究業務としては、出血熱ウイルス、SARS コロナウイルス、ポックスウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、狂犬病ウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、エプスタイン・バールウイルス（EBV)、リケッチア、クラミジア等の病原体の研究、血清及び分子疫学、感染症発症機序の解析と診断、治療、予防方法の研究を行った。それぞれの研究成果は論文及び国内外の学会等で発表された。

第一室においては、BSL4 実験室を使用しない出血熱ウイルスの診断体制の確立を目的とした研究を行っており、本年度はマールブルグウイルス抗原検出法を開発した。一方、痘そうワクチンの有効性をマウスにおいて、またサルにおいてサル痘をモデルとして示した。さらに、SARS の新血清診断法の開発、SARS コロナウイルスの感染機序に関する研究を行った。

第二室においては、日本各地のブタ血清から日本脳炎ウイルスの分離を行い、遺伝子及び病原性解析を行った。また、ウエストナイル熱の病原体・血清診断法を確立し、さらに啓発ビデオ作製を行った。デングウイルスに対する新たな血清遺伝子検査法を確立し、熱帯・亜熱帯地域からの輸入患者の病原体検査を一層充実させた。また、デングウイルス感染の病態解明にむけて研究を進展させた。

第三室においてはタイ国の狂犬病ウイルス株について遺伝子解析を行った。また、cDNA 発現系を開発し、さらに増殖欠損ウイルスの作製、この系を用いた神経病原性の解析を行った。また、狂犬病ウイルスに対するマクロファージの応答に関する研究を行った。

第四室においては、水痘帯状疱疹ウイルスワクチン株の迅速判別法を確立した。また、サイトメガロウイルス（CMV）レポーター細胞を確立した。さらに、先天性 CMV 感染スクリーニング法の開発と、モルモットを用いた動物モデルの開発を行った。EBV の潜伏感染に関する研究においては、EBNA-LP、EBNA-2 に関して、相互作用する細胞蛋白の同定と転写活性化における機能解析の研究を進展させた。

第五室においては、Q熱コクシエラの新しい遺伝子検査法を確立し鶏卵等の検査に使用した。また、国内ダニ類におけるリケッチア保有状況を検査した。クラミジアに関しては、動物由来クラミジア感染症の遺伝子・病原体検査法を確立した。国内各地での肺炎クラミジア感染症に対応し調査を行い、さらに分離されたクラミジア株について分子生物学的解析を行った。

以上の研究活動に対して、厚生労働省、ＨＳ財団、文部科学省、環境省等から研究費の援助を受けた。痘そうワクチン、日本脳炎ワクチン、黄熱ワクチン、狂犬病ワクチン、水痘ワクチン、水痘抗原について国家検定及び依頼検査を行った。また、各ウイルス及び患者材料に関する行政検査、依頼検査を行った。さらに各病原体に関するレファレンス活動、国際協力活動を行った。また、各室において多数の協力研究員、研究生、実習生を受け入れた。

業　績

調査・研究

Ⅰ．ウイルス性出血熱に関する研究

1. マールブルグウイルスに関する研究

（1）マールブルグウイルス（MARV）の組換え核蛋白に対する単クローン抗体を用いた抗原検出 ELISA の MARV 抗原検出

マールブルグウイルス（MARV）の組換え核蛋白に対する単クローン抗体（2A7 と 2H6）を捕捉抗体とし、MARV の組換え核蛋白に対するウサギ抗血清を検出抗体とした MARV 抗原検出 ELISA の MARV 核蛋白抗原検出感度を、RT-PCR 法と比較して検討した。それぞれの単クローン抗体を用いた抗原検出 ELISA により、ヒト血清で希釈された MARV（Musoke 株）液中 MARV 核蛋白は、MARV ゲノム検出のための RT-PCR 法とほぼ同等の感度で検出された。組換え核蛋白に対する単クローン抗体が捕捉抗体として用いられているが、本研究により用いられた単クローン抗体は MARV 核蛋白を捕捉することのできる抗体であることが明らかにされた。尚、感染性 MARV を扱うことの必要な研究はパストゥール研究所 BSL4 研究施設で行われた。［西條政幸、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、George-Courbot MC・Alain George（パストゥール研究所、リヨン市、フランス）］

Ⅱ．ポックスウイルスに関する研究

1. 痘そうの検査に関する研究

（1）痘そうおよびヒトサル痘ウイルス感染症の迅速診断のための real time PCR 法の開発と評価

近年、天然痘（痘そう，variola）ウイルスが用いられるバイオテロリズムの危険性が指摘され、また、アフリカ大陸にのみ発生が認められていたヒトサル痘が、2003 年に米国で流行した。そのため天然痘やサル痘（monkeypox）の迅速診断の必要性が高まっている。昨年度は、variola ウイルス、monkeypox ウイルス、オルソポックス属ウイルス、および、ワクシニア（vaccinia）ウイルスにそれぞれ特異的プライマー（それぞれ Var1/2、Gabon-1/-2 、 ATI-up-1/low-1 、 Vac1/2 ） を 用 い た polymerase chain reaction（PCR）法および variola ウイルスゲノムを特異的に検出するためのリアルタイム PCR 法を整え、これらのウイルスゲノム検出法の精度や感度を、variola ウイルスを含むオルソポックス属ウイルスゲノムを用いて評価した。本年度は、痘そうウイルスおよびサル痘ウイルスにそれぞれ特異的プライマーおよびプローブを設計し、リアルタイム PCR 法開発した。痘そうウイルス検出リアルタイム PCR 法およびサル痘ウイルス検出リアルタイム PCR 法により、PCR 法に比べてより高感度で痘そうウイルスおよびサル痘ウイルス遺伝子を特異的に検出することができた。［西條政幸、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、長谷川秀樹（感染病理部）、Inger Damon (Pox Division, 米国 CDC)］

2. 痘そうワクチンに関する研究

（1）LC16m8 株痘そうワクチンの霊長類におけるサル痘発症予防効果の検討（続報）

昨年度は、霊長類（カニクイザル）を用いて、LC16m8 株のサル痘発症予防効果を Lister 株痘そうワクチンの効果と比較して検討した。その実験ではサル痘ウイルス Liberia 株を鼻腔接種したサルを用いて評価した。比較的軽症の症状を呈する系であり、この系での評価だけでは不十分であると考え、中央アフリカ分離株 Zr-599 株を皮下接種する系で LC16m8 株のサル痘発症予防効果を Lister 株痘そうワクチンの効果と比較して検討した。この系でも、ワクチン未接種群では、サル痘特異的な症状が出現したが、LC16m8 株および Lister 株ワクチン接種群では全く症状が出現しなかった。LC16m8 株は Lister 株同様、重症かつ致死性のサル痘の発症を防御する。しかし、LC16m8 株免疫サルの血中ウイルス血症レベルは、Lister 免疫サルのそれよりも高く、また、LC16m8 株免疫サルにおけるウイルス接種部位の症状は、Lister 免疫サルのそれよりも重かった。本研究により LC16m8 株のサル痘発症予防効果が確認され、天然痘の予防にも有効であろうと考えられる。［西條政幸、森川茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、網康至・須崎百合子（動物管理室）、長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子（感染病理病理部）］

（2）マウスでのワクチニアウイルス LC16m8 株の有効性

マウスにワクチニアウイルス強毒株WR株を経鼻接種すると肺炎等の症状を呈して死亡する。このマウス・WR株感染系を用いて、細胞培養痘そうワクチンに用いられる LC16m8 株の有効性を天然痘根絶時に用いられた痘そうワクチン使用株である Lister 株、NYBH 株と比較検討した。9 週令 Balb/c マウスでの WR 株の LD_{50} は 10^5PFU であった。6 週令 Balb/c マウスに LC16m8, Lister, NYBH 株をそれぞれ 10^5PFU 接種し、3 週後に WR 株を 10、100LD_{50} に相当する 10^6PFU, 10^7PFU 経鼻接種した。その結果、いずれのワクチニアウイルス株で免疫したマウスも、WR 株 10^6PFU 群では 3 日目まで体重減少（約 5%）が認められ、その後回復した。WR 株 10^7PFU 群では、3-4 日目まで顕著な体重減少（約 15%）が認められたが、その後回復した。このことから、マウスモデル系では、LC16m8 株は、Lister, NYBH 株と同様の有効性があることが明らかとなった［森川茂、長谷川秀樹（感染病理部）、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、佐多徹太郎・小島朝人（感染病理病理部）］

Ⅲ. SARS コロナウイルス（SARS-CoV）に関する研究

1. コロナウイルスに関する研究

（1）ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルス感染の検討

アンギオテンシン変換酵素２(ACE2)は SARS コロナウイルス(SARS-CoV)のレセプター分子である。本研究では、マウスの ACE2 を培養細胞に発現させた場合に SARS-CoV のレセプターとして機能するかどうか検討した。ACE2 を発現していない HeLa 細胞では SARS-CoV の増殖は認められず、ACE2 を発現させた場合に SARS-CoV の増殖が認められたことから、HeLa 細胞への SARS-CoV の感染は ACE2 依存的であった。ヒトおよびマウス ACE2 を発現する HeLa 細胞にウイルスを接種し、培養上清のウイルス力価を測定したところ、感染 48 時間後のウイルス力価はヒト ACE2 発現細胞の方がマウス ACE2 発現細胞よりも高い傾向がみられた。しかし接種後 3.5～24 時間のウイルス増殖はマウス ACE2 発現細胞とヒト ACE2 発現細胞では顕著な差は認められなかった。これらの結果からマウス ACE2 はヒト ACE2 と同様、SARS-CoV 感染のレセプターとして機能すると考えられた。また、ヒトおよびマウスの ACE2 を発現する L 細胞では HeLa 細胞を用いた場合と同等の効率で SARS-CoV の増殖が認められた。これまで、マウス由来の培養細胞での SARS-CoV の増殖が報告されたことはなかったが、今回の結果からマウス L 細胞でも SARS-CoV は ACE2 依存的に感染し効率的に増殖できると考えられた。［福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川茂］

（2）SARS-CoV-S 蛋白質を被った VSV シュードタイプの作製

SARS コロナウイルス(SARS-CoV)は、既知のコロナウイルスとは全く別の新型コロナウイルスである。このため、組換え遺伝子や蛋白を用いた診断法の開発、ワクチンの開発、治療用抗血清の開発等が急務である。ウイルス感染の中和試験は SARS-CoV 培養を伴うため、BSL3 実験室で行う必要がある。我々は SARS-CoV のスパイク糖たんぱく質(S タンパク質)を被った組換え水泡性口内炎ウイルス(VSV)シュードタイプウイルス(VSV-SARS-S シュードタイプ)を作製した。このシュードタイプウイルス本来の VSV 膜タンパク質をコードする G 遺伝子を欠損しているため、膜タンパク質が供給されない限り abortive infection で１回のみ感染可能なので、生物学的封じ込めの観点からも安全性が高い。VSV-SARS-S シュードタイプの培養細胞への感染は、SARS-CoV を免疫したウサギ血清で中和されたが、コントロールとしてもちいたウサギ血清では中和されなかった。VSV-SARS-S シュードタイプの感染は green fluorescence protein(GFP)発現による蛍光を指標に、感染後７時間で定量的に判定可能であった。これらの結果から、VSV-SARS-S はウイルス中和試験に有用であると考えられた。今後、ヒト血清を用いた中和試験の検討を行う予定である。［福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川茂］

（3）SARS コロナウイルスのアポトーシスを抑制するシグナル伝達系の解析

昨年度は SARS コロナウイルス感染 Vero E6 細胞において、p38 MAPK がアポトーシスを促進するシグナル伝達系であることを明らかにした。そこで、感染細胞内でアポトーシスを抑制するシグナル伝達系について解析を

おこなった。感染細胞では 8 から 18 時間で抗アポトーシス蛋白質である Akt がリン酸化するが、その後 24 時間では完全に脱リン酸化が起こることがわかった。また、ウイルス感染による Akt の活性化は比較的弱いことも明らかになった。これらの結果から、SARS コロナウイルス感染後に Akt は一過性に弱くしか活性化できないために、細胞は p38 MAPK の強い活性化に誘導されてアポトーシスを起こすことが明らかとなった。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川茂]

（4）SARS コロナウイルス感染 Vero E6 細胞における STAT3 の脱リン酸化

Vero E6 細胞では通常の培養条件でも STAT3 のスレオニンがリン酸化されているが、SARS コロナウイルスの感染により 18 時間後から脱リン酸化することがわかった。MAPK の活性化を阻害する種々の阻害剤を用いると、p38 MAPK の活性化に伴い STAT3 が脱リン酸化を受けることが明らかとなった。STAT3 はリン酸化されると抗アポトーシスに働く蛋白質の転写量を上げることが知られているので、ウイルス感染による脱リン酸化は結果的にアポトーシスを誘導しやすくしていることが示唆された。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川茂]

（5）Inosine monophosphate dehydrogenase（IMPDH）阻害剤の SARS コロナウイルスの増殖抑制効果

IMPDH の代表的薬剤であるミゾリビンとリバビリンの SARS コロナウイルス HKU 株および Frankfurt-1 株への増殖抑制効果を plaque reduction assay および yield reduction assay を用いて検討した。両薬剤は SARS-CoV の増殖を選択的に抑制することが明らかにされた。ただし、100μg/ml の比較的高濃度においても SARS コロナウイルスの増殖を完全には抑制しない。また、カルボキシオキセタノシン系薬剤 Cis A (C10H13N5O)、Cis G (C10H13N5O2)、Trans A（C10H13N5O）、Trans G（C10H13N5O2）、F-C-OXT-A（C11H14FN5O2）、Cl-Bz-Pu（C18H17ClN4O3）、C.OXT-A および C.OXT-A の SARS コロナウイルス増殖抑制効果も同様に検討した。これらの薬剤の中では、Cl-Bz-Pu が SARS コロナウイルスの増殖を選択的に抑制した。［西條政幸、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、森川茂、長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子（感染病理部）、丸山徳見（徳島文理大学）］

（6）不顕性 SARS コロナウイルス感染症に関する研究

2003 年 2 月末から 3 月にかけて SARS が流行したベトナム国ハノイ市の French Hospital の医療従事者の SARS コロナウイルスに対する抗体の推移および血清からの LAMP 法によるウイルスゲノム検出を試みた。2004 年 3 月中旬から 4 月上旬まで SARS コロナウイルス感染症が続いていたこと、また、これらの感染症は不顕性であったことが明らかにされた。SARS コロナウイルスが不顕性感染を比較的高頻度で起こす可能性、ヒトの間で SARS コロナウイルスが継代されているうちに病原性が減弱する可能性、あるいは、これら両方の可能性を示唆する。［西條政幸、森川茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、田口文広・荻野利夫・田代眞人（ウイルス第三部）、Hoang Thuy Long (National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam)］

Ⅳ. フラビウイルスに関する研究

1. 日本脳炎ウイルスに関する研究

（1）本邦における日本脳炎ウイルス抗原変異並びに地域差に関する調査研究：ブタ血清からのウイルス分離と抗原学的及び分子進化学的解析

2004 年の三重と香川のブタ血清から 3 株の日本脳炎ウイルスが分離され、これらについて解析した。プラーク形成試験では、何れも現行ワクチン株に比べプラークサイズが大きく、感染価もそれぞれワクチン株の $1/10^4$ 〜$1/10^2$ という低い値を示した。ワクチン株の高度免疫マウス抗血清に対する中和抗体価は、ホモに比べて 0.6〜0.8$\log_{10}$ 程度低い値を示した。3 株の E タンパク領域の遺伝子配列は何れも遺伝子 1 型であったが、三重県の 2 株は、同じ豚舎で同じ日に採血された血清から分離されたにも関わらず進化系統樹上では異なる枝に位置した。3 ’NTR 領域の塩基配列では、2002 年のウイルスと同様に 68-80 番目に塩基の欠失が確認され、更に香川県のウイルスは今迄の報告に無い部分の欠失が見出された。[根路銘令子、田島茂、高崎智彦、小滝　徹、伊藤美佳子、倉根一郎、杉山明（三重県科技振センター）、森下市子（香

川県衛研)、桑山　勝（広島県保環センター)、小川知子（千葉県衛研)、神田政宏・細谷佳行（静岡県西部食肉衛検)、佐原啓二（静岡県環衛科研)、尾西一（石川県保環センター)、渋谷香（高知県衛研)、吉田靖子（東京都衛研)、甲木和子・原田誠也（熊本県保環科研)、糸数清正（沖縄県衛環研）]

（2)2002 年～2004 年にブタ血清から分離された日本脳炎ウイルスの病原性の解析

2002 年と 2004 年にブタ血清から分離された日本脳炎ウイルスである sw/Hiroshima/25/2002、sw/Mie/41/2002　、　sw/Shizuoka/33/2002　、sw/Chiba/88/2002、sw/Kagawa/27/2002 及び sw/Mie/34/2004、sw/Mie/40/2004、sw/Kagawa/35/2004 について、その病原性を離乳マウス（3 週令、♀）における中枢神経毒性及び中枢神経侵入性の面から調査し、ワクチン株(Hu/Beijing/1/1949: Beijing-1)との比較を試みた。その結果、同じ遺伝子 1 型間、及び同時期に同地域で分離されたウイルスの間でも、病原性に違いがあることが判明した。 [根路銘令子、高崎智彦、田島茂、小滝徹、林昌宏、倉根一郎、杉山明（三重県科技振センター)、森下市子（香川県衛研)、桑山勝（広島県保環センター)、小川知子（千葉県衛研)、神田政宏（静岡県西部食肉衛検)、佐原啓二（静岡県環衛科研）]

（3）日本脳炎ウイルス抗原を発現する組換え狂犬病ウイルスおよびセンダイウイルスの作製

日本脳炎ウイルス抗原を発現する組換え狂犬病ウイルスおよびセンダイウイルスの作製を行うため、日本脳炎ウイルスから RNA を抽出し、RT-PCR により目的遺伝子を増幅した。その結果、目的断片が得られた。今後増幅した各日本脳炎ウイルス抗原の遺伝子を用いて組換え狂犬病ウイルスおよびセンダイウイルスを作製し、マウスモデルを用いて抗原性及び安全性を明らかにしていく。[林　昌宏、高崎智彦、森本金次郎、加藤　篤（ウイルス第三部)、倉根一郎]

（4）中国地方のイノシシにおける日本脳炎ウイルス抗体保有状況の検討

近年中国地方では野生のイノシシが民家周辺に出現し、日本脳炎の媒介動物であるコガタアカイエカに暴露されている。そこで我々は中国地方のイノシシに関して日本脳炎ウイルスに対する血清抗体保有状況を調査した。その結果イノシシの約 3 割が日本脳炎ウイルス抗体を保有していたことから近年イノシシが日本脳炎ウイルスの増幅動物となっていることが示唆された。[高崎智彦、林昌宏、濱野正敬、倉根一郎、桑山勝（広島県保健環境センター)、岸昇（広島県立畜産技術センター）]

2.　ウエストナイルウイルスに関する研究

（1）ウエストナイル熱・脳炎に関する啓発ビデオの作製

米国疾病対策予防センター（CDC）が中心となって、ウエストナイル熱の理解と啓発のために制作した啓発ビデオおよび CD-R の日本語吹き替え版を制作し、H16 年 4 月より国内国際空港検疫所にて放映し、各都道府県、政令市、特別区の衛生主管部や各地域医師会そのほか希望する諸団体に配布した。[高崎智彦、田島　茂、伊藤美佳子、小滝　徹、山田竜臣、根路銘令子、倉根一郎、小林睦生（昆虫医科学部)]

（2）ウエストナイル不活化ワクチンのフラビウイルスに対する交差反応の検討

組織培養ウエストナイル不活化ワクチンをマウスに免疫して得た抗血清を用い、フラビウイルスに対する交差反応を検討した。その結果ウエストナイルウイルス、クンジンウイルス、日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価の上昇を認めた。

本不活化ワクチンはウエストナイルウイルス、クンジンウイルス、日本脳炎ウイルスに対して有効な免疫を誘導することが示唆された。[林　昌宏、高崎智彦、根路銘令子、伊藤美佳子、田島　茂、倉根一郎、森田公一(長崎大)、石川豊数（阪大微研）]

（3）ウエストナイルウイルス抗原を発現する組換え狂犬病ウイルスおよびセンダイウイルスの作製

ウエストナイルウイルス抗原を発現する組換え狂犬病ウイルスおよびセンダイウイルスの作製を行うため、ウエストナイルウイルスから RNA を抽出し、RT-PCR により目的遺伝子を増幅した。その結果、目的断片が得ら

れた。今後増幅した各ウエストナイルウイルス抗原の遺伝子を用いて組換え狂犬病ウイルスおよびセンダイウイルスを作製し、マウスモデルを用いて抗原性及び安全性を明らかにしていく。[林　昌宏、高崎智彦、森本金次郎、加藤　篤（ウイルス第三部）、倉根一郎]

（4）ウエストナイルウイルスの加熱処理・ろ過処理法の検討

安全な血液製剤を確保するためのウエストナイルウイルス診断・除去・不活化法の研究の一環として、ヒトグロブリン製剤からのウエストナイルウイルスの除去方法を検討した。ヒトグロブリン製剤の加熱処理によりウエストナイルウイルスは失活し、ヒトグロブリン製剤のろ過処理によりウエストナイルウイルスは除去された。[林昌宏、高崎智彦、倉根一郎、岡田義昭（血液・安全性研究部）]

3.　デングウイルスに関する研究

（1）デング熱・出血熱診断・サーベイランス体制の構築のためのデングウイルス合成 RNA の作製および定量法の確立

デングウイルス感染症は東南アジア・南米を中心として拡がっており、再興感染症の一つとして、世界的に重要な感染症になっている。わが国でも輸入感染症として診断される症例が増加している。デング熱・出血熱を診断し、サーベイランス体制を構築整備するため、陽性コントロールとして用いる目的で、一部のデングウイルス遺伝子をクローニングしてデングウイルス合成 RNA の作製を試み、TaqMan　real time RT-PCR（TaqMan RT-PCR）法により、合成 RNA の定量法の確立を行った。これまで、本法によるウイルス遺伝子の検出ユニットは PFU/ml 換算であり、RNA コピー数は明らかにされてこなかったが、合成 RNA を陽性コントロールとして用いた TaqMan RT-PCR の確立により、RNA コピー数の定量が可能となった。今回作製した合成 RNA はデング診断における TaqMan　RT-PCR 法の陽性コントロールに用いることが可能であり、本合成 RNA はフラビウイルスレファレンスセンターに既に配布されており、今後各地方衛生研究所等にも配布される予定である。[伊藤美佳子、林昌宏、高崎智彦、田島茂、小滝徹、倉根一郎]

（2）東ティモールにおけるデング熱/出血熱流行に関するウイルス系統学的および血清学的解析

2005 年１月、東ティモール(TL)においてデング熱および出血熱の流行が発生した。Global Outbreak Alert and Response Network、WHO の要請により現地調査を実施し、ウイルス系統学的および血清学的解析を行った。TaqMan RT-PCR により、DF、DHF および DSS 患者血清 125 検体中、DEN-1：１、DEN-2：2、DEN-3：37 の合計 40 検体から DEN 遺伝子が検出された。系統樹解析により、TL 分離株は近隣諸国分離株と類似した株であるが、DEN-2 は６年間 TL 国内において維持され、DEN-3 は近隣諸国分離株から独立したクラスターに位置することが明らかとなった。また、14 検体（DEN-2：1 検体、DEN-3：13 検体）から DEN を分離した。DF および DHF 患者分離株のプラークの特異的性状変化は認められなかった。さらに、中和試験を用いた血清学的解析により、88.8%の患者が、過去の DEN-1 または 2 の感染を経験していることが明らかになった。[伊藤美佳子、高崎智彦、小滝　徹、田島　茂、林昌宏、根路銘令子、倉根一郎]

（3）2004 年度輸入デングウイルス感染症、ウエストナイルウイルス感染症の検査・診断

リアルタイム RT-PCR によるウイルス遺伝子検出とウイルス分離および IgM-捕捉 ELISA による IgM 抗体の両検出法により、流行地域からの帰国者におけるデング熱の確定診断を実施した。成田空港検疫所での検査成績に関しては、熱帯地域から成田空港に帰国した時に不明熱があり、デング感染症検査を実施した総数は 128 症例であった。これらの検体を特異遺伝子および IgM 抗体の検出により検査・診断した結果、７症例が陽性（男性：５、女性：2）であった。その内、2004 年で重要な事例は、インドネシアでの大流行時に輸入症例からデングウイルス 2 型を検出・分離したこと、ネパールで初めてデング熱の流行が確認され、輸入症例から初めてウイルスを分離したことである。国内医療機関からのデングウイルス感染に関する検査依頼件数は、2004 年は 54 件であった。特記すべき事例は、ミクロネシアヤップ島における日本人渡航者の集団感染事例（7 例）であった。その後も 9

月、10 月とミクロネシアからの輸入症例が続いた。我々の分離したウイルスからヤップ島の流行株が１型ウイルスであること､その遺伝子解析情報を最初に現地保健省、WHO に報告した。ウエストナイルウイルス感染症の診断に関しては、5 件の行政検査を含めて、12 件の依頼検査を実施したが、いずれも陰性であった。 [高崎智彦、伊藤美佳子、小滝　徹、林　昌宏、田島　茂、根路銘令子、倉根一郎、鈴木尚文・西村聖美・佐藤之義・古川徹也・河合 誠義（成田空港検疫所）]

（4）デングウイルスの中和抗体による防御能および感染増強の解析

サルの抗デングウイルス血清を用いて、デングウイルス交叉性中和抗体および血清型特異中和抗体による感染増強を観察した。サルにデングウイルスを感染後、免疫血清を経時的に採取し、①ウイルス血症の推移②血清型特異的中和抗体価および交叉性中和抗体価の推移③交叉性抗体および型特異的抗体の感染増強を解明するために、デングウイルスと希釈した交叉性抗体および型特異的抗体の感染増強現象を解析した。その結果、感染後 58 週目の交叉性抗体および型特異抗体によりデングウイルスの感染が最も増強された。さらに、交叉性抗体は１：３倍希釈で、型特異抗体は１：３０倍希釈で最も感染の増強が認められた。この結果は、ヒトのデングウイルス再感染時の感染増強が最も発生しやすいのは、再感染時のウイルスの血清型が初感染時とは異なる型のウイルスであるという疫学的事実と一致した。[伊藤美佳子、高崎智彦、倉根一郎、向井鐐三郎(筑波霊長類センター）]

（5）血清型特異的 IgM 抗体検出法の確立

デング熱の血清診断法として開発されたウイルス特異的 IgM 抗体検出のための IgM 捕捉 ELISA 法は、デングウイルス血清型間の交差反応の存在のために、血清型の同定は困難である。デングウイルスの血清型診断法としての IgM-ELISA 法の有用性を高める目的で、反応系に蛋白変性試薬を添加することにより、感染ウイルス血清型に特異的 IgM 抗体の検出を検討した結果、薬剤添加後に感染ウイルス血清型に対する IgM 抗体反応のほうが、他の血清型に対する交差反応よりも増強された。[高崎智彦、伊藤美佳子、倉根一郎、名和　優・赤塚俊隆（埼玉医科大学）]

（6）デング１型ウイルス完全長 cDNA クローンを用いた 3 ' 非翻訳領域の解析

デング１型ウイルス完全長 cDNA クローン（rDENV-1(02-20)/pMW119）を構築し、このクローンに由来するウイルス粒子を回収することに成功した。一方、海外渡航後にデング熱を発症した患者から、variable 領域の一部（17 および 29 ヌクレオチド）が欠失したデング 1 型ウイルスを分離した。variable 領域の欠失がウイルス増殖に及ぼす影響を調べるため、観察されたものとほぼ同等（19 ヌクレオチド）の欠失を cDNA クローンに導入し、これより変異型ウイルス m10 株を得た。親株と変異型とで増殖速度およびプラークの形態を比較したが、両者間で有意な差異は認められなかった。次に両者間で上清に放出されるウイルス抗原量の推移をイムノブロット法により解析したところ、m10 株では顕著に放出抗原量が低下していた。細胞内でのウイルス抗原量を調べたが､同様に m10 株で細胞内抗原量が低下していた。上清中のウイルス RNA 量の推移を調べたところ、抗原量よりはむしろウイルス力価と類似した推移を示した。以上の結果より、variable 領域がウイルス抗原発現制御に関わる可能性が示唆された。[田島　茂、高崎智彦、倉根一郎]

4. ヨコセウイルスに関する研究

（1）ヨコセウイルスのマウスに対する病原性の検討

ヨコセウイルスは 1971 年にコウモリ血液より分離されたフラビウイルスである。我々は、すでに Yokose ウイルスの全ゲノムの塩基配列を決定し、系統樹解析から代表的なフラビウイルスの中では比較的黄熱ウイルスと近縁であること示した。しかし、本ウイルスのヒトおよび他の動物に対する病原性については不明である。そこでマウスに対する本ウイルスの病原性を調べるため、ヨコセウイルスを 3 週齢のマウス（DDY 株）に腹腔接種し経過観察した。顕著な成長不良および死亡例は認められなかった。現時点では、本ウイルスのマウスに対する病原性はないあるいは非常に弱いものと考えている。[田島　茂、高崎智彦、倉根一郎、江下優樹（大分大学）]

（2）抗ヨコセウイルス抗血清の作製

今後ヨコセウイルスに関する研究を進めてゆく上で、本ウイルス（抗原）を検出するための抗体あるいは抗血清は必要不可欠である。そこで、マウス（DDY 株）を用いて抗血清を作製した。初回接種後 5 週後に本ウイルスを追加接種後、さらに 4 週後に血清を回収し、ウイルス抗原に対する反応性を比較した。本ウイルスを Vero 細胞に感染させた後の培養上清および細胞抽出液について、イムノブロット法でウイルス抗原の検出を試みた。培養上清については、培地に混入されているアルブミンに反応してしまい、ウイルス抗原は検出できなかった。一方細胞抽出液については､75KDa 付近にウイルス感染細胞に特異的なシグナルが検出された。ただしどのウイルス抗原に反応しているかは不明である。次に本抗血清を用いて間接蛍光抗体法によりウイルス感染細胞の検出を試みたところ、ヨコセウイルス感染細胞を特異的に検出することが可能であった。以上よりヨコセウイルスに対する抗血清が得られたことが確認された。[田島　茂、高崎智彦、倉根一郎、江下優樹（大分大学）]

（3）蚊での増殖性の検討

ヨコセウイルスの蚊での増殖性について検討した。本ウイルスをヒトスジシマカおよびアカイエカに胸部接種し、14 日後に脚より RNA を抽出し、RT-PCR 法によりウイルス RNA の検出を試みた。両方の蚊からウイルス RNA が検出されたが､ヒトスジシマカの方が増幅量が多かった。次に本ウイルスの経口接種後のウイルスゲノムの検出を試みた。本ウイルスをヒトスジシマカおよびアカイエカに経口接種後 14 日後に蚊個体全体からホモジェネートを調製し、一部を RT-PCR 法に、また一部を C6/36 細胞への接種に供することによりウイルスの検出を試みた。しかしいずれの方法でもウイルスを検出できなかった。次に C6/36 細胞にヨコセウイルスを接種し、経時的に培養上清中のウイルス量を測定した。10 日後でも感染性ウイルスは検出されたが、力価は非常に低かった。また抗血清を用いて感染細胞の検出を試みたが、明らかな陽性細胞は見出されなかった。以上よりヨコセウイルスが蚊細胞で増殖できる可能性が示唆されたがその能力は非常に低いことが明らかとなった。[田島　茂、高崎智彦、倉根一郎、江下優樹（大分大学）]

Ⅴ．神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

（1）狂犬病ウイルス cDNA 発現系を利用した増殖欠損ウイルスの作製

狂犬病ウイルスのヒト用ワクチン株である HEP-Flury 株の cDNA 発現系を利用して狂犬病ウイルスの P 遺伝子を欠損したウイルスを作製した。そのウイルスの性状を in vitro 及び in vivo で解析した結果。この P 遺伝子欠損ウイルスは P 蛋白質発現細胞でのみ増殖可能で、マウスでの病原性が全くないことが分かった。さらに、ワクチンとしての有用性を示すため、接種経路接種回数等の検討を行った結果、防御効果があることが示された。この増殖欠損ウイルス作製系を利用して、より安全で有効な組換えウイルスワクチンの開発や遺伝子発現ベクターとしての応用を考えている。さらに、他の遺伝子欠損ウイルスの作製を検討している。[森本金次郎、中道一生、伊藤睦代、倉根一郎、井上智（獣医科学部）、庄司洋子・酒井健夫（日大）]

（2）狂犬病ウイルス cDNA 発現系を利用した神経病原性の解析

狂犬病ウイルス固定毒の中には末梢感染からでも病原性を示すものから、脳内感染においても発症しないものまで、病原性の強弱に様々な程度の差がある。狂犬病ウイルスのヒト用ワクチン株である HEP-Flury 株の cDNA 発現系を利用して、cDNA 上で変異を導入することにより変異ウイルスを作製し、あるいは異なる株の遺伝子と取り替えることにより、いろいろ組換え狂犬病ウイルスを作製している。このような組換え狂犬病ウイルスを利用して、狂犬病ウイルスの神経病原性の機構を解析している。[森本金次郎、中道一生、伊藤睦代、倉根一郎、庄司洋子・酒井健夫（日大）]

（3）タイ国バンコク市狂犬病流行株の遺伝子解析

狂犬病流行地であるタイ国バンコク市において採取された狂犬病感染イヌより、採脳し、狂犬病ウイルスG遺伝子の塩基配列を決定し、バンコク流行株の分子疫学的解析を行った。さらに同一個体から得られた株内での塩

基置換部位の解析（quasispecies 解析）を行った。タイ国流行株の遺伝子配列変動のメカニズムを解析している。［森本金次郎、伊藤睦代、倉根一郎、西園晃（大分医大）、Pakamatz Khawplod・Henry Wilde (The Thai Red Cross Society)、Sukathida Ubol (Mahidol University)］

（4）狂犬病ウイルスを利用した神経伝達機構の解析

狂犬病ウイルスは逆向性に軸索を伝って伝播することが分かっている。この性質を利用し、神経伝達のプローブとしての狂犬病ウイルスの開発を行っている。狂犬病ウイルス cDNA 発現系を用いて、神経伝達のトレーサーとして有用な組換え狂犬病ウイルスを構築し、神経伝達機構の解析を行っている。［森本金次郎、倉根一郎、井上謙一・飯島敏夫（東北大）］

（5）狂犬病ウイルスに対するマクロファージ系細胞の活性化メカニズム

狂犬病ウイルス(ＲＶ)感染に対するマクロファージ系細胞株ＲＡＷ２６４の活性化を調べた。ＲＶを接種したＲＡＷ２６４におけるサイトカインとケモカイン、炎症性メディエーター等の遺伝子発現プロファイルを解析し、一酸化窒素合成酵素(ｉｎｄｕｃｉｂｌｅ ｎｉｔｒｉｃ ｏｘｉｄｅ ｓｙｎｔｈａｓｅ，ｉNOS）と CXC ケモカイン(ＣＸＣ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ｌｉｇａｎｄ １０，CXCL１０/ＩＰ－１０)の発現が増加することを示した。またＲＶによるｉＮＯＳとＣＸＣＬ１０の発現誘導にはＭＡＰキナーゼファミリーに属するＥｘｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒ－ｓｉｇｎａｌ ｒｅｇｕｌａｔｅｄ ｋｉｎａｓｅｓ（ＥＲＫ）１／２カスケードを介した細胞内シグナル伝達が関与することを見出し、マクロファージがウイルス粒子をエンドサイトーシスにより取り込む過程でＥＲＫ1/2が活性化されることを明らかにした。 [中道一生、齋木めぐみ、森本金次郎、倉根一郎]

Ⅵ. ヘルペスウイルスに関する研究

1. 水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）に関する研究

（1）水痘ワクチン株と親株との迅速判別法の検討

水痘ワクチンについては、容易に弱毒・強毒を判定しえる動物モデルなどのアッセイ系が存在しない。従って、牛由来成分を用いない新たな培養条件などを検討する場合、ワクチンとしての有効性と安全性を判断する第一ステップとして、現行ワクチンに特徴的な遺伝子配列が保存されていることを保証することが重要と考えられる。そこで、蛍光エネルギー移動(FRET)を応用した LightCycler の Tm 値解析によりワクチン株と親株との特定の遺伝子領域について塩基配列の差異を迅速に解析する方法を検討した。ORF62 遺伝子内の３箇所についてワクチン株としての判別に有効であること、ORF62A 領域については５％以下でも親株の混入が検出できることを示した。また、少なくとも検討した範囲では製造ワクチン株に親株への復帰変異は検出されないことが示され遺伝子レベルからみてもシードロット管理が適切に運用されていることが示唆された。[井上直樹、Vladimir Loparev (米国 CDC)、山本由美子、野澤直樹、原田志津子、倉根一郎、D. Scott Schmid (米国 CDC)]

（2）VZV プロモーター活性の網羅的比較

VZV のプラーク形成による力価測定には技術的な熟練を要するとともに 1 週間単位での時間がかかるなどの制約がある。VZV 感染による遺伝子活性化を指標とした検出法により力価を迅速簡便に決定できる系を作製することを目標として、約 70 ある VZV ORF のうち DNA マイクロアレイの結果をもとに 15 の ORF のプロモーターをクローニングした。これら 15 種類に加え分与された 3 種類の ORF のプロモータープラスミドの合計 18 種類について VZV 感染に伴う活性化を比較した。その結果、ORF9, ORF47, ORF61, ORF66 の 4 種類のプロモーターが感染初期における活性化の程度が高いこと、及び ORF57 プロモーターは感染と無関係に活性があることが明らかとなった。また、VZV 前初期蛋白 IE62 を発現するプラスミドとプロモータープラスミドを同時にトランスフェクションした場合のプロモーターの活性化は、VZV 感染による活性化の程度とよく相関した。従って、IE62 がいずれのプロモーターの活性化においても主要な役割を果たしていると考えられた。[Guan-Qing Wang、山本由美子、福井良子、野澤直樹、倉根一郎、井上直樹]

２．サイトメガロウイルス（CMV）に関する研究

（1）CMV レポーター細胞株の樹立

約 200 ある CMV ORF のうち、DNA マイクロアレイ

の結果及びこれまでの報告をもとに 11 種類の ORF のプロモーターをクローニングし、CMV 感染による各プロモーターの活性化を比較した。その結果、TRL4 プロモーターが最も強く活性化された。TRL4 プロモーターについて 5 ' 及び 3 ' 端側から欠失させたプロモータープラスミドを数種類作製し、CMV 活性化に必要十分な領域を転写開始点上流 29－126 塩基領域に同定した。この 98 塩基対の領域には細胞性因子結合配列として USF が見出された。G418 耐性マーカーをもつプラスミドとともに TRL4 プロモータープラスミドを U373MG 細胞にトランスフェクションし、G418 耐性となった多数の細胞クローンについて、CMV 感染によるレポーター遺伝子の活性化を指標にレポーター細胞株候補８株を選択した。この中から、反応性がよくバックグランドも低い細胞株を U4C-48 と名づけ CMV レポーター細胞株としてその後の検討に用いた。この細胞株を用いると 100 PFU 以下の力価であっても２日で CMV を検出することができた。[福井良子、山本由美子、野澤直樹、倉根一郎、井上直樹]

（2）特殊濾紙を用いた先天性 CMV 感染スクリーニング法の開発

生後 3 週間以内の尿検体を用いることにより自然感染と区別して先天性 CMV 感染を診断できる。しかしながら、従来通りの方法による尿の収集、保存、尿からのウイルス分離や PCR による CMV DNA の検出などには、膨大な労力と費用が必要であるため、新生児を対象とした先天性感染のマススクリーニングは普及していない。今回、尿の収集を紙オムツに装着できるような特殊濾紙で行い、その濾紙を直接 PCR で解析する迅速簡便な CMV マススクリーニング法を開発した。さらに、この濾紙で収集した尿中の CMV ゲノムコピー数を簡便に測定できる方法も確立した。[野澤直樹、古谷野伸（旭川医大）、倉根一郎、井上直樹]

（3）モルモット CMV(GPCMV)を用いた先天性感染動物モデルのための分子生物学的検討

先天性感染の唯一の小動物モデルであるモルモットを用いた CMV 感染増殖様式の解析から経胎盤感染と障害発生のメカニズムを明らかにすることを目的として、以下の解析法を検討した。a) 各種動物 CMV にその遺伝子ホモログがみられる GP83 遺伝子領域をターゲットとした TaqMan 法による real-timePCR を確立した。この定量法による検出限界は１反応当たり 0.03 コピーと高感度であった。b) 抗 GPCMV モノクローナル抗体 g-1 について性状解析を行った結果、この抗体はウイルス感染後 10～24 時間から産生され核内局在を示すウイルス蛋白質を特異的に認識し、各種解析法に利用可能である事を確認した。c）感染細胞から回収したウイルス粒子よりモルモット CMV ゲノム DNA を精製し、モルモット肺由来細胞への遺伝子導入を行った。その結果、ゲノム DNA 1μg 当たり 100 プラーク以上のウイルス遺伝子導入効率を示し、培養上清からは感染性ウイルスが回収可能であった。今後、これらの方法を利用して、モルモット動物モデルによる先天性感染様式の分子生物学的な検討が可能となった。[野澤直樹、筒井祥博（浜松医大）、倉根一郎、井上直樹]

（4）ワクチン開発をめざした感染機構の解析

CMV の感染に関与すると考えられる糖蛋白である gB、gH、gL、gO、gp48、gM、gN をコードする遺伝子群の発現系を確立した。これらの糖蛋白を様々に組合せて発現させ、感染性のある水泡性口内炎ウイルス（VSV）シュードタイプウイルスの作製を試みたが HSV と同等レベルの感染性を有するものは得られなかった。また、いずれの糖蛋白自体も HSV 糖蛋白を用いた VSV シュードタイプウイルス形成を阻害しなかった。これらのことから、CMV の吸着・侵入過程は HSV と大きく異なるものと考えられた。また、CMV gB と MLV env 蛋白を VSV シュードタイプすることにより、CMV gB に対する抗体価測定に利用できた。立体構造を保持した状態で抗体を評価するので gB サブユニットワクチンの評価に利用できると期待される。[福井良子、倉根一郎、井上直樹]

3. エプスタイン・バールウイルス(EBV)に関する研究

（1）EBV 感染細胞の遺伝子発現解析

EBV の潜伏感染機構を解析する目的のため、EBV 感染の結果変化する細胞性遺伝子発現様式をとらえる基礎実験を行った。細胞周期やストレスシグナル、アポトーシス関連の代表的遺伝子のプロモーター活性を検索した。

ウイルス遺伝子の発現の有無によって特定の遺伝子プロモーター活性の変化みられることを、簡便なルシフェラーゼ分析で示すことができた。この系によって、外界からの刺激や重力などの環境の変動による感染細胞遺伝子発現の変化をとらえることが可能と思われた。[原田志津子、平田顕恵、三浦啓司、加藤美緒]

（2）EBV 核蛋白 EBNA-LP と相互作用する細胞性因子の検索と機能解析

EBV 潜伏感染時に発現する核蛋白 EBNA-LP の機能を解析するために、我々はこれまで酵母実験系や免疫沈降法などで EBNA-LP と相互作用する細胞性蛋白の検索をおこない幾つかの遺伝子産物を報告してきた。今年度はさらなる候補蛋白についての相互作用能や作用領域の分析のための融合蛋白やプラスミド作製を行った。また。EBNA-LP による種々の蛋白修飾活性を検討した。[原田志津子、平田顕恵、加賀美奈子、倉根一郎]

（3）EBV 核蛋白 EBNA-LP のドミナントネガティブ発現細胞の性状解析

EBNA-LP の EBV 感染細胞における機能を解析するために、EBV 潜伏感染細胞由来の EBNA-LP ドミナントネガティブ変異体の誘導発現細胞株を作製した。薬剤タモキシフェンで誘導のかかる Cre-loxP 系での誘導発現細胞樹立を試み、多数のクローンから誘導発現効果の大きい細胞株を複数樹立した。誘導発現後、それら発現細胞は一様に増殖抑制されていることを明らかにし、さらに細胞遺伝子、ウイルス遺伝子の発現パターンの解析を行った。EBNA-LP が感染細胞増殖維持に重要な役割を果たしていることを実験的に証明した。[原田志津子、加藤美緒、平田顕恵]

（4）ＥＢウイルス核蛋白 BENA-2 のアミノ末端領域を認識する単クローン抗体の作製

ＥＢウイルス潜伏感染の鍵を握る核蛋白 EBNA-2 の機能解析のために、EBNA-2 アミノ末端領域に対する単クローン抗体を作製した。我々は変異体などを利用して本抗体がアミノ末端５８アミノ酸領域を認識することを明らかにし、多量体形成などの EBNA-2 機能を解析するのに有用な抗体であることを示した。アミノ末端領域を認識する EBNA-2 抗体は希少価値であるので、特許申請を行った。[原田志津子、平田顕恵、柳壹夫]

（5）ＥＢウイルス核蛋白 EBNA-1 のリン酸化と細胞内局在の解析

ＥＢウイルスのゲノム複製と潜伏感染に重要な核蛋白 EBNA-1 の機能解析の一環として、核と細胞質の移行に関与している細胞性輸送因子との相互作用を報告してきた。EBNA-1 タンパク質のリン酸化様態を変えるための点変異体を複数構築し、細胞に導入して核蛋白リン酸化と細胞内局在の関連について共焦点レーザー顕微鏡を使って分析した。EBNA-1 の核移行シグナルのリン酸化と核輸送タンパク質 NPI-1 との相互作用により核移行が制御されることを明らかにした。[北村亮、柳壹夫、原田志津子]

4. ヒトヘルペスウイルス８（HHV-8）に関する研究

（1）天疱瘡における HHV-8 感染の役割に関する疫学

病因不明皮膚疾患である天疱瘡と HHV-8 感染との関連について検討した。中国北東部地域の患者 58 例及び健常人 230 例について ELISA 法により HHV-8 特異的抗体、PCR により抹消血及び皮膚検体中の HHV-8 ゲノムの存在を検討した。HHV-8 特異抗体及びゲノムの陽性率は患者群で 30%以上であるのに対し、健常群では 8%以下であり HHV-8 感染と有為な関連があることを見出した。[Guan-Qing Wang（中国廈門大）、井上直樹、Hong-Duo Chen（中国瀋陽大）]

5. 単純ヘルペスウイルス(HSV)に関する研究

（1）フォスカルネット耐性 HSV の DNA ポリメラーゼ遺伝子解析と他の抗 HSV 薬に対する感受性

In vitro で DNA ポリメラーゼ阻害剤であるフォスカルネット耐性単純ヘルペスウイルスを作製し、フォスカルネット耐性単純ヘルペスウイルスの DNA ポリメラーゼ遺伝子におけるアミノ酸変異を解析し、また、それらのアシクロビル、ペンシクロビルやガンシクロビルのチミジンリン酸化酵素（TK）関連薬剤、S2242 やシドフォビルなどの TK 非関連薬剤に対する感受性を調べた。フォスカルネット耐性ウイルスの DNA ポリメラーゼには，第二保存領域（694-736）にアミノ酸変異が多く認

められること（27 株中 11 株)、フォスカルネット耐性ウイルスの多くは、ガンシクロビルとシドフォビルに高度感受性になることが明らかにされた。[西條政幸、森川茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、錫谷達夫（福島県立医大)]

Ⅶ. リケッチアに関する研究

1. Q 熱コクシエラに関する研究

（1）Real-time PCR (TaqMan)による鶏卵からの *Coxiella burnetii* 検出法の開発

鶏卵からの *C. burnetii* 検出のために新たに Real-time PCR 法に用いるプライマーおよびプローブを設計した。omp1 と IS2 の組み合わせによる検出が感度および特異性ともに良好であった。 PBS+NaCl および Tween20 濃度の卵黄への影響は、塩濃度が高いほどペレットが小さくなり、Tween20 の濃度はペレットの量には影響しなかった。スパイク試験では、スモールスケールでは 5.9% NaCl-PBS を、ラージスケールでは 8%NaCl-PBS を使用した。その結果、スモールスケールでは、最大で卵黄 500ul 内に 100 個の菌を、ラージスケールでは、最大で卵黄 10ｍｌあたり 10000 個の菌の検出が可能であった。これを、卵一個の卵黄量 17ml に換算すると、スモールスケールでは卵一個あたり 3400 個の、ラージスケールでは 17000 個の菌が検出可能であった。スモールスケールの方がより高感度で一度に多くの検体を処理することが可能で、手技も煩雑でないため、市販の卵からの検出にはスモールスケールを用いた。市販卵の検査結果は 115 個すべてが陰性であった。[小川基彦、荒川香南子、安藤秀二、柳 陳堅、岸本寿男]

（2）遺伝子診断を目的とした鶏卵からの多検体、迅速処理の検討

近年の鶏卵や関連食品の Q 熱コクシエラ(*C. burnetii*)汚染の指摘を踏まえ、高感度な検出方法の開発と汚染実態調査を進めてきた。抽出法について、感染研でこれまで検討したカラム抽出法と、より迅速に多検体を処理できる DNA 抽出機を用いた鋳型 DNA 抽出法を比較検討した。次に内閣府食品安全委員会に J 民間研究所から提出された卵の汚染を指摘する報告書に示されている抽出法（J 法）を再現し、先のカラム抽出法ならびに DNA 抽出機による抽出法と卵黄からの DNA 抽出効率について比較した。卵黄に精製菌をスパイクして行った DNA 抽出法の比較では、卵黄の 5.9%NaCl-PBS 処理後のカラム法も DNA 抽出機を用いた方法も J 法に比較して 1,000 倍以上抽出効率がよかった。 [安藤秀二、佐藤 梢、荒川香南子、柳 陳堅、小川基彦、岸本寿男]

（3）LAMP 法を用いた *Coxiella burnetii* の鶏卵からの検出法の検討

迅速遺伝子増幅法である LAMP 法を用いて、*C. burnetii* を鶏卵から迅速に検出する方法について検討を行った。*C. burnetii* 測定 LAMP プライマーは、*C. burnetii* の 27-kDa outer membrane protein をコードした遺伝子(*com1*)を標的として設計した。鶏卵からの遺伝子抽出法の検討として、*C. burnetii* Ⅱ相菌の死菌を鶏卵にスパイクし、検体とした。*C. burnetii* 遺伝子抽出のために、①全卵からの卵黄の採取法、②卵黄からの *C. burnetii* 菌体の分離方法、③QIAamp DNA Mini Kit による *C. burnetii* 遺伝子 DNA 抽出法、これら 3 つの要因について検討した。検討した処理法で得た検体を LAMP 法で測定した結果、1,000cells／卵黄 10mL（卵１個の卵黄量を 17ml とすると 1,700cells／卵黄１個）が検出可能であり、添加した菌体と同等の回収結果が得られた。以上の結果から本処理法と LAMP 法を組み合わせることによって、迅速・簡易に鶏卵の *C. burnetii* 汚染の有無を鑑別できると考えられた。〔小川基彦、佐藤 梢、アグス・スティヨノ、安藤秀二、荒川香南子、柳 陳堅、岸本寿男、百田隆祥・小島 禎・池戸正成(栄研化学)]

（4）市販鶏卵の *Coxiella burnetii* 汚染状況の調査

より迅速に多検体を処理できる DNA 抽出機を用いた新たな鋳型 DNA 抽出法を用いて市販鶏卵 506 個について検討したが、*C. burnetii* 特異遺伝子は検出されなかった。今後は検出法についても、J 民間研究所の方法を再現して感度の比較を行う予定である。また、東京都健康安全研究センターにおいても、昨年同様に市販鶏卵から nested PCR による *C. burnetii* 特異遺伝子の検出を行い、300 個についてはすべて陰性であった。したがって前年度とあわせて、これまでに本研究で調査した計 1,021 個の市販卵からは *C. burnetii* 特異遺伝子陽性の

ものは認めなかった。以上のことから鶏卵の *C. burnetii* 汚染率は確認できず、存在したとしても人への感染リスクは低いと考えられた。[安藤秀二、佐藤　梢、荒川香南子、柳　陳堅、小川基彦、岸本寿男、棚林　清・藤田　修・堀田明豊・宇田晶彦(獣医科学部)、山本茂貴(国立医薬品食品衛生研究所)、貞升健志・平井昭彦・甲斐明美・諸角聖(東京都健康安全研究センター微生物部)、百田隆祥・小島　禎・池戸正成(栄研化学)]

（5）慢性疲労症候群様患者におけるコクシエラ感染の検討

2002 年より A および B 病院の協力にて慢性疲労症候群様患者におけるコクシエラ感染の検討を継続して行っている。これまでに、合わせて約 80 例の患者の血清抗体価の測定および血中からの遺伝子検出を行ったが、陽性例は得られていない。今後も、さらに継続して行う予定である。〔小川基彦、安藤秀二、岸本寿男、伴信太郎（名古屋大学）、袴田康弘（静岡県立病院）、古屋由美子(神奈川県衛生研究所)〕

2. リケッチアに関する研究

（1）国産ダニ類におけるリケッチア保有調査

4 類感染症のリケッチア感染症の Real-time PCR (TaqMan)法の開発を進めてきているが今回、ダニ媒介疾患を網羅的に検出する TaqMan Real-time PCR の構築を試み、一部野外ダニ類からのダニ媒介性リケッチア遺伝子の検出を試みた。リケッチア、エーリキアを含む 46 菌種を用いて特異性を検討したところ、*SFG Rickettsia* を標的とした反応では *Neorickettsia sennetsu* と *E. chaffeensis* に、 *E. chaffeensis* および *E. canis* を標的とした反応では HGE にもシグナルの増幅が認められた。これらの反応を除き、他の菌種に対しては特異的であった。試験的にマダニ材料への応用を試みたところ、230 件のマダニ材料から 29 件が SFG リケッチアが陽性となった。また *Ehrlichia* を標的とした系では 3 件が陽性、1 件が 35 サイクルからシグナルの増殖が見られる疑陽性となった。今回構築した Real-time PCR 系は、若干の交差は認められるもののダニ媒介性リケッチア症、エーリキア症を網羅的にスクリーニングでき、ダニ媒介性疾患の病原体検索には有効と考えられた。[安藤秀二、荒川香南子、佐藤　梢、小川基彦、岸本寿男、川端寛樹・高野愛(細菌第一部)、藤田博己(大原総合病院付属大原研究所)]

（2）*Rickettsia massiliae* の rOmpA 外膜タンパク質の *Rhipicepharus turanicus* のライフサイクルにおける発現の変化

rOmpA は、紅斑熱群リケッチアの主要外膜タンパク質の一つで、リケッチアの細胞への進入や感染に重要であることが示唆されている。最近の報告で、*Dermacentor andersoni* と共生する *Rickettsia peacockii* は、ダニの細胞では rOmpA を発現してないことが明らかになった。我々は、*R.massiliae* が持続感染している *Rhipicepharus turanicus* の実験室内コロニーを確立した。そこで、共生リケッチアと rOmpA の発現との関係を明らかにするため、この共生している *R.massiliae* の rOmpA 外膜タンパク質の発現を、ダニのライフサイクルにおける異なるステージで解析した。rOmpA と rOmpB の発現を二重蛍光染色で解析した。この解析に、抗 *R.massiliae* 特異モルモット血清および格外膜タンパク質に対するモノクローナル抗体を使用した。また、我々はこれらのタンパク質の発現を、４，２５および３７℃の異なった温度で６日間飼育したあと、解析した。 蛍光染色後、特異蛍光を持つリケッチアを、共焦点レーザー顕微鏡で観察、カウントし、各タンパク質を持つリケッチアの割合を算出した。 [小川基彦、Philipe Brouqui・Didier Raoult (Unité des rickettsies, Marseille, France)]

（3）*Orientia tsutsugamushi* のマルチスペーサータイピング

マルチスペーサータイピングは、バクテリアのタイピングには極めて有用な方法である。いくつかのリケッチアやバルトネラのゲノムの比較解析から、非コード（スペーサー）領域は、コーディング領域より多様性が高いことが明らかになっている。すなわち、スペーサー領域が、タイピングのいい標的遺伝子になることが示唆されている。しかし、*O.tsutsugamushi* のゲノムはまだ報告されていない。そこで、今までに報告された６つのリケッチアのゲノムを比較し、colineality およびホモロージ

ーがよく保存されている遺伝子あるいは領域を選出し、PCR 用のプライマーを設計、*O.tsutsugamushi* に適用し、現在タイピングを試みている。[小川基彦、Philipe Brouqui・Pierre-Edouard Fournier・ Didier Raoult (Unité des rickettsies, Marseille, France)]

Ⅷ. クラミジアに関する研究

1. オウム病クラミジアに関する研究

（1）オウム病クラミジアのペットにおける感染実態把握に関する研究

本邦におけるオウム病クラミジア（*C. psittaci*）の感染実態を解明するため、動物展示施設、動物病院およびペット業者等における疫学調査を実施した。愛玩鳥における *C. psittaci* 感染状況のサーベイランスとして動物病院、動物園およびペット業者の協力を得て、国立感染症研究所ならびに岐阜大学に送付された鳥類由来検体から PCR を用い、*C. psittaci* の検出を行った。感染研における検討:本年度は、輸入卸売り業者、小売業者、動物病院および動物展示施設から感染研に送付された検体、計 371 検体を検査材料とし、*C. psittaci* の感染状況の調査を実施した。今回の陽性率は全体としては 0.5%であり、昨年度の 4.7%に比べ、かなり低率であった。全体では 4/83 (4.8%)、感染症疑い例では 4/36 (11.1%) であった。動物展示施設では陽性率は動物展示施設全体で 1/172 (0.5%) であった。 [柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、岸本寿男、宇根有美(麻布大学)、福士秀人(岐阜大学)]

（2）トリ検体から検出された *C. psittaci* 遺伝子の解析

過去の集団発生事例において感染源調査にトリ検体から検出された *C. psittaci* 遺伝子の解析が有用であったことから、本邦で飼育されている国内由来および外国由来のトリでの *C. psittaci* 遺伝子の解析を行った。解析に用いた *C. psittaci* 遺伝子は、2002 年 2 月から 2003 年 6 月の 1 年 5 ヵ月間に全国各地の 39 動物病院からクラミジア症診断を目的に真田らに送付された糞便またはクロアカスワブから抽出された遺伝子 13 検体。それに加えて、感染研でペット業者の鳥の糞便から検出された遺伝子１検体を用いた。これらを標準株(MN 株と 6BC 株)と遺伝子の比較解析を行い、また国内および外国鳥由来検体(各 7 検体)での違いを調べた。検出された *C. psittaci* 遺伝子の解析では、主要外膜蛋白（MOMP）の塩基配列は、いずれも、標準株である *C. psittaci* MN 株および *C. psittaci* 6BC 株とそれぞれ２塩基、5 塩基の違いのみで、99%の相同率を示し、外国由来鳥と国内由来鳥とで塩基配列の特に大きな相違は見出せなかった。[柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、岸本寿男、真田靖幸(小鳥の病院 BIRD HOUSE CBL)]

（3） *C. psittaci* 陽性鳥の治療法についての臨床的検討

C. psittaci 陽性の病鳥の治療については、これまで教科書的な基準はあるものの、実際には PCR で *C. psittaci* 陽性であっても無症状であることが多く、これら健康な保菌鳥についての排菌予防や除菌についての検討は乏しい。今回 PCR 陽性の鳥について治療経過に伴う除菌効果の検討を行った。*C. psittaci* 陽性と判定された外国由来のオキナインコ 1 羽に対し、2 週間のドキシサイクリンによる治療を実施した。治療終了 10 日後および 1 ヶ月後に、排菌の有無を検討したところ、いずれも糞便の PCR 陰性化は見られたが、クロアカスワブでは陽性であった。さらに 2 週間の追加投与を行ったが、その後の検査でも同様にスワブでは陽性であった。予防投与として 2 週間のドキシサイクリンは必ずしも十分といえない可能性があり、今後、投与方法、治療期間や投与薬剤の再検討を行う。 [柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、岸本寿男、宇根有美(麻布大学)]

2. 肺炎クラミジアに関する研究

（1）*Chlamydia pneumoniae* のタイピングに関する研究

C.pneumoniae は、現在までに４菌株の全塩基配列が公表されているが、非常に近似しているため、タイピングの困難さが予想される。これまでに２つの方法で試みた。はじめに、アガロースゲル電気泳動で簡単に判断できる、１０塩基以上大きさに差（挿入あるいは欠失）がある領域を対象にした。これは、分離された国別にしか区別できず、日本で分離された株は地域が異なるにもかかわらずすべて同じという結果になった。次に、７つの poly ”C ” 領域の ”C ”の数を対象にし、一塩基多型（SNP）を利用してより細かにタイピングできるか検討した。外国で分離された 6 株と日本で分離された 22 株を用いた。

現在までに全塩基配列が明らかにとなっている菌株の情報を比較して、一塩基変異のある領域を検索し、一塩基プライマー伸長法を用いてタイピングした。現時点では、数ある一塩基変異のうちのわずかしか検討できていない。このため、外国分離株を区別することも、日本分離株を区別することもできないが、まだ、多くの領域があり、今後検討の余地が残されている。[岸本寿男、小川基彦、安藤秀二、遠藤雅子・尾内一信(川崎医科大学)、山崎 勉(埼玉医科大学)]

（2）抗アレルギー剤の抗 *Chlamydia pneumoniae* 作用についての検討

C.pneumoniae 感染と、喘息発作との関連が論じられている。そこで、抗アレルギー剤の抗 *C.pneumoniae* 作用について検討した。抗アレルギー剤として、トラニラスト、オキサトミド、ペミロラストカリウム、フマル酸ケトチフェンを使用した。*C.pneumoniae* AR-39 株と HL 細胞を用いて、日本化学療法学会標準法に準じて、各抗アレルギー剤の MIC を求め、通常内服量にて期待できる血中濃度（Cmax）と比較した。また、接種菌液を各抗アレルギー剤と反応させた後に、細胞に接種して増殖抑制を判定する方法（pre-exposure method）により、抗アレルギー剤の pre-exposure MIC を計算した。今回検討した薬剤は、すべて *C.pneumoniae* 増殖抑制作用を有したが、MIC あるいは pre-MIC 値と Cmax との間に解離がみられるものが多かった。トラニラストは、通常の内服量で期待される最大血中濃度と同等の濃度で、*C.pneumoniae* の増殖を完全に抑制した。[佐藤　梢、山口 徹也、岸本 寿男、井上美由紀・山崎　勉(埼玉医科大学)]

（3）小児における *Chlamydia pneumoniae* 感染症の疫学

埼玉県西北部に位置する病院における、小児の *C.pneumoniae* 気道感染に関する調査を行った。1996～2003 年の期間に気道症状を有して埼玉医科大学病院小児科を受診した患児を対象とした。これらの患児より採取された血清 2544 検体を用いて micro-IF 法にて、抗 *C.pneumoniae* IgG 抗体の測定を行った。また、2000～2002 年の期間に採取した喀痰 579 検体で、Kubota のプライマーを用いた PCR 法により、*C.pneumoniae* の検出を行った。micro-IF 法による *C.pneumoniae* IgG 陽性率は、15%（372／2544）であったが、96 年：17%, 97 年：12%, 98 年：10%, 99 年：12%, 00 年：12%, 01 年：24%, 02 年：12%, 03 年：15%と、年次によりばらつきがみられた。PCR 法の陽性率は、8%（49／579）であり、00 年：13%, 01 年：10%, 02 年：6%であった。*C.pneumoniae* 抗体陽性率および喀痰からの *C.pneumoniae* 検出率には、年次による差異が見られ、地域における流行状況を反映しているものと考えられた。一方、抗体陽性率が最も高い年次と PCR 法陽性率が最も高い年次とでは、若干解離もみられた。[佐藤　梢、岸本寿男、山崎　勉・井上美由紀・伊東敦子・上原すゞ子・佐々木 望(埼玉医科大学)、増田周子・井筒　浩(日立化成工業)]

（4）韓国 U 島での *C. pneumoniae* によると思われる呼吸器感染症流行の疫学的検討

2004 年 3 月に済州島の近くの U 島の、小・中学校(総数 137 人)で咽喉痛、高熱や咳を伴う発生が報告された。全小学生の約 57%と全中学生の 60%に咽喉痛、発熱や咳が認められた。*C. pneumoniae* 検出のために咽頭スワブ検体から培養法と、Kubota のプライマーによる PCR 法が行われた。血清は、各患者から発症初期と 8 週目に採取され、micro-IF と ELISA キット（Bioclone 社）を用いて *C. pneumoniae* 特異抗体を測定した。発症早期の患者咽頭スワブの PCR での陽性率は 63%であったが、*C. pneumoniae* の分離をすることはできなかった。発症早期患者からのシングル血清のうち、ＥＬＩＳＡ法でＩｇM抗体陽性は 63%、その 8 週間後のＩｇM抗体陽性は 47%であった。しかし、早期と 8 週間目の間に、有意な IgG、IgA の上昇幅を認めた患者はいなかった。一方、発症早期患者のうち、MIF による IgM 抗体陽性は 58%、8 週間後は 47%であった。これに対して、血清で、IgG 抗体価が 2 倍上昇したのは 26%であった。韓国で *C. pneumoniae* 感染症流行の存在が明らかとなった。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、Kwang-Jun Lee・ Su-Jin Kwon・Song-Mee Bae・Kyu-Jam Whang・Young-Hee Lee・Ki-Sang Kim and Hee-BokOh(NIH, 韓国 CDC) 増田周子(日立化成工業)]

3. トラコーマクラミジアに関する研究

（1）カニクイザルをモデルとした *Chlamydia trachomatis* 急性感染期における局所変化、ならびに血中抗体価とケモカイン値の動態についての検討

C.trachomatis の感染既往がある Ct 抗体保有不妊婦人において、多くは結婚後 2 年以上の不妊期間を経て受診することから、Ct の慢性感染期にあると考えられる。そこで Ct 急性感染期の病態解明を目的とし、カニクイザルをモデルとして Ct の急性感染期における局所変化、ならびに血中抗体価やケモカイン値の動態を検討した。雌カニクイザル 2 頭に対し経膣的に Ct を接種し、感染初期における血中抗体価の推移とケモカイン値(RANTES および IL-8)の関係、ならびに摘出した内生殖器の病理組織学的所見を検討した。血中抗体の陽転化には、Ct の初回接種から 2～3 週間を要した。観察期間中に血中 RANTES および IL-8 値の有意な増加を認めなかった。一方、摘出した臓器において病理組織学的検討を行ったところ、子宮頚部においては著明な炎症所見を認めたが、卵管への炎症の波及は認めなかった。カニクイザルに Ct を成立させたモデルにおいて、急性期だけの短期的な観察では、子宮頚部の炎症所見と血中抗 Ct 抗体の検出だけに留まり、不妊婦人の慢性期にみる卵管の炎症所見やケモカインの検出には至らなかった。今後は Ct の慢性感染モデルを作製し、感染の波及に関する免疫学的な介入を更に検討したい。[岸本寿男、安藤秀二、平野由紀・柴原浩章(自治医科大学)、高橋敬一(高橋レディースクリニック)、山崎　勉・鈴木光明(埼玉医科大学)]

4. その他クラミジアに関する研究

（1）動物由来クラミジア感染症の病原体検出法の開発

TaqMan probe 法を用いた Real-time PCR により、迅速、感度、特異性に優れた動物由来クラミジア感染症の病原体検出法の開発および実用化を検討した。動物由来クラミジア感染症の特異的な検出法の開発の中で、これまでに作成した one step PCR 法に加えて、人獣共通感染症として関る可能性のある動物由来クラミジアのすべてを検出することを目的に、新たに TaqMan probe を用いた Real-time PCR 法の開発を目指した。新たに設計した Real-time PCR 系では、*C. psittaci* とともに動物由来の *C. caviae* および *C. pecorum* が検出可能であり、動物由来のクラミジアに特化した検出法としての有用性が示唆された。今後さらに他の動物由来クラミジアやその他の病原体についても特異性ならびに感度の検討を行い、実用的な検出法としての確立を目指す。 [柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、岸本寿男、福士秀人(岐阜大学)]

（2) STD 患者から分離されたクラミジア株 *C. caviae* OKM-2 SC10-6 株の遺伝子学的解析

近年性器クラミジア感染症の診断において、プラスミドを欠失した *C.trachomatis* の存在が、明らかとなり、PCR や LCR キットによる診断に予期せぬ過ちをもたらす可能性を示している。それに加えて Ct とそれ以外のクラミジア(*C.pneumoniae* や *C. caviae*)との混合感染の存在の報告も見られている。男性 STD 患者尿道から分離されたクラミジア株が *C. trachomatis biovar* I と *C. caviae* GPIC の mix population と疑われたため、plaque 法により、*C. caviae* GPIC と思われる株 OKM-2 SC10-6 株を更に単離し、その株の DNA 配列の解析を行った。またその DNA 配列に基づくクラミジア主要外膜たんぱく質のアミノ酸配列を予測した。シークエンスは、PCR 産物を ABI PRISM3100 に供し、DNA 配列を解析した。その結果、*C. caviae* OKM-2 SC10-6 は *C. caviae* GPIC 株との相同性が非常に高いことが判明した。本株が STD 患者から分離されたことから、現在の診断法の問題の解決とともに今後の疫学が必要である。[柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、岸本寿男、松本　明・村尾　航・公文裕巳(岡山大学)、福士秀人(岐阜大学)]

Ⅸ. その他の研究

1. その他の研究

（1）化学薬剤による未成熟染色体凝縮法（PCC）の確立とその応用

染色体の解析は種・亜種の同定に際し遺伝学的手段として必須のみならず、先天性染色体異常症の診断など医学的にも重要な手段である。また染色体は後天的に放射線や環境変異原物質などにより損傷を受け、これら傷害による発癌や晩発傷害の解決も医学的に大きな課題であり、染色体の解析は遺伝子の損傷を評価するための必須の手段である。しかしながら遺伝子の損傷の程度が大き

くなると、細胞周期の遅延あるいは停止により分裂中期染色体を得ることが困難あるいは不可能となり染色体解析そのものが不可能となっていた。未成熟染色体凝縮法はこの限界を克服する技術であり、オカダ酸あるいはカリクリンAなどの蛋白質脱リン酸化酵素阻害剤により極めて簡便で効率的に PCC を誘発する方法を開発した。この方法により従来困難であった染色体の解析に広く利用されることとなり、放射線生物学、環境変異原学、あるいは出生前診断などの広い分野に応用されている。[後藤　英介]

（2）未成熟染色体凝縮法（PCC）を利用した簡便な大線量被曝での生物学的被曝線量計の開発

放射線被曝事故における被曝線量の推定には染色体の損傷を指標とする生物学的線量計が手法も確立され広く使われている。しかしながら従来のコルセミドを用いた分裂中期染色体を得る方法では、被曝線量が大きくなると分裂中期染色体を得ることが困難となり、１０Gy を超える被曝線量の算定は事実上不可能であった。1996年に PCC 法を利用して４０Gy まで被曝線量を算定するプロトコルを発表したが、染色体ペインティング法を使うため、施行できる施設は限られていた。緊急時より簡便に線量の算定を可能とするため、ギムザ染色した染色体標本（G2-PCC）で被曝線量を算定するプロトコル（i）染色体断片数を指標、(ii)染色体断片長の最長/最短の比、を開発し４０Gy までの被曝線量を簡便迅速に算定することを可能とした。[後藤　英介]

（3）C 型肝炎ウイルス(HCV)の HCV の受容体の探索と感染機構の解明

HCV の受容体探索を昆虫ウイルスであるバキュロウイルス発現系にて作製した HCV 擬似粒子(HCV-LP)および水泡性口内炎ウイルスの表面に HCV のエンベロープ蛋白質を被った擬 HCV を用いて HCV の受容体を探索した。その結果、ヒト繊維芽細胞成長因子受容体(hFGFR)がその感染に関与していることを明らかにした。[林　昌宏、菰田泰正・鈴木健介・谷　英樹・松尾栄子・津田祥美・森石恆司・松浦善治（阪大微研)、宮村達男（ウイルス第 2 部）]

（4）ヒト肝癌由来細胞で作製した HCV 様粒子(HCV-LP)の性状

HCV の主要な標的細胞であるヒト肝臓由来の細胞を用いて HCV 様粒子(HCV-LP)を作製し、その性状を検討した。その結果 HCV のコア蛋白質から NS2 蛋白質までを含んだクローンをヒト肝癌由来の FLC4 細胞に導入した場合に培養上清中に多くの HCV-LP が得られ、精製した結果抗 HCV E1、E2 蛋白質抗体を用いた免疫電顕で、40-50nm の粒子が観察された。[林　昌宏、松尾栄子・菰田泰正・森石恆司・松浦善治（阪大微研)、八木慎太郎（先端研）]

（5）バキュロウイルスを用いたターゲッティングベクターの開発

バキュロウイルスを用いたベクターの開発において、バキュロウイルス gp64 を欠損させ目的のリガンドだけを持ったシュードタイプウイルスを作製し、細胞種特異的な遺伝子導入を検討した。その結果目的のリガンドのみをバキュロウイルスの粒子表面に提示できるシュードタイプウイルスの作製系を構築した。[林　昌宏、北川善紀・谷　英樹・松永(松岡)朋子・田鍬修平・森石恆司・松浦善治（阪大微研）]

レファレンス業務

1.　フラビウイルスに関する行政検査

ウエストナイルウイルス 5 件、日本脳炎ウイルス 2 件、デングウイルス 3 件の行政検査が 10 件依頼され、これを実施した。[高崎智彦、伊藤美佳子、根路銘令子、田島茂、林昌宏、倉根一郎]

2.　リケッチアに関するレファレンス業務

四類全数把握届出感染症のQ熱、つつが虫病、日本紅斑熱、発疹チフスリケッチアおよび類症鑑別に必要な菌株の維持および抗原の作成を行った。また、地方衛生研究所、ならびに研究所等に対してリケッチア株を 1 施設に血清診断用の抗原を 2 施設に分与した。

行政検査ならびに一般検査として、患者約 20 名、計約 40 検体の血清診断および遺伝子検出などを行った。 [岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、倉根一郎]

3. クラミジアに関するレファレンス業務

クラミジア特異抗体測定のための micro-IF 用抗原の精製を *C. psittaci* Budgerigar No.1 株、*C.trachomatis* D 株(C/TW-3/OT)、*C.pneumoniae* AR-39 株について行った。国内研究施設への分与は細胞 2 箇所、クラミジア株 3 箇所、micro-IF 抗原 8 箇所に行った。行政検査ならびに一般検査として国内から市中肺炎例のクラミジア 3 種の抗体価、PCR、分離等を約 100 例 200 検体にて施行した。 [岸本寿男、安藤秀一、小川基彦、倉根一郎]

品質管理に関する業務

1. 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定

平成 16 年度は、1 ロットの乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定を実施し、合格と判定した。[緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、森川茂、倉根一郎]

２．備蓄乾燥痘そうワクチンの有効性試験

平成 16 年度は、乾燥痘そうワクチンの備蓄を開始して 24 年次に相当する。備蓄されている 12 ロットの力価及び安定性試験を、厚生省からの依頼試験により行った結果、いずれも有効な力価を保持していた。[緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、森川茂、倉根一郎]

3. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定および依頼検査

平成 16 年度は、24 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、24 ロット全てを合格と判定した。[根路銘令子、高崎智彦、伊藤美佳子、田島茂、林昌宏、倉根一郎]

4. 黄熱ワクチン依頼検査

平成 16 年度は２ロットの黄熱ワクチン依頼検査の行政検査を実施した。[田島茂、高崎智彦、伊藤美佳子、林昌宏、根路銘令子、倉根一郎]

5. 狂犬病ワクチンの検定

乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン３ロット（１６０１、１６０２、１６０３）について、生物学的製剤基準に基づいて、力価試験および不活化試験を行ない、合格と判定した。[森本金次郎、中道一生、伊藤睦代、倉根一郎]

6. 水痘ワクチンの検定

乾燥水痘生ワクチン国家検定７ロット、輸出用ワクチン依頼検査 9 ロット、水痘抗原国家検定１ロットを実施し、全ロットとも合格と判定した。[井上直樹、原田志津子、野澤直樹、倉根一郎]

国際協力関係業務

1. 東ティモールにおけるデング熱/デング出血熱流行に関する派遣調査

2005 年 2 月 11 日-3 月 4 日にかけて World Health Organization (W.H.O.) Global Outbreak Alert and Response Network (GOARN) によるフィールドミッションの要請を受け、現地調査を行い、東ティモールにおけるデング熱、出血熱およびショック症候群アウトブレイクに対するデング診断および実験施設の立ち上げとガイダンス・トレーニングを実施した。さらに、本アウトブレイクについて血清学的・ウイルス系統学的方面から検討および解析を行った。また、東ティモールにおいて流行しているマラリアとの鑑別診断、および日本脳炎の流行に関する予防対策等の検討を行った。 [伊藤美佳子、津田良夫（昆虫医科学部）]

研修業務

1. 韓国国立予防衛生研究所から 2 名を受け入れクラミジアの検査法の短期研修を行った[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、倉根一郎]

2. Q 熱検査法の研修に地方衛生研究所から 1 名を受け入れ短期研修を行った。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、倉根一郎]

3. クラミジア検査法の研修に地方衛生研究所から 3 名を受け入れた。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、倉根一郎]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1) Chanama, C., Anantapreecha, S., A-nuegoonpipat,

A., Sa-gnasang, A., Kurane, I., and Sawanpanyalert, P.: Analysis of specific IgM responses in secondary dengue virus infections : levels and positive rates in comparison with primary infections. Journal of Clinical Virology. 31(3):185-189, 2004.

2) Hombach, J., Kurane, I., and Wood, D.: Arguments for live flavivirus vaccines. Lancet. 364(9433)(Aug 7):498-499, 2004

3) Li, W.-Y., Song, H., Fu, S.-H., Wang, H.-Y., Yu, Y.-X., Dong, G.-M., Tao, S.-J., Chen, D., Kurane, I., and Liang, D.-D.: The molecular biology of Japanese encephalitis viruses isolated in China. (In Chinese) Chinese Journal of Virology. 20 (3): 200-209, 2004.

4) Wang, H.-Y., Fu, S.-H., Li, W.-Y., Song H., Min J-G., Deng J., Yang Y-L., H., Kurane, I., and Liang, G.-D.: Isolation and identification pof genotype I Japanese encephalitis virus in China. (In Chinese) Chinese Journal of Microbiology and Imunology. 24(11): 843-848, 2004.

5) Anantapreecha, S., Chanama, S., A-nuegoonpipat, A., Naemkhunthot, S., Sa-ngasang, A., Sawanpanyalert, P., and Kurane, I.: Annual changes of predominant dengue virus serotypes in the 6 regional hospitals in Thailand from 1999 to 2002. Dengue Bulletin 28: 1-6, 2004

6) Anantapreecha, S., Chanama, S., A-nuegoonpipat, A., Naemkhunthot, S., Sa-ngasang, A., Sawanpanyalert, P., and Kurane, I.: Serological and virological features of dengue fever and dengue hemorrhagic fever in Thailand from 1999 to 2002. Epidemiology and Infection. Epidemiology and Infection 133(3):503-507, 2005

7) Pandey, B.D., Rai, S. K., Morita, K. and Kurane, I.: First case of dengue virus infection in Nepal. Nepal Medical College Journal. 6 (2): 157-157, 2005

8) Hombach, J., Barrett, A.D., Cardosa, M.J., Deubel, V., Guzman, M., Kurane, I., Roehrig, J.T., Sabchareon. A., Kieny, M.P.: Review on flavivirus vaccine development. Proceedings of a meeting jointly organised by the World Health Organization and the Thai Ministry of Public Health, 26-27 April 2004, Bangkok, Thailand. Vaccine. 23(21):2689-2695, 2005

9) Ohnishi, K., Sakaguchi, M., Kaji, T., Akagawa, K., Taniyama, T., Kasa,i M., Tsunetsugu-Yokota, Y., Oshima, M., Yamamoto, K., Takasuka, N., Hashimoto, S., Ato, M., Fujii H, Takahashi Y, Morikawa S, Ishii K, Sata T, Takagi H, Itamura S, Odagiri T, Miyamura, T., Kurane, I., Tashiro, M., Kurata, T., Yoshikura, H., Takemori, T.: Immunological detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus by monoclonal antibodies. Jpanese Journal of Infectious Diseases 58(2):88-94, 2005

10）Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Matsuyama S, Miyajima N, Taguchi F, Itamura S, Kurane I, Morikawa S.: Vesicular stomatitis virus pseudotyped with severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. Journal of General Virology 86: 2269-2274, 2005

11）Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S.: Possible horizontal transmisssion of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus from a mother to her child. Japanese Journal of Infectious Diseases 57:55-57, 2004

12）Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S.: Modification of endothelial cell functions by hantaan virus infection: prolonged hyper-permeability induced by TNF-alpha of hantaan virus infected endothelial cell monolayers. Archives of Virology 149: 1279-1292, 2004

13）Saijo M, Suzutani T, Morikawa S, Kurane I.: Genotypic characterization of the DNA polymerase and sensitivity to antiviral conpounds of foscarnet resistant HSV-1 derived from a foscarnet-sensitive herpes simplex virus type 1. Antimicrobiol Agents and Chemotherapy 49:606-611, 2005

14）Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. : Recombinant nucleoprotein-based serological diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic

fever virus infections. Journal of Medical Virology 75:295-299, 2005

15）Saijo M, Ogino T, Taguchi F, Fukushi S, Mizutani T, Notomi T, Kanda H, Minekawa H, Matsuyama S, Long HT, Hanh NTH, Kurane I, Tashiro M, Morikawa S.: Recombinant nucleocapsid protein-based IgG enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of SARS. Journal of Virological Methods 125:181-186, 2005

16）Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S.: Phosphorylation of p38 MAPK and its downstream targets in SARS coronavirus-infected cells. Biochem Biophys Res Commun. 2004. 319:1228-1234

17）Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S.: Importance of Akt signaling pathway for apoptosis in SARS-CoV-infected Vero E6 cells. Virology 2004. 327, 169-174.

18）Mizutani T, Fukushi S, Murakami M, Hirano T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S.: Tyrosine dephosphorylation of STAT3 in SARS coronavirus-infected Vero E6 cells. FEBS Letters. 2004. 577:187-192.

19）Lokugamage N, Kariwa H, Lokugamage K, Iwasa MA, Hagiya T, Yoshii K, Tachi A, Ando S, Fukushima H, Tsuchiya K, Iwasaki T, Araki K, Yoshimatsu K, Arikawa J, Mizutani T, Osawa K, Sato H, Takashima I.: Epizootiological and epidemiological study of hantavirus infection in Japan. Microbiol Immunol. 2004. 48:843-851.

20）Shirato K, Kimura T, Mizutani T, Kariwa H, Takashima I.: Different chemokine expression in lethal and non-lethal murine West Nile virus infection. J Med Virol. 2004 74:507-513.

21）Yoshii K, Konno A, Goto A, Nio J, Obara M, Ueki T, Hayasaka D, Mizutani T, Kariwa H, Takashima I.: Single point mutation in tick-borne encephalitis virus prM protein induces a reduction of virus particle secretion. J Gen Virol. 2004 85:3049-3058.

22）Iwasa MA, Kariwa H, Cui BZ, Lokugamage K, Lokugamage N, Hagiya T, Mizutani T, Takashima I.: Modes of hantavirus transmission in a population of Clethrionomys rufocanus bedfordiae inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses. Arch Virol. 2004. 149:929-941.

23）Hayasaka D, Gritsun TS, Yoshii K, Ueki T, Goto A, Mizutani T, Kariwa H, Iwasaki T, Gould EA, Takashima I.: Amino acid changes responsible for attenuation of virus neurovirulence in an infectious cDNA clone of the Oshima strain of tick-borne encephalitis virus. J Gen Virol. 2004. 85:1007-1018.

24）Lokugamage K, Kariwa H, Lokugamage N, Iwasa M, Hagiya T, Araki K, Tachi A, Mizutani T, Yoshimatsu K, Arikawa J, Iwasaki T, Takashima I.: Comparison of virulence of various hantaviruses related to hemorrhagic fever with renal syndrome in newborn mouse model. Jpn J Vet Res. 2004. 51:143-149.

25）Lokugamage K, Kariwa H, Lokugamage N, Miyamoto H, Iwasa M, Hagiya T, Araki K, Tachi A, Mizutani T, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I.: Genetic and antigenic characterization of the Amur virus associated with hemorrhagic fever with renal syndrome. Virus Res. 2004. 101:127-134.

26）Iwasaki, T., Inoue, S., Tanaka, K., Sato, Y., Morikawa, S., Hayasaka, D., Moriyama, M., Ono, T., Kanai, S., Yamada, A. and Kurata, T.: Characterization of Oita virus 296/1972 of Rhabdoviridae isolated from a horseshoe bat bearing characteristics of both lyssavirus and vesiculovirus. Arch. Virol., 149(6): 1139-1154. 2004

27）Takasuka N, Fujii H, Takahashi Y, Kasai M, Morikawa S, Itamura S, Ishii K, Sakaguchi M, Ohnishi K, Ohshima M, Hashimoto SI, Odagiri T, Tashiro M, Yoshikura H, Takemori T, Tsunetsugu-Yokota Y.: A subcutaneously injected UV-inactivated SARS coronavirus vaccine elicits systemic humoral immunity in mice. Int Immunol., 16(10): 1423-30, 2004

28）Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S,

Yoshida S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Takai H, Okada C, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Matsumoto M, Kase T, Demello D.E., Peiris JSM, Chen P.J., Yamamoto N, Yoshinaka Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M.: The Development of vaccines against SARS Corona Virus in Mice and SCID-PBL/hu Mice. Vaccine, 23: 2269-2272, 2005

29) Saijo. M., Niikura, M., Maeda, A., Sata, T., Kurata, T., Kurane, I. and Morikawa, S.:Characterization of monoclonal antibodies to Marburg virus nucleoprotein (NP) that can be used for NP-capture enzyme-linked immunosorbent assay. Journal of Medical Virology 76 : 111-18, 2005.

30) Hatakeyama, S., Moriya, K., Saijo, M., Morisawa, Y., Kurane, I., Koike, K., Kimura, S., Morikawa, S.: Persisting humoral antiviral immunity within the Japanese population after the discontinuation in 1976 of routine smallpox vaccinations. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 12:520-524, 2005

31) Saijo, M., Morikawa, S., Fukushi, S., Mizutani, T., Hasegawa, H., Nagata, N., Iwata, N. and Kurane I.: Inhibitory effect of mizoribine and ribavirin on the replication of severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus. Antiviral Research 66:159-163, 2005

32）Kuwayama, M., Ito, M., Takao, S., Shimazu, Y., Fukuda, S., Miyazaki, K., Kurane, I. and Takasaki, T: Detection of Japanese encephalitis virus genome in cerebrospinal fluids from meningitis patients in Japan. Emerging Infectious Diseases. 11:471-3. 2005

33）Nawa, M., Takasaki, T., Ito, M., Kurane, I. and Akatsuka, T: Detection of Dengue Virus Serotype-specific IgM by IgM Capture ELISA in the Presence of Sodium thiocyanate (NaSCN). Dengue Bulletin. 28:118-25. 2005

34）Usuku, S., Noguch, Y., Takasaki, T.: Newly developed TaqMan Assay to detect West Nile viruses in a Wide Range. Jpn. J. Infect. Dic.57. 129-130.2004

35)Kunishige M, Mitsui T, Leong HN, Takasaki T, Kurane I, Mihara A, Matsumoto T. Preferential gray matter involvement in dengue myelitis. Neurology 63(10):1980-1981.2004

36)Ernawati Dewi Beti, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane. In vitro assessment of human endothelial cell permeability: effects of inflammatory cytokines and dengue virus infection. J. Virological Methods. 121: 171-180. 2004

37)Sato, G., Itou, T., Shoji, Y., Miura, Y., Mikami, T., Ito, M., Kurane, I., Samara, S. I., Carvalho, A. A., Nociti, D. P, Ito, F. H. and Sakai, T: Genetic and phylogenetic analysis of glycoprotein of rabies virus isolated from several species in Brazil. Journal of Veterinary Medical Science. 66:747-53. 2004

38)Takahashi M., Tajima S., Takeshima SN., Konnai S., Yin SA., Okada K., Davis WC., Aida, Y.: Ex vivo survival of peripheral blood mononuclear cells in sheep induced by bovine leukemia virus (BLV) mainly occurs in CD5- B cells that express BLV. Microbes and Infection, 6, 584-595, 2004

39)Tajima S., Takasaki T., Matsuno S., Nakayana M., Kurane I.: Genetic characterization of Yokose virus, a flavivirus isolated from the bat in Japan. Virology, 332, 38-44, 2005

40)Takahashi M., Tajima S., Okada K., Davis WC., Aida Y.: Involvement of bovine leukemia virus in induction and inhibition of apoptosis. Microbes and Infection, 7, 19-28, 2005

41)Owens, R.J., Lim, C.K., Roy, P.: Role of an arbovirus nonstructural protein in cellular pathogenesis and virus release. Journal of Virology. 78(12): 6649-6656, 2004

42)Kaimori, A., Kanto, T., Lim, C.K., Komoda, Y., Oki, C., Inoue, M., Miyatake, H., Itose, I., Sakakibara, M., Yakushijin, T., Takehara, T., Matsuura, Y., and Hayashi1, N.: Pseudotype hepatitis C virus enters immature myeloid dendritic cells through the interaction with lectin. Virology. 324(1): 74-83, 2004

43）Kitagawa, Y., Tani, H., Lim, C.K., Matsunaga,

T.M., Moriishi, K., Matsuura, Y.: Ligand-directed gene targeting to mammalian cells by pseudotype baculoviruses. Journal of Virology. 79(6): 3639-3652, 2005

44) Ito, M., Takasaki, T., Yamada, K., Nerome, R., Tajima, S. and Kurane I.: Development and Evaluation of Fluorogenic TaqMan Reverse Transcriptase PCR Assays for Detection of Dengue Virus Types 1 to 4.Ito M, Takasaki T, Yamada K, Nerome R, Tajima S, Kurane I.: Journal of Clinical Microbiology 42(12): 5935-5937, 2004.

45) Masaki, H., Fujii, Y., Tomura, T. and Kurane, I.: Induction of flavivirus cross-reactive CTLs by immunization with single dengue virus-derived CTL epitope peptide. Proceedings of 12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of FOCIS. pp 115-121, 2004.

46) Fujii,Y., Masaki,H.,Tomura,T., Irimajiri,K.,and Kurane,I.: Induction of cytotoxic T lymphocytes by immunization with dengue virus-derived, modified epitope peptide, using dendritic cells as apeptide delivery system. Dengue Bulletin 28: 145-150, 2004

47）Nakamichi, K., Inoue, S., Takasaki, T., Morimoto, K., and Kurane, I.: Rabies virus stimulates nitric oxide production and CXC chemokine ligand 10 expression in macrophages through activation of extracellular signal-regulated kinases 1/2. Journal of Virology 78: 9376-9388, 2004

48) Hemachudha, T., Wacharapluesadee, S., Mitrabhakdi, E., Wilde, H., Morimoto, K., and Lewis, R. A.: Pathophysiology of human paralytic rabies. Journal of Neurovirology 11: 93-100, 2005

49）Khawplod, P., Inoue, K., Shoji, Y., Wilde, H., Ubol, S., Nishizono, A., Kurane, I., and Morimoto, K.: A novel rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) of rabies virus using a recombinant rabies virus visualizing a green fluorescent protein. J. Virol. Methods 125: 35-40, 2005

50) Shoji, Y., Inoue, S., Nakamichi, K., Kurane, I., Sakai, T., and Morimoto, K.: Generation and characterization of P gene-deficient rabies virus. Virology. 315: 295-305, 2004.

51) Shoji, Y., Kobayashi, Y., Sato, G., Itou, T., Miura, Y., Mikami, T., Cunha, E.M., Samara, S.I., Carvalho, A.A., Nocitti, D.P., Ito, F.H., Kurane, I., and Sakai, T.: Genetic Characterization of Rabies Viruses Isolated from Frugivorous Bat (Artibeus spp.) in Brazil. Journal of Veterinary Medical Sciences 66(10):1271-1273, 2004.

52）Motoi Y., Inoue S., Hatta H., Sato K., Morimoto K., and Yamada A.: Detection of rabies-specific antigens by egg yolk antibody (IgY) to the recombinant rabies virus proteins produced in Escherichia coli. Jpn. J. Infect. Dis. 58: 115-118, 2005

53）Motoi, Y., Sato, K., Hatta, H., Morimoto, K., Inoue, S., and Yamada, A.: Production of rabies neutralization antibody in hen's eggs using a part of the G protein expressed in Escherichia coli. Vaccine 23: 3026-3032, 2005

54）Takayama-Ito M., Ito N., Yamada K., Minamoto N., and Sugiyama M.: Region at amino acids 164 to 303 of the rabies virus glycoprotein plays an important role in pathogenicity for adult mice. J. Neurovirol. 10: 131-135, 2004

55）Gotoh E, Tanno Y.: A simple biodosimetry method for cases of high dose radiation exposure using the ratio of longest/shortest length of Giemsa stained drug-induced prematurely condensed chromosomes (PCC). Int J Radiat Biol 81: 379-385, 2005

56) Gotoh E, Tanno Y, Takakura K.: Simple biodosimetry method for use in cases of high-dose radiation exposure that scores the chromosome number of Giemsa-stained drug-induced prematurely condensed chromosomes (PCC). Int J Radiat Biol 81: 33-40, 2005

57) Takakura K, Gotoh E, Sakano A, Funada A, Kanasugi Y, Okabe A, Kobayashi K.: Chromosomal aberrations in normal human cells induced by the auger effect via Ca atoms. Int J Radiat Biol 80(11-12): 881-888, 2004

58) Pozharskaya, V., Weakland, L.L., Zimring, J.C., Krug, L.T., Unger, E.R., Neisch, A., Joshi, H., Kroll T, Inoue, N. and Offermann, M.K.: The impact of viral interferon regulatory factr-1 expression on responsiveness to interferon alpha and the production of infectious human herpesvirus 8 by BCBL-1 cells. Journal of Virology 78:6621-35, 2004.

59）Krug, L.T., Pozharskaya, V.P., Yu, Y., Inoue, N. and Offermann, M.K.: Inhibition of infection and replication of human herpesvirus 8 in microvascular endothelial cells by alpha interferon and phosphonoformic acid. Journal of Virology 78: 78:8359-8371, 2004.

60）Inoue, N., Spira, T., Lam, L., Corchero, J.L. and Luo, W. Comparison of serologic responses between Kaposi's sarcoma-positive and -negative men who were seropositive for both human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus. J. Med. Virol. 74:202-206, 2004.

61）Wang, G., Xu, H., Wang, Y., Gao, X., Zhao, Y., He, C., Inoue, N. and Chen, H. Detection of human herpesvirus 8 DNA sequence and specific IgG antibodies in patients with pemphigus. J. Am. Acad.Dermatol. 52: 460-467, 2005.

62 ） Nozawa, N., Yamauchi, Y., Ohtsuka, K., Kawaguchi, Y. and Nishiyama, Y. Formation of aggresome-like structures in herpes simplex virus type 2-infected cells and a potential role in virus assembly. Exp Cell Res. 299:486-97, 2004.

63) Harada, S., Kamata, Y., Ishii, Y., Eda, H., Kitamura, R., Obayashi, M., Ito, S., Ban, F., Kuranari, J., Makamura, H., Kuze, T., Hayashi, M., Okabe, N., Senpuku, H., Miyasaka, N., Nakamura, Y., Kanegane, H., and Yanagi, K. Maintenance of serum immunoglobulin G antibodies to Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 2 in healthy indivisuals from different age groups in Japanese population with a high childhood incidence of asymptomatic primary EBV infection. Clin. Diag. Lab. Immunol. 11(1), 123-130 2004

64) Peng, C-W., Xue, Y., Zhao, B., Johanssen, E., Kieff, E. and Harada, S. Direct interactions between Epstein-Barr virus leader protein (EBNALP) and the EBNA2 acidic domain underlie cooperative transcriptional regulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(4), 1033-1038 2004

65) Nabeshima, T., Mori, A., Kozaki, T., Iwata, Y., Hidoh, O., Harada, S., Kasai, S., Severson, D.W., Kono, Y. and Tomita, T. An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in Japanese encephalitis vector mosquito, Culex tritaeniorynchus. B.B.R.C. 313, 794-801 2004

66) Eda H, Ishii Y, Obayashi M, Harada S, Ito S, Fujita T, Ikeda M, Kusano S, Kitamura R, Suzuki C, Hara T, Watanabe M, Satoh H, Sugihara K, Yanagi K.: Monoclonal antibodies against regions topologically surrounding the homodimeric beta-barrel interface of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1. Virus Res. Published online 2004.

67) Harada, S., Obayashi, M., Suzuki, C., Kitamura, R., Eda, H., Kikuta, H., Satoh, H., Sugihara, K. and Yanagi, K. : A monoclonal antibody that recognizes Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 (EBNA 2) amino acids 1-58 dose not react with EBNA 2 in native form, consistent with the self-association of EBNA 2 through the amino-terminus. Arch Virol. Published online 2005

68) Yamaguchi, T., Yamazaki, T., Inoue, M., Mashida, C., Kawagoe, K., Ogawa, M., Shiga, S., Nakagawa, Y., Kishimoto, T., Kurane, I., Ouchi, K., Ohzeki, T.: Prevalence of antibodies against *Simkania negevensis* in a healthy Japanese population determined by the microimmunofluorescence test. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 43(1):21-27, 2005

69）Ogawa, M., Setiyono, A., Cai, Y., Sato, K., Shiga, S., Kishimoto, T.: Evaluation of the PCR and Nested PCR Assays Currently Used for Detection of *Coxiella burnetii* in Japan. Southeat Asian J Trop Med and Public Health. 35(4): 151-4. 2004

70）Toyokawa M,Kishimoto T,Cai Y,Ogawa M,Shiga S,Nishi I,Hosotsubo H,Horikawa M,Asari S:Severe *Chlamydophila psittaci* pneumonia rapidly diagnosed by detection of antigen in sputum with immunochromatography assay. Jinfect Chemother;10:245-249,2004.

71)Yamazaki, T., Inoue, T., Ogawa, M., Shiga, S., Kishimoto,T., Hagiwara,T., Matsumoto,T., Hayashi, T.: Inactivation of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia(Chlamydophila)pneumoniae* by ozone.Letters in Applied Microbiology 38:406-409,2004

72)Yamaguchi T, Yamazaki T, Inoue M, Ogawa M, Shiga S, Nakagawa Y, KishimotoT, Ouchi K, Ohzeki T. Factors improving the propagation of *Simkania negevens* is strain Z in cell culture. Jpn J Infect Dis 57: 103-106, 2004

73) Lokugamage,N., Kariwa,H., Lokugamage,K., Iwasa,MA., Hagiya,T., Yoshii,K., Tachi,A., Ando,S., Fukushima,H., Tsuchiya,K., Iwasaki,T., Araki,K., Yoshimatsu,K., Arikawa,J., Mizutani,T., Osawa,K., Sato,H. and Takashima,I.Epizootiological and Epidemiological Study of Hantavirus Infection in Japan.Microbiology and Immunology, 48, 843-851, 2004

74) Someya,K., Cecilia,D., Ami,Y., Nakasone,T., Matsuo,K., Burda,S., Yamamoto,H., Yoshino,N., Kaizu,M., Ando,S., Okuda,K., Zolla-Pazner,S., Yamazaki,S., Yamamoto,N. and Honda,M. Vaccination of Rhesus Macaques with Recombinant Mycobacterium bovis Calmette-Guerin Env V3 Elicites Neutralizing Antibody-Mediated Protection against Simian-Human Immunodeficiency Virus with a Homologous but Not a Heterologous V3 Motif. Journal of Virology, 79, 1452-1462,2005.

２．和文発表

1) 倉根一郎：ウエストナイル熱．薬の知識．55: 74-76, 2004

2) 新井智、多屋馨子、岡部信彦、高崎智彦、倉根一郎：わが国における日本脳炎の疫学と今後の対策について．臨床ウイルス．32: 13-22, 2004

3) 倉根一郎：デング熱・デング出血熱．臨床ウイルス．32: 23-29, 2004

4) 倉根一郎：ウエストナイルウイルス感染症．獣医疫学会雑誌．8(1): 1-3, 2004.

5) 倉根一郎：ウエストナイル熱流行の拡大．現代医療．36(11): 2225-2230, 2004.

6) 倉根一郎:ウエストナイル熱の現状と対策. 公衆衛生. 68 (11): 870-873, 2004.

7) 倉根一郎：デング熱. 感染症（竹田美文、木村哲　編）朝倉書店 77-80, 2004.

8) 倉根一郎：ウエストナイル熱. 感染症（竹田美文、木村哲　編）朝倉書店 135-140, 2004.

9) 倉根一郎：黄熱　共通感染症ハンドブック（日本獣医師会）p104-105, 2004

10) 倉根一郎：ウエストナイルウイルス感染症. Annual Review 神経 2005．113-118, 2005.

11) 倉根一郎：トガウイルスと感染症. 標準微生物学（第 9 版）（平松啓一、中込治編）医学書籍　453-456, 2005

12) 倉根一郎：フラビウイルスと感染症．標準微生物学（第 9 版）（平松啓一、中込治編）医学書籍　456-462, 2005

13) 西條政幸、倉根一郎：アレナウイルスと感染症．標準微生物学（第 9 版）（平松啓一、中込治編）医学書籍 501-504, 2005

14) 西條政幸、倉根一郎：フィロウイルスと感染症．標準微生物学（第 9 版）（平松啓一、中込治編）医学書籍 504-507, 2005

15）西條政幸、森川茂、倉根一郎：クリミア・コンゴ出血熱．ウイルス 54:223-228, 2004

16）西條政幸：SARS のウイルス学的診断．現代医療 36:2186-2190, 2004

17)水谷哲也､田口文広:SARS ウイルスのワクチン.「からだの科学」増刊号　pp21-27. 2004.

18）水谷哲也、田口文広：SARS ウイルスーワクチン開発の現状-．「綜合臨床」53(6), 1968-1975. 2004

19）水谷哲也：SARS-CoV に関する最新の研究と今後の展望．「ウイルス」54(1), 97-105. 2004.

20）水谷哲也、田口文広：SARS コロナウイルスのワク

チン開発　「細胞工学」23(7), 795-800. 2004
21）水谷哲也：SARS ウイルスのワクチン・治療薬 –開発の展望– 「最新医学」59(12), 2565-2576. 2004.
22）森川 茂：ウイルス性出血熱、アニムス、第 9 巻第 1 号、15-20、2004
23)森川 茂:サル痘､感染症の事典､朝倉書店､pp107-109、2004
24）森川 茂：サル痘、感染症予防必携（第 2 版)、日本公衆衛生協会､pp156-158　(ISBN4-8192-0188-3)､2005
25）森川 茂：痘そう、感染症予防必携（第 2 版)、日本公衆衛生協会、pp263-265 (ISBN4-8192-0188-3)、2005
26）森川 茂：サル痘、朝倉書店「感染症」
27）森川 茂、倉根一郎：ポックスウイルスと感染症、標準微生物（第 9 版)、医学書院、pp519-521、2005
28）森川 茂：ラッサ熱、獣医公衆衛生学（第 3 版)、文永堂出版、pp91-92、2004
29）森川 茂：南米型出血熱､獣医公衆衛生学（第 3 版)、文永堂出版、pp92-93、2004
30）森川 茂：ニパウイルス感染症、家庭医学大全科、法研、pp2770、2004
31）森川 茂：リンパ球性脈絡髄膜炎、共通感染症ハンドブック、日本獣医師会、pp230-231、2004
32）森川 茂：マールブルグ病、感染症の診断・治療ガイドライン 2004、日本医師会、pp78-79、2004
33）森川 茂：サル痘、感染症の診断・治療ガイドライン 2004、日本医師会、pp144-145、2004
34）森川 茂：ニパウイルス感染症、感染症の診断・治療ガイドライン 2004、日本医師会、pp128-129、2004
35）森川茂：サル痘､新興再興感染症ーSARS の教訓［からだの科学（増刊)］日本評論社、pp188-191、2004
36）森川茂：天然痘ワクチンの復活　小児科臨床（特大号／ワクチンのすべて）　67：11、2004
37）森川茂：ウイルス性出血熱.　Modern Physician 25(5): 508-512、2004
38）高崎智彦:　急性脳炎（ウエストナイル脳炎及び日本脳炎を除く）.　感染症の診断・治療ガイドライン 2004（日本医師会感染症危機管理対策室、厚生労働省健康局結核感染症課　監修）190-191,2004
39）高崎智彦、倉根一郎: ウエストナイル熱.日本医事新報　4200:24-27,2004
40）高崎智彦:　デング熱/デング出血熱.　感染症の事典（国立感染症研究所学友会編集）朝倉書店 166-167,2004
41）高崎智彦:　日本脳炎.　感染症の事典（国立感染症研究所学友会編集）朝倉書店 186-187,2004
42）高崎智彦:　黄熱.　感染症の事典（国立感染症研究所学友会編集）朝倉書店 34-36,2004
43）高崎智彦:　ダニ媒介性脳炎.　感染症の事典（国立感染症研究所学友会編集）朝倉書店 148-149,2004
44）高崎智彦: 日本脳炎、その他のウイルス性脳炎.　家庭医学大全科 法研 2631-32,2004
45)高崎智彦: 各論　RNA ウイルス群　スタンダード微生物学［保健微生物学･感染症学］文光堂 325-334,2005
46）高崎智彦: 各論　プリオン　スタンダード微生物学［保健微生物学･感染症学］文光堂 335-336,2005
47）高崎智彦: 特集　人と動物の共通感染症.　自然界からの侵入　ウエストナイルウイルス.　Pharma Medica 22(11):21-23, 2004
48）高崎智彦:　知っていますか？　国際感染症：ウエストナイル熱,ウエストナイル脳炎.　臨床看護 31(2):164-168,2005
49）高崎智彦：ウエストナイル熱の診断と検査.臨床とウイルス.33(1).22-27,2005
50）高崎智彦、倉根一郎：ウエストナイルウイルス感染症と移植.今日の移植.17(1): 144-149, 2004
51) 田島茂、倉根一郎：ウエストナイル熱.からだの科学　増刊「新興再興感染症　SARS の教訓」(岡部信彦編)日本評論社 156-160, 2004
52）根路銘令子、倉根一郎：日本脳炎ワクチン　小児科診療.67(11)：1897-1905,2004
53)伊藤美佳子: ウエストナイル熱.　感染症の辞典,　編集者. 岡部信彦、木村幹男、小泉信夫、斎藤典子、堀田国元. (朝倉書店), 18-19. 2004
54）伊藤美佳子, 高崎智彦: 特集：輸血と感染症　2.新興輸血感染症　2)ウエストナイル熱・ウエストナイル脳炎. 血液フロンティア. Vol.13,　No.5,　29-33. 2003 医薬ジャーナル社
55）森石恆司、林 昌宏、松浦善治：ICV 受容体の候補分子　日本臨床　62　Suppl 7 (Pt 1): 191-194, 2004
56) 田部井由紀子、吉田靖子、長谷川道弥、長島真美、村田以和夫、諸角聖、山田堅一郎、高崎智彦、倉根一郎：

デングウイルス初感染例における中和抗体測定による血清型判定が可能な病日期間の検討．臨床ウイルス．32: 30-35, 2004

57) 根路銘玲子、倉根一郎：日本脳炎ワクチン．臨床検査．49(4): 399-415, 2004.

58) 江下優樹、高崎智彦、井村俊郎、内田幸憲、高島郁夫：ウエストナイルウイルスとその媒介蚊．九州実験動物雑誌　(20)：31-39, 2004

59) 伊藤美佳子、倉根一郎：ウエストナイル熱と日本脳炎．化学療法の領域 120(2): 33-38,2004

60）森本金次郎、井上智：リッサウイルス感染症　竹田美文･木村哲編「感染症」 pp.179-182　朝倉書店　2004

61）蔡燕、小川基彦、志賀定祠、アグス・セティヨノ、福士秀人、田原研司、安藤秀二、岸本寿男：糞便材料からのオウム病クラミジアの検出法の比較．感染症学雑誌 79: 143-145, 2005

62）岸本寿男：特集ⅡDNA 診断で何が言えるか?　性器クラミジア 日本性感染症学会誌 16:34-37,2005

63）岸本寿男：動脈硬化に抗菌薬は必要か-クラミジア感染をめぐって　抗菌薬 UPDATE　医学のあゆみ　医歯薬出版　209:623-625 2004

64）岸本寿男：特集肺炎の診断と治療-新しい流れ　クラミジア・ニューモニエ肺炎　成人病と生活習慣病 34:1382-1387,東京医学社

65）岸本寿男、安藤秀二、小川基彦：非定型病原体の現状．感染と抗菌薬，特集―非定型肺炎の鑑別・診断・治療のポイント，感染と抗菌薬．ヴァンメディカル 7，258－263，　2004

66）安藤秀二、岸本寿男：塗抹検査を中心とした微生物・寄生虫検査，リケッチア. 臨床と微生物, 31, 531－534, 2004

67）安藤秀二、岸本寿男：動脈硬化―その成り立ちと臨床検査―感染因子．臨床検査，48，1337－1342，2004

68）岸本寿男、小川基彦、安藤秀二：呼吸器感染症の最新診断法の評価－Q 熱．呼吸器科，７，40－47，2005

69）岸本寿男、安藤秀二：感染症の続発症－クラミジア感染と動脈硬化．最新医学，60，179－185，2005

70）岸本寿男：特集性器クラミジア感染症 1999～2003 年　特集関連情報　クラミジアの分類について　病原微生物検出情報　25,200,2004

71）安藤秀二、松浦久美子、小原真弓、岩井雅恵、長谷川澄代、永井美之、田中桂子、飛田忠嗣、番留忠司、田中有易知、宮田英喜：インフルエンザ流行予測調査．富山県衛生研究所年報，27，84-90, 2004 年 10 月

72）渡辺 護、安藤秀二、出村尚子、城石将幸、小原真弓、長谷川澄代、松澤留美子、小林睦生：富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査. 富山県衛生研究所年報，27，68－77，2004 年 10 月

73）岩井雅恵、松浦久美子、棚辺今日子、安藤秀二、永井美之:富山県において 1981 年から 2003 年の期間に手足口病患者から分離されたコクサッキーウイルス A16 型及びエンテロウイルス 71 型の VP1 領域の遺伝子解析. 富山県衛生研究所年報，27，91－100，2004 年 10 月

74）岩井雅恵、松浦久美子、長谷川澄代、安藤秀二、小原真弓、永井美之、番留忠司、田中桂子、飛田忠嗣、田中有易知、瀧波賢治：ポリオ流行予測調査．富山県衛生研究所年報，27，78-83, 2004 年 10 月

75）長谷川澄代、小原真弓、岩井雅恵、松浦久美子、安藤秀二、永井美之：ウイルス性胃腸炎の集団発生について（2003 年度）．富山県衛生研究所年報，27，106-111, 2004 年 10 月

76）小原真弓、長谷川澄代、岩井雅恵、安藤秀二、松浦久美子、永井美之：2003 年度に発生した感染性胃腸炎から検出されたノロウイルスの遺伝子解析．富山県衛生研究所年報，27，112-115, 2004 年 10 月

77）岩井雅恵、長谷川澄代、松浦久美子、安藤秀二、小原真弓、永井美之：富山県における平成 15 年度のウイルス検出状況．富山県衛生研究所年報，27，149-151, 2004 年 10 月

78）小川基彦：Q熱・感染症の辞典．国立感染症研究所学友会編．p.67-68 朝倉書店．2005

79）小川基彦：つつが虫病・感染症の辞典．国立感染症研究所学友会編．p.161-162 朝倉書店．東京．2005

80）小川基彦：日本紅斑熱・感染症の辞典．国立感染症研究所学友会編．p.184-185 朝倉書店．東京．2005

81）岸本寿男：オウム病・感染症の辞典．国立感染症研究所学友会編．p.37-38 朝倉書店．東京．2005

82）岸本寿男：クラミジア肺炎(オウム病を除く)・感染症の辞典．国立感染症研究所学友会編．p.72-73 朝倉書店．東京．2005

83）岸本寿男:オウム病　感染症　竹田美文ほか編 p.89-93 朝倉書店　2004 年 9 月

84）岸本寿男:クラミジア肺炎(オウム病を除く)　感染症 竹田美文ほか編　p.282-286 朝倉書店　2004

85）岸本寿男:つつが虫病 p.2720-2721 高久ほか監修 家庭医学大全科,法研.2004.

86）岸本寿男:エーリキア症 p.2721-2722 高久ほか監修 家庭医学大全科,法研.2004.

87）岸本寿男:Q熱 p.2722 高久ほか監修 家庭医学大全科,法研.2004.

88）岸本寿男:オウム病 p.2722-2723 高久ほか監修 家庭医学大全科,法研.2004.

89）岸本寿男:肺炎クラミジア感染症 p.2723 高久ほか監修 家庭医学大全科,法研.2004.

90）岸本寿男:日本紅斑熱 p.2723-2724 高久ほか監修 家庭医学大全科,法研.2004.

91）岸本寿男：オウム病・子どもにうつる動物の病気. 神山恒夫ほか編　p.180-181 真興交易(株)医学出版部. 2005

92）岸本寿男：飛沫感染ケーススタディ⑤　クラミジア肺炎　病院感染こんなときどうする!? 中小病院/診療所編 p.67-69　小林寛伊ほか編,　南山堂　2005

93）岸本寿男、小川基彦：オウム病,　クラミジアニューモニエ肺炎　実地診療にすぐ役立つ実践抗生物質・抗菌薬療法ガイド　Medical Practice 編集委員会編 p.241-245 文光堂　2005

94）岸本寿男：クラミジア・ニューモニエ感染症　今日の治療指針 2005 年　山口徹ほか編　　p.157,医学書院 2005

95）岸本寿男：薬物療法の実際　抗菌薬による治療　非定型肺炎と推定された場合　高齢者診療のツボ　肺炎 斉藤厚 編　p.124-126 日本医事新報社　2005

96）安藤秀二、岸本寿男：リケッチア感染症の検査実施時のポイント. 感染症診療のコツと落とし穴(斉藤厚 編), p.30, 中山書店　2004

97）岸本寿男、安藤秀二：クラミジア呼吸器感染症の検査時のポイント. 感染症診療のコツと落とし穴（斉藤厚 編), p.18, 中山書店　2004

98）岸本寿男、安藤秀二：クラミジア呼吸器感染症の治療ポイントと薬剤処方例. 感染症診療のコツと落とし穴（斉藤厚 編), p.66, 中山書店　2004

99）岸本寿男、小川基彦、安藤秀二：診断ー原因診断～意義と問題点 非定型病原体検査, 小児の肺炎(砂川慶介, 尾内一信 編), p.71－77, 医薬ジャーナル社　2004

100）安藤秀二、岸本寿男：リケッチア･クラミジア感染症. ネオエスカ・感染症･アレルギーと生態防御（倉田毅 編著), p.119－124, 同文書院　2005

101）岸本寿男、安藤秀二：リケッチア･クラミジア感染症. ネオエスカ・感染症･アレルギーと生態防御（倉田毅 編著), p.124－129, 同文書院　2005

102）岸本寿男：オウム病　感染症の診断・治療ガイドライン 2004 日本医師会編　p.114-115 医学書院　2005

103）岸本寿男：クラミジア肺炎(オウム病を除く)　感染症の診断・治療ガイドライン 2004 日本医師会編 p.288-289 医学書院　2005

104）岸本寿男：オウム病　感染症予防必携第 2 版　山崎修道ほか編　p.109-113　日本公衆衛生協会　2005

105）岸本寿男：クラミジア肺炎　感染症予防必携第 2 版　山崎修道ほか編　p.294-296 日本公衆衛生協会 2005

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Saijo M, Tang Q, Kurane I, Morikawa S. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections in the Xinjiang Uygur Autonomous Region, P. R. China. 5th Japan-China Virology Conference. June 2004, Osaka, Japan

2) Saijo M. Crimean-Congo hemorroahgic fever in the Xinjiang Uygur Autonomous Region, P. R. China. Research activities towards the control of viral hemorrhagic fever (University of Hokkaido). June 2004, Sapporo, Japan

3) Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Modification of endotheliral cell functions by Hantaan virus infection: prolonged heperpermiability induced by TNF-alpha of Hantaan virus-infected endothelial cell monolayers. International Conference on Hantavirus infections. June 2004, Seoul, South Korea

4) Saijo M. Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Xinjiang Uygur Autonomous Region, P. R. China. US-Japan Cooperative Medical Science Program Joint Panels Symposium on Vector-Borne Infectious Diseases and Control. December 2004, Kyoto, Japan

5) Takasaki, T. Newly developed method for dengue diagnosis. 5th Asia Pacific Travel Health Conference (Kuala Lumpur) October 4-7, 2004

6) Shigematsu, M., Takasaki, T., Yamashita, K., Kimura, M., Okabe, N. Imported dengue fever cases in Japan. 5th Asia Pacific Travel Health Conference (Kuala Lumpur) October 4-7, 2004

7) Kishiro, K., Kurosawa, Y., Yamamoto, A., Nakayama, M., Ogawa, T., Inoue, S., Takasaki,T., R R Matias, F Filipinas Natividad, Morita, K., Kurane, I. Detection of anti-dengue virus IgM by a particle agglutination assay system using hydroxyapatite-coated nylon beads. 5th Asia Pacific Travel Health Conference (Kuala Lumpur) October 4-7, 2004

8) Lim, C.K., Komoda, Y., Suzuki, K., Ohtsubaki, T., Tani, H., Matsuo, E., Tsuda, Y., Moriishi, K., Miyamura, T., Matsuura, Y.: Human fibroblast growth factor receptor 4 is a novel binding receptor for HCV. 11th International Symposium on Hepatitis C & Related Viruses. Heidelberg, Germany. October 3-7, 2004

9) Ito, M., Takasaki, T., Mukai, R., Nerome, R., Tajima, S., Ernawatewi, B. and Kurane, I: Augmentation of dengue virus infection by heterotypic anti-dengue virus monkey serum. Asian Dengue Network Meeting at Bangkok, Thailand. October 18-20, 2004.

10) Tajima S., Ito M., Takasaki T., Kurane I.: Construction of a new infectious cDNA clone for dengue type 1 virus. 1st Asian Regional Dengue Research Network Meeting, Bangkok, Thailand, October 18-20, 2004

11) Matsuo, E., Lim, C.K., Komoda, Y., Kitagawa, Y., Miyamoto, H., Yagi, S., Moriishi, K., Matsuura. Y.: Characterization of HCV-like particles produced in a human hepatoma cell. 11th International Symposium on Hepatitis C & Related Viruses. Heidelberg, Germany. October 3-7, 2004

12) Tajima S., Takasaki, T., Eshita, Y., Kurane,I. Characterization of Yokose virus, a Flavivirus, which was isolated from the Bat in Japan. Forties Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Congress. Kyoto, Japan, December 7-10, 2004

13) Eshita, Y., Takasaki, T., Imura, S., Uchida, Y., Takashima, I., Kurane, I. Diagnostics dengue and West Nile viruses in mosquitoes. Forties Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Congress. Kyoto, Japan, December 7-10, 2004

14) Shoji, Y., Kurane, I., Sakai, T., Morimoto, K.: Generation and Characterization of P gene-deficient rabies virus. 5th Japan-China International Congress of Virology, Osaka, Japan, June 10-11, 2004

15) Shoji, Y., Kurane, I., Sakai, T., Morimoto, K.: Potential utility of P gene-deficient rabies virus as a live vaccine. 4th World Congress on Vaccines and Immunisation, Tukuba, Japan, September 30–October 3, 2004

16) Ito-Takayama, M., Shoji, Y., Kurane, I., Morimoto, K.: Attenuated rabies virus, HEP-Flury strain, regains virulence in adult mice by single Glu333Arg substitution on glycoprotein. 38th US-Japan Joint Working Conference on Viral Diseases, Kyoto, Japan, December 6-8, 2004

17) Yamada, K., Ito, N., Takayama-Ito, M., Shimizu, K., Hosokawa, J., Sugiyama, M., Minamoto, N.: Genetic Analysis of RabiesVirus Attenuation. 38th US-Japan Joint Working Conference on Viral Diseases, Kyoto, Japan, December 6-8, 2004

18) Shimizu, K., Mita, T., Ito, N., Yamada, K., Takayama-Ito, M., Hosokawa, J., Sugiyama, M., Minamoto, N.: Determination of Complete Genome Sequences of a New Avirulent Strain of Rabies Virus and Identification of the Genes Associated with Virulence for Adult Mice. 38th US-Japan Joint

Working Conference on Viral Diseases, Kyoto, Japan, December 6-8, 2004

19) Yanagi, K, Harada, S, Kamata, Y, Kitamura, R, Okabe, N, Senpuku, H, Kanegane, H, Nakamura, Y. Maintenance of serum IgG antibodies to Epstein-Barr virus nuclear antigen-2 in healthy individuals from different age groups in a Japanese population with a highly childhood incidence of asymptomatic primary infection. The 11th biennial conference of the international association for research on Epstein-Barr virus and associated diseases. Regensburg, Germany, September 20th-25th, 2004.

20) Momoda, T., Ogawa, M., Kojima, T. , Ikedo, M., Sato, K., Setiyono, A., Kishimoto, T.: Sensitive and Rapid Detection of *Coxiella burnetii* by Loop-mediated Isothermal Amplification(LAMP), a Novel DNA Amplification Method. American Society for Microbiology 104th General Meeting. New Orleans, LA, USA. May 24, 2004.

21) Hirano, Y., Shibahara, H., Takahashi, K., Yamazaki, T., Suzuki, M., Kishimoto, T.: Discrepancy of specific antibody production and absence of tubal pathology induced by acute *Chlamydia trachomatis* infection in cynomolgus monkeys. Post-congress Kyoto Symposium of the 9th International Congress of Reproductive Immunology, October 16, 2004, Kyoto

２．国内学会

1）倉根一郎：ウエストナイル熱・脳炎。東京都医師会、平成 16 年度第 1 回公衆衛生学術講習会。東京都　平成 16 年 6 月 25 日

2）倉根一郎：ウエストナイル熱の現状と対策。平成 16 年度長野県医療従事者感染症対策研修会。長野市　平成 16 年 10 月 2 日

3）倉根一郎：デングワクチン開発の現状。第 45 回日本熱帯医学会教育講演　東京都　平成 16 年 10 月 16 日

4）倉根一郎：節足動物媒介性ウイルス感染症。日本医師会生涯教育講座（東京都医師会)。東京都　平成 16 年 11 月 11 日

5）倉根一郎：アルボウイルス感染症におけるウエストナイル熱・脳炎の位置づけ。第 52 回日本ウイルス学会学術集会シンポジウム。横浜市、平成 16 年 11 月 20－22 日

6）倉根一郎：蚊が媒介する新興・再興ウイルス感染症：ウエストナイル熱を中心として。第 13 回呼吸器感染症・化学療法研究会。東京都　平成 16 年 11 月 2 日

7）福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、森川茂：Efficient replication of SARS coronavirus on the cells expressing mouse ACE2. 第 27 回日本日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月, 神戸.

8）水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、倉根一郎、森川茂：「SARS コロナウイルスによる p38MAPK およびその下流の活性化」 日本獣医学会学術集会　2004 年 9 月　札幌

9）福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂：ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルス感染の検討. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会, 2004 年 11 月, 横浜.

10）水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂：「SARS-CoV 感染細胞におけるシグナル伝達系の網羅的解析」（ワークショップ） 日本ウイルス学会学術集会　2005 年 11 月　横浜

11）松山州徳、石井孝司、森川茂、田代眞人、田口文広：SARS-CoV S 蛋白のプロテアーゼによる解裂と膜融合活性　第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会, 2004 年 11 月, 横浜.

12）山田靖子、水谷哲也、高橋一朗、福士秀悦、西條政幸、倉根一郎、森川茂：SARS-CoV の継代感染による変異ウイルスの出現　第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会, 2004 年 11 月, 横浜.

13）永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川茂、佐藤由子、佐多徹太郎：マウスとラットを用いた SARS-CoV 感染モデルの作製　第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会, 2004 年 11 月, 横浜.

14）石井孝司、横田恭子、竹森利忠、長谷川秀樹、水谷哲也、森川茂、田口文広、田代眞人、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、宮村達男：高度弱毒化ワクチニアウイルス Dis の SARS 生ワクチンとしての応用　第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会, 2004 年 11 月, 横浜.

15）前島雅美、福士秀悦、松山州徳、中垣慶子、森川茂、

田代眞人、田口文広：SARS-CoV スパイク蛋白の細胞融合活性に関する研究：解裂 S 蛋白による解析　第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会，2004 年 11 月，横浜.

16）遠藤大二、水谷哲也、桐沢力雄、森川茂、林正信：制限プライマーミックスをもっちい、予めウイルス秀を想定することなく RNA ウイルスを検出する方法の開発 第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会，2004 年 11 月，横浜.

17）森川茂、長谷川秀樹、西條政幸、前田秋彦、倉根一郎、尾崎泰子、佐多徹太郎、倉田毅、小島朝人：ワクチニアウイルス LC16m8 株の有効性と遺伝子構造の解析 第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会，2004 年 11 月，横浜.

18）西條政幸、福士秀悦、荻野利夫、田口文広、水谷哲也、松山州徳、倉根一郎、田代眞人、森川茂：SARS コロナウイルスの組換え核蛋白を抗原とした ELISA 法の開発を評価．第 52 回日本ウイルス学会学術集会．2004 年 11 月，横浜

19）西條政幸、網康至、永田典代、須崎百合子、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、長谷川秀樹、岩田奈織子、佐多徹太郎、倉根一郎、倉田毅、森川茂：LC16m8 株痘そうワクチンによるカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果．第 52 回日本ウイルス学会学術集会．2004 年 11 月，横浜

20）畠山修司、森川茂、西條政幸、森澤雄司、倉根一郎、小池和彦、木村哲、森屋恭嗣：種痘廃止後 26 年以上が経過した現在における抗天然痘免疫の保有状況．第 78 回日本感染症学会総会．2004 年 4 月，東京

21）西條政幸：ウエストナイル　その他の国際感染症．第 20 回 ICD 講習会(第 36 回日本小児感染症学会)．2004 年 11 月，東京

22）西條政幸：母親から感染したと考えられるクリミア・コンゴ出血熱の 4 歳女児例．第 36 回日本小児感染症学会．2004 年 11 月，東京

23）水谷哲也：コロナウイルスの転写機構　RNA ウイルス研究の新展開 III　2004 年 3 月　三重

24）水谷哲也：コロナウイルスの転写機構と細胞死のメカニズム　第 1 回ウイルス学キャンプ in 湯河原　2004 年 6 月

25）田島茂、高崎智彦、江下優樹、倉根一郎：日本で分離されたフラビウイルス Yokose ウイルスの性状解析。第 39 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、神戸、2004 年 6 月 17-18 日

26）伊澤晴彦、星野啓太、佐々木年則、沢辺京子、津田良夫、倉橋　弘、高崎智彦、吉田政弘、渡辺　護、小林睦生：本邦生息蚊類のウイルス保有状況調査．第 38 回日本脳炎ウイルス生態学研究会（神戸市）2004 年 6 月 17-18 日

27）小滝　徹、高崎智彦、倉根一郎：気候ジャンプと日本脳炎ﾌﾞﾀ HI 抗体かとの相関．第 38 回日本脳炎ウイルス生態学研究会（神戸市）2004 年 6 月 17-18 日

28）桑山　勝、伊藤美佳子、高尾信一、島津幸枝、福田伸治、宮崎佳都夫、倉根一郎、高崎智彦：小児無菌性髄膜炎患者からの日本脳炎ウイルス遺伝子の検出．第 38 回日本脳炎ウイルス生態学研究会（神戸市）2004 年 6 月 17-18 日

29）黒澤八重、山本　晃、木城きくか、中山幹男、小川哲郎、井上真吾、高崎智彦、森田公一、倉根一郎：ハイドロキシアパタイト-ナイロン複合ビーズを用いた抗デングウイルス IgM の検出．第 38 回日本脳炎ウイルス生態学研究会（神戸市）2004 年 6 月 17-18 日

30）貫井陽子、田島　茂、高崎智彦、小池和彦、倉根一郎：デングウイルス 1 型における 3 ’ 末端非構造コード領域の遺伝的多様性について．第 45 回日本熱帯医学会大会(東京)　2004 年 10 月 15-16 日

31）伊藤美佳子、向井鐐三郎、高崎智彦、根路銘令子、田島茂、Beti Ernawati Dewi、倉根一郎 (2004): デングウイルスの中和抗体による防御能および感染増強．第 52 回 日本ウイルス学会 横浜 2004 年 11 月 21-23 日

32）田島茂、伊藤美佳子、高崎智彦、倉根一郎：デングウイルス 1 型完全長 cDNA クローンの作成およびウイルス産生系の確立。第 52 回日本ウイルス学会学術集会 2004 年 11 月 21-23 日，横浜

33）伊藤美佳子、山田堅一郎、高崎智彦、根路銘令子、田島茂、倉根一郎：国際的標準デングウイルスおよび免疫血清を用いた中和試験．第 11 回．トガ・フラ・ペスチウイルス学会　2004 年 11 月 21-23 日，横浜

34）林　昌宏、菰田泰正、鈴木健介、谷　英樹、大椿朋子、松尾栄子、津田祥美、森石恆司、宮村達男、松浦善

治：HCV 感染におけるヒト線維芽細胞増殖因子受容体の役割　第 52 回日本ウイルス学会総会　2004 年 11 月 21-23 日，横浜

35）名和優、高崎智彦、赤塚俊隆、伊藤美佳子、倉根一郎：デング血清診断における血清中 IgA 抗体検出と有用性の検討.　第 52 回日本ウイルス学会総会　2004 年 11 月 21-23 日　横浜

36）名和優、赤塚俊隆、高崎智彦、倉根一郎、森田公一、只野昌之：日本脳炎ウイルス E 蛋白 domain I およびⅡの境界領域のエピトープに対する中和単クローン抗体は、弱酸性条件での分子構造変化を抑制した.　第 52 回日本ウイルス学会総会　2004 年 11 月 21-23 日　横浜

37）松尾栄子、林　昌宏、菰田泰正、森石恆司、八木慎太郎、松浦善治：ヒト肝癌由来細胞で作製した HCV 様粒子の性状　第 52 回日本ウイルス学会総会　2004 年 11 月 21-23 日　横浜

38）北川善紀、谷　英樹、林　昌宏、松永(松岡)朋子、田鍬修平、森石恆司、松浦善治：バキュロウイルスを用いたターゲッティングベクターの開発　第 52 回日本ウイルス学会総会　2004 年 11 月 21-23 日　横浜

39）高崎智彦：わが国におけるアルボウイルス感染症の現状.　第 7 回近畿熱帯医学研究会 2004 年 12 月 4 日　京都

40）高崎智彦：最近話題の人獣共通感染症と実験動物の感染症：ウエストナイルウイルスの生態とその現状.　日本実験動物協会　教育セミナーフォーラム 2005　2005 年 3 月 15 日　京都

41）本井ゆり恵、井上智、八田一、佐藤こずえ、森本金次郎、山田章雄：組換え G 蛋白の大腸菌発現と免疫鶏卵法の併用による安全かつ簡便な抗狂犬病ウイルス中和抗体の産生　第 137 回日本獣医学会学術集会　藤沢 2004 年 4 月

42）伊藤睦代、庄司洋子、倉根一郎、森本金次郎：狂犬病ウイルス HEP-Flury 株糖蛋白質の１アミノ酸変異による病原性の復帰　第 52 回日本ウイルス学会総会　横浜　2004 年 11 月 21－23 日

43）中道一生、斎木めぐみ、森本金次郎、倉根一郎：狂犬病ウイルス感染によるミクログリアの MAP キナーゼ活性化とケモカイン発現誘導　第 52 回日本ウイルス学会総会　横浜　2004 年 11 月 21－23 日

44）細川淳二、中井康介、伊藤（高山）睦代、山田健太郎、清水健太、伊藤直人、杉山　誠、源　宣之：G 遺伝子を二重に配置した狂犬病ウイルスの作出　第 137 回日本獣医学会学術集会　東京　2004 年 4 月 2 日－4 日

45）山田健太郎、伊藤直人、伊藤（高山）睦代、細川淳二、清水健太、杉山　誠、源　宣之：狂犬病ウイルス西ヶ原株から RC-HL 株への弱毒化には複数の遺伝子が関与している　第 137 回日本獣医学会学術集会　第 137 回日本獣医学会学術集会　東京　2004 年 4 月 2 日－4 日

46）清水健太、三田哲朗、伊藤直人、山田健太郎、伊藤睦代、細川淳二、杉山　誠、源　宣之：狂犬病ウイルス、西ヶ原株の病原性発現に N、P および M 遺伝子が関与する　第 138 回日本獣医学会学術集会　北海道　2004 年 9 月 10 日－12 日

47）三田哲朗、清水健太、山田健太郎、伊藤直人、伊藤睦代、細川淳二、杉山　誠、源　宣之：狂犬病ウイルスの M 蛋白質は培養細胞の変性に関与する　第 138 回日本獣医学会学術集会　北海道　2004 年 9 月 10 日－12 日

48）井上直樹, T. Spira, L. Lam. J.L. Corchero, W. Luo : HHV-8 と HIV 重感染者におけるカポジ肉腫発症群と非発症群の間での免疫応答の比較　第 19 回ヘルペスウイルス研究会 愛知 2004 年 6 月 17-19 日.

49）野澤直樹、川口寧、田中道子、加藤藍、木村宏、西山幸廣 :　HSV-1 UL51 遺伝子産物は一次エンベロープ獲得後のウイルス粒子成熟過程に働く　第 19 回ヘルペスウイルス研究会 愛知 2004 年 6 月 17-19 日.

50）原田志津子、加藤美緒、加賀美奈子、平田顕恵 :　EB ウイルス核蛋白 EBNA-LP ドミナントネガティブ変異体発現による感染細胞増殖変化　第 19 回ヘルペスウイルス研究会 愛知 2004 年 6 月 17-19 日.

51）野澤直樹、川口寧、田中道子、加藤藍、木村宏、西山幸廣 :　HSV-1 UL51 遺伝子産物のウイルス粒子成熟過程における役割　第 52 回日本ウイルス学会 横浜 2004 年 11 月 21-23 日.

52）原田志津子 :　EB ウイルス核蛋白 EBNA-LP 変異体の蛋白相互作用と発現細胞の性状　第 52 回日本ウイルス学会 横浜 2004 年 11 月 21-23 日.

53）柳壹夫、原田志津子、鎌田良夫、岡部冬彦、宮坂伸之、金兼弘和、中村良子：Maintenance of serum

immunoglobulin G antibodies to Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 2 in healthy indivisuals from different age groups in Japanese population with a high childhood incidence of asymptomatic primary EBV infection. 第１４回ＥＢウイルス感染症研究会 東京 2004 年 5 月 22 日

54）原田志津子：EB ウイルス核蛋白機能と感染細胞増殖 第６３回日本癌学会学術総会、福岡、2004.9.29-10.1

55）北村元生、小川敏尚、林賜恩、原田志津子、張ヶ谷健一：EBNA2 による転写活性化における Notch シグナル伝達系の制御因子 Mastermind(Man)の役割 第６３回日本癌学会学術総会、福岡、2004.9.29-10.1

56）原田志津子：EB ウイルス核蛋白 EBNA-LP ドミナントネガティブ変異体の解析 第２７回日本分子生物学会年会、神戸、2004.12.8-11

57）蔡 燕、小川基彦、佐藤 梢、志賀定嗣、アグス・スティヨノ、岸本 寿男：オウム病の病原診断における新しい PCR 法の検討. 第 78 回 日本感染症学会総会. 東京. 2004 年 4 月 6 日-7 日

58）小川基彦、岸本寿男、佐藤 梢、志賀定嗣、蔡 燕、アグス・スティヨノ、多田有希：オウム病集団発生の原因となったヘラジカ由来の *C. psittaci* の遺伝子学的解析とその感染源の関する調査. 第 78 回 日本感染症学会総会. 東京.2004 年 4 月 6 日-7 日

59）アグス・スティヨノ、小川基彦、岸本寿男、佐藤 梢、志賀定嗣、蔡 燕：Q 熱の血清診断における IF 法 ELISA 法の診断基準設定の検討. 第 78 回 日本感染症学会総会. 東京. 2004 年 4 月 6 日-7 日

60）山口徹也、山崎 勉、小川基彦、志賀定嗣、岸本寿男、尾内一信：ELISA 法による抗 *Simkania negevensis* 抗体検出についての検討. 第 78 回 日本感染症学会総会. 東京. 2004 年 4 月 6 日-7 日

61）奥川 周、北沢貴利、塚田訓久、柳本伸太郎、福島篤仁、岸本寿男、太田康男：各種感染症抗体陽性と脂質代謝異常の関連について. 第 78 回 日本感染症学会総会. 東京. 2004 年 4 月 6 日-7 日

62）遠藤雅子、尾内一信、古村 速、岸本 寿男、小川基彦、志賀定嗣、山崎 勉：*Chlamydia pneumoniae* のタイピングに関する研究（第 1 報）. 第 78 回 日本感染症学会総会. 東京. 2004 年 4 月 6 日-7 日

63）北沢貴利、奥川 周、中山久仁子、柳本伸太郎、塚田訓久、福島篤仁、藤田敏朗、岸本寿男、木村 哲、太田康男：クラミジア LPS によるマクロファージの泡沫化. 第 78 回 日本感染症学会総会. 東京. 2004 年 4 月 6 日-7 日

64）遠藤雅子、尾内一信、小川基彦、志賀定嗣、山崎 勉、岸本 寿男：*Chlamydia pneumoniae* のタイピングに関する研究（第２報）.第 22 回日本クラミジア研究会・第 11 回リケッチア研究会. 倉敷. 2004 年 10 月 23 日-24 日

65）井上美由紀、山崎 勉、佐藤 梢、山口徹也、岸本寿男：抗アレルギー剤の抗 *Chlamydia pneumoniae* 作用についての検討.第 22 回日本クラミジア研究会・第 11 回リケッチア研究会. 倉敷. 2004 年 10 月 23 日-24 日

66）田原研司、板垣朝夫、新田則之、錦織 優、南 心司、川上修五、真田直子、松井珠乃、中島一敏、小川基彦、岸本寿男、福士秀人、松本 明：「花と鳥の展示施設」でのオウム病の集団発生事例.第 22 回日本クラミジア研究会・第 11 回リケッチア研究会. 倉敷. 2004 年 10 月 23 日-24 日

67）佐藤 梢、岸本寿男、山崎 勉、井上美由紀、伊東敦子、上原すゞ子、佐々木 望、増田周子、井筒 浩：小児における *Chlamydia pneumoniae* 感染症の疫学.第 22 回日本クラミジア研究会・第 11 回リケッチア研究会. 倉敷. 2004 年 10 月 23 日-24 日

68）Kwang-Jun Lee, Su-Jin Kwon,Toshio Kishimoto , Shuji Ando , Chikako Mashida, Song-Mee Bae,Kyu-Jam Whang, Young-Hee Lee,Ki-Sang Kim and Hee-Bok Oh ： Outbreak of respiratory tract infections at U Island in Korea: is there an possibility of *C. pneumoniae* infection ? 第 22 回日本クラミジア研究会・第 11 回リケッチア研究会. 倉敷. 2004 年 10 月 23 日-24 日

69）小川基彦、荒川香南子、安藤秀二、柳 陳堅、岸本寿男、貞升健志、平井昭彦、甲斐明美、諸角 聖：Q熱コクシエラの鶏卵からの検出に関する研究.第 22 回日本クラミジア研究会・第 11 回リケッチア研究会. 倉敷. 2004 年 10 月 23 日-24 日

70）百田隆祥、小島 禎、池戸正成、小川基彦、佐藤 梢、アグス・スティヨノ、安藤秀二、荒川香南子、柳 陳堅、

岸本寿男：LAMP 法を用いた *Coxiella burnetii* の鶏卵からの検出法の検討.第 22 回日本クラミジア研究会・第 11 回リケッチア研究会．倉敷．2004 年 10 月 23 日-24 日

71）平野由紀、柴原浩章、高橋敬一、山崎　勉、鈴木光明、岸本寿男：クラミジア・トラコマティス急性感染期における局所変化、ならびに血中抗体価とケモカイン値の動態について～カニクイザルをモデルとして～.第 17 回日本性感染症学会抄録平成 16 年 12 月 4～5 日東京・

72）安藤秀二、渡辺護、棚辺今日子、小原真弓、岩井雅恵、松浦久美子、長谷川澄代、永井美之 ：国内のライム病.　第 12 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー屋久島大会，鹿児島県屋久町，平成 16 年 6 月

73）永井美之、安藤秀二、岩井雅恵、小原真弓、長谷川澄代、松浦久美子：Q 熱病原体の浸淫状況．平成 16 年度北陸腸内細菌研究会，金沢市，平成 16 年 7 月

74）Lokugamage,N.，苅和宏明、Lokugamage,K.，岩佐真宏、萩谷友洋、好井健太朗、舘敦史、安藤秀二、福島博、土江公幸、岩崎琢也、吉松組子、有川二郎、高島郁夫：Epizootiological and Epidemiological Study of Hantavirus Infection in Japan.第 138 回日本獣医学会，札幌，平成 16 年 9 月

75）百田隆祥、小島　禎、池戸正成、小川基彦、佐藤　梢、アグス・スティヨノ、岸本寿男：LAMP 法を用いた *Coxiella burnetii* の検出.第 15 回日本臨床微生物学会総会.2005 年 1 月 24 日

76）岸本寿男：感染症予防法の改正について　オウム病特別講演日本小動物獣医師会 2004 年年次大会　名古屋 2004 年

77）岸本寿男：シンポジウム　DNA 診断で何が言えるか?　性器クラミジア 第17回日本性感染症学会.2004年 12 月 4～5 日　東京

78）高橋　俊、山崎　勉,佐藤　梢,岸本寿男,井上美由紀,高橋幸子、石原　理、陽子、堀口祐司、奥脇義行：当院産婦人科より検出された *Chlamydia trachomatis* 血清型の疫学.第 17 回日本性感染症学会.2004 年 12 月 4～5 日東京

79）岸本寿男、小川基彦、山崎　勉、竹村　弘：ケトライド系抗菌薬 telithromycin の *C. pneumoniae* 臨床分離株に対する増殖抑制効果と細胞内移行：第 52 回日本化学療法学会総会、2004 年 6 月 3-4 日、宜野湾

80）佐藤　梢、山崎　勉、岸本寿男、伊東敦子、上原すゞ子、佐々木望：肺炎患児における喀痰からの *Chlamydia pneumoniae* 検出状況：第 53 回日本感染症学会東日本地方会、第 51 回日本化学療法学会東日本支部総会、2004 合同学会、2004 年 10 月 21-22 日、新潟

2.ウイルス第二部

部長　宮村達男

概　要

当部が対応するウイルスは主として消化器系疾患の原因ウイルスであり、A 、B 型肝炎ワクチン、ポリオ生ワクチンを検定、検査対象としている。

第１室の最重要課題はポリオ経口生ワクチンの検査、検定である。本年は小分製品１件の検定をおこなった。また喫緊の課題となっている不活化ワクチン早期導入に向けて、基礎実験を含めポリオワクチンの免疫学的研究を行なった。

特にわが国の食中毒の多くの原因となっているノロウイルスの研究が大きく進展した。遺伝子型の解析、レセプターの検索、ウイルス様粒子の形成、ウイルス複製に関する地道な研究も進んだ。また全国地研との連携が確立し、レファレンスセンターとしての機能を良く果たしている。平成 16 年年末から 17 年初めに全国的に多発し、パニックになりかけたノロウイルス感染症にも、冷静に対応することができた。又、新たな下痢症ウイルスであるサポウイルスの研究も大いに進んだ。

E 型肝炎ウイルスの研究が着実に進行している。日本固有の E 型肝炎ウイルス株の解析を進め、更に人畜共通伝染病としての E 型肝炎の位置づけが明らかになった。ウイルス中空粒子を用いた、感度の良い診断系の確立が大きく貢献した。研究班が成立し、野生動物での感染が全国レベルで調査された。

第２室では総力を挙げて WHO 世界ポリオ根絶計画に参画している。WHO の指定をうけて、世界の特殊専門ラボとして、また西太平洋地域の指定ラボとして世界各地で分離されるポリオウイルスの性状解析を続けた。課題はまだ地球上に残る野生株ウイルスの解析と、ワクチンの変異株によるポリオ流行の解析である。野生株の伝播は中々断ち切れないでいるが、根絶計画はいよいよ最終段階に入った。また計画達成前後の国内及び世界レベルのワクチン戦略についてエビデンスに基づいた提言を世界に発している。また国内エンテロウイルスレファレンスセンターとしてレファレンス活動、依頼検査を行なった。

第３室及び第４室のＣ型肝炎ウイルスの研究は着実に進んでいる。培養系でのＣ型肝炎ウイルス増殖の系が安定化し、RNA 複製、ウイルス粒子産生に至るウイルスのライフサイクルの詳細な解析が進んでいる。

第５室の最重要課題は不活化 A 型肝炎ワクチン、組み換え沈降 B 型肝炎ワクチンの検定、検査である。本年は A 型肝炎ワクチン２件、Ｂ型肝炎ワクチン７件の検定を行った。また A 型肝炎ウイルスの粒子構造解析が進行している。

各室で以下のような国際的技術協力を行った。

(1) 張　勇（中国、中国疾病予防センター)、＜WHO フェロー＞　平成 16 年 3 月 22 日～平成 16 年 4 月 28 日、ポリオウイルスワクチン由来株の病原性の解析

(2) 童　文彬（中国、四川省疾病予防管理センター)、＜JICA フェロー＞　平成 16 年 7 月 30 日～平成 17 年 6 月 3 日、ポリオウイルス分子診断技術研修

(3) 張　斌（中国、上海中医薬大学）＜上海中医薬大学フェロー＞　平成 16 年 11 月 1 日~平成 17 年 10 月 31 日、C 型肝炎ウイルスの分子生物学

研究費としては、経常研究費の他に厚生労働科学研究費補助金、ヒューマンサイエンス振興財団、ウイルス肝炎研究財団、文科省科学研究費、 医薬品機構等の援助を受けた。

人事面では、名取克郎、小島勇作が平成 17 年 3 月 31 日をもって定年退職した。名取主任研究官はウイルス中央検査部から、小島研究員は腸内ウイルス部時代から、いずれも 35 年以上の永続勤務であった。宮村達男は平成 16 年 4 月 1 日より、ハンセン病研究センター長となり、ウイルス第二部長を併任した。

南カリフォルニア大学に長期出張していた相崎英樹主任研究官が、多くの成果を挙げて平成 16 年 11 月 6 日帰国、職務に復帰した。宇田川悦子主任研究官は平成 16

年 10 月より平成 17 年 1 月まで米国 NIH に出張し、ノロウイルスの分子疫学の共同研究を行なってきた。カリフォルニア大学サンフランシスコ医学校に出張している染谷雄一主任研究官は出張を延長し、下痢症発症のためのイオンチャンネルの変化について研究を続けている。

業　績

調査・研究

I. 下痢症ウイルスに関する研究

１．ノロウイルス（NoV）に関する研究

（1）ノロウイルス（NoV）と血液型物質との結合の解析

NoV のプロトタイプ Norwalk/68 株が血液型物質である H、A、Leb 型物質を認識することが報告された。しかし、NoV に属するすべてのウイルス株が同じ血液型物質を認識するわけではなく、NoV 全体の総括的な結合パターンは理解されているとは言い難い。そこで、NoV 14 株の VLPs を用い、Saliva-VLP binding assay により血液型物質との結合を検討した。その結果、同じクラスターに属するウイルス株は同じ結合パターンを示した。クラスターによって結合パターンに違いはあるものの、GI では共通して O、A 型唾液への結合が高く、GII では B 型唾液への結合が高かった。現在、Carbohydrate-VLP binding assay により糖鎖上のどの部位が VLPs との結合に重要なのかを検討中である。

［白土東子、名取克郎、小川智子、片山和彦、宮村達男、武田直和、鎌田公仁夫（デンカ生研）］

（２）NoV 粒子形成機構の解析

NoV の ORF2 を組換えバキュロウイルスで発現して作製した VLP は中空である。この発現系に、NoV ゲノム全長を供給すると、VLP へのゲノムパッケージが起きる可能性がある。NoV ゲノムの 5’末端と 3’末端にリボザイムを組み込み、完全長の NoV ゲノムが転写されるようにした組換えバキュロウイルスを用いて細胞内にゲノムを供給したところ、中空の VLP よりも比重の重い分画にシフトした粒子が存在することが確認できた。さらに ORF3 発現バキュロウイルスや ORF1 発現バキュロウイルスを同時感染させ、形成される粒子に生じる変化をしらべている。

［松原尚子、グラント・ハンスマン、片山和彦、白土東子、武田直和、宮村達男、永田典代、田中恵子（感染病理部）］

(３)昆虫細胞を用いた NoV 粒子作成の試み

NoV U201 株の VLPs の発現に使用した組換えバキュロウイルスにクローニングされた U201 株の ORF2 からゲノム末端までの塩基配列を、PCR direct sequence で得られた天然型配列と比較すると、ORF2(VP1)領域に２カ所、ORF3 (VP2)領域の 1 カ所、合計３カ所のアミノ酸変異を伴う塩基配列の違いが認められた。これらの塩基配列を用いた発現実験により、天然型配列は哺乳動物培養細胞(293T, COS-7)でのみ、クローン型配列は昆虫細胞 (Tn5)でのみ VLPs を発現することが明らかとなった。現在、バキュロウイルス発現系、および哺乳類培養細胞発現系において NoV の VLPs 形成に重要なアミノ酸を同定することを目指して研究を進めている。

［宮下佳奈、グラント・ハンスマン、片山和彦、武田直和、宮村達男、永田典代、田中恵子（感染病理部）］

（４）NoV VLP 産生機構の解析

NoV の ORF2 を組換えバキュロウイルスで発現すると、VLP を作出することができる。しかし、同じ株から作出した組換えバキュロウイルスでも、VLP を大量に産生するクローンと、細胞内には ORF2 蛋白質を大量に発現するが VLP は産生しないクローンが存在する。昨年までの研究の結果、P 領域の１アミノ酸残基の変異が VLP の産生能を決定していることを見いだした。免疫電子顕微鏡観察で両クローンの ORF2 蛋白質の細胞内局在を調べたところ、両者とも ORF2 蛋白質は細胞内全体に存在していたが VLP 産生クローンの場合は粒子状構造物のある密度の高いベジクルが強く染色された。VLP は ORF2t 蛋白質がベジクルに集まり、自己集合して形成されている可能性がある。

［高井　聡、松原尚子、グラント・ハンスマン、片山和彦、武田直和、宮村達男、永田典代、田中恵子（感染病理部）］

（５）NoV の病原性に関する研究

NoV は非細菌性食中毒の主要な原因であると考えら

れている。NoV 蛋白質が真核生物の細胞に与える影響を調べるため ORF1, ORF2, ORF3 を、それぞれ発現する３種類の組換えバキュロウイルスを作製し、これらの感染が昆虫細胞与える影響を調べた。感染細胞における細胞の成長速度、アポトーシスには、違いが認められなかったが、ORF1 発現細胞のネクローシス誘導は他に比べ有意に高く、ORF1 に細胞毒性のある因子が存在することが示唆された。現在、ORF1 を哺乳類細胞で発現するクローンを作成し、ORF1 蛋白質が哺乳類細胞に与える影響を調べている。

［片山和彦、宮下佳奈、グラント・ハンスマン、岡智一郎、宮村達男、武田直和］

（６）NoV の分子系統解析

NoV のゲノム全塩基配列の分子遺伝学的解析により、構造蛋白質領域の約 250 塩基の遺伝子配列を用いた NoV のタイピング法を構築した。NoV には、2003 年現在、GI に 14 種類、GII に 17 種類の Genotype（遺伝子型）が存在する。これらのデータを日本全国の衛生研究所などで疫学調査に利用できるよう、分子系統解析のガイドムービー､データファイルを公開し配布した｡また、カリシウイルスデータベースの構築を目指し、ウイルス性下痢症研究会ホームページ上にデータベースの骨格となるホームページを立ち上げた。現在、データベースとしての機能を持たせ、本格稼働させるため、さらなる全長塩基配列の蓄積を行うとともにホームページデザインの改善を進めている。

［片山和彦、名取克郎、宮村達男、武田直和、三瀬敬治（札幌医大）］

（７）NoV 複製機構の研究

NoV には培養細胞を用いた増殖系、実験動物系が構築されていない｡NoV の複製機構を解明するため､T7 RNA ポリメラーゼプロモーター配列下流に、NoV ゲノム全長を組み込んだプラスミドクローンを作製しヒト培養細胞内に導入した。同時に組換えワクチニアウイルスの共感染により T7 RNA ポリメラーゼを細胞内で発現させ、5 ’末端がキャッピングされた NoV ゲノム RNA を大量に細胞内に供給した。ORF1 にコードされるウイルス蛋白質が転写翻訳され、（＋）鎖ゲノム RNA より、(－）鎖 RNA を合成し、かつ約 2.6 Kb のサブゲノム RNA を合成することが明らかになった。しかし、この系では 3A-VPg 蛋白質の切断が不完全で、合成されたサブゲノム RNA から翻訳されると推定されている構造蛋白質が翻訳されず、NoV の粒子形成ができないことが明らかになった。現在、弱毒化ワクチニアウイルスを用いてワクチニアの細胞毒性を軽減し、3A-VPg 間の切断効率を増加させ、完成性粒子の形成を試みている。

［片山和彦、岡智一郎、石井孝司、グラント・ハンスマン、宮村達男、武田直和］

（８）NoV VLP の発現と血清学的解析

VLP が発現できた NoV 株の総計は GI で ６株、GII で 22 株となった。これらの株の遺伝学的および血清学的分類結果は、ほぼ一致し、GI は１４のうちの６遺伝子型で、GII では１７のうちの１３遺伝子型で NoV VLP 抗原および抗血清が作製できたことになる。ゲノタイピングは、異なる抗原性を持つ NoV 株の検索や分子疫学に有用であるが、実際の NoV の抗原性は VLP とこれらの抗体を用いた交差反応により明にするのが望ましい。そこで、これらの抗体と VLP を用いて、詳細な交差免疫応答試験を行った。GI と GII 間には交差反応はほとんど無いが、我々のゲノタイピング法で GII に分類されるアルファトロン株は、GI, GII 両者に交差反応を有することが明らかななった。現在、アルファトロン株の位置づけは新たなゲノタイプか、GII に分類されるのかで問題となっているが、抗原的には GI, GII の中間の性質を有しており、グループとして独立するよりも GII に内包されるゲノタイプである可能性がある。また、同じゲノタイプに分類されるウイルスでも抗体が交差反応しない株も見いだされた。今後、交差反応のデータを蓄積する必要がある。

［名取克郎、片山和彦、小林慎一（愛知衛研）、グラント・ハンスマン（東大大学院）、永田典代、田中恵子（感染病理部）、宮村達男、武田直和］

（９）米国における食品媒介性食中毒の実態調査（NoV の電顕観察研究と分子疫学）

2004 年 10 月より 2005 年 1 月まで、米国 NIH の Dr. K Green の下で米国における非細菌性嘔吐下痢症の患者

便材料（500 検体）から RT-PCR, Real-Time PCR でのノロウイルス分子疫学調査を行った。RT-PCR 陽性検体に関しては全て Direct Sequencing 法でノロウイルスの確定診断を行った。検査した 500 検体で陽性と確定診断できた検体は２％であったが、疑陽性（ﾋﾄｹﾞﾉﾑ、大腸菌の断片等）は 25%と高い価を示した。RT-PCR 産物の電気泳動法（PCR 産物の移動度）による遺伝子の診断では疑陽性を判定できないことから、必ずシーケンス法や他の検査法により確定診断をするべきであると考える。一方、RT-PCR 陰性で使用可能な検体を電子顕微鏡検出法により観察した結果、陰性検体の 65%が陽性であった。今回使用したプライマーの検討も必要であると考える。

［宇田川悦子、キム・グリーン (NIH)］

２．サポウイルス（SaV）に関する研究

（１）SaV 遺伝子の解析

SaV の全塩基配列はデータベース上にわずか３株しか報告されておらず、現状では SaV 遺伝子の特徴及び多様性を十分に解析できない。昨年度新たに 10 株の SaV 全塩基配列を決定したが、本年度は更に６株のサポウイルス全塩基配列を解析した。データベース上の配列を含め SaV は GI, GII, GIII, GIV, GV の５つのグループに分別できることが明らかになった。GII に分別された SakaiC12 株にはゲノムの組換えが認められた。組換えの基点は SaV ゲノムで最も高度に保存された RdRp コード領域 3’側から構造蛋白質コード領域 5’側に存在した。さらに、SaVGIV と SaVGII の間では、ゲノグループ間でのゲノムの組換えが示唆された。SaV でゲノグループ間組換えが起きている場合、ブタにのみ感染する SaVGIII とヒトに感染する他の SaV ゲノグループ間でもゲノムの組換えが起きる可能性があり、人獣共通感染症の可能性を考慮に入れて SaV の分子遺伝学、分子疫学を進める必要があると思われた。

［片山和彦、グラント・ハンスマン、岡智一郎、田中智之（堺市衛研）、宮村達男、武田直和］

（２）サポウイルス ORF1 の切断点の決定

サポウイルス (SaV) Mc10 株の ORF1 の全切断部位を同定するため、予想切断部位の P1 部位に対応するアミノ酸 (E もしくは Q)を site-directed mutagenesis 法によって A に置換した clone を作製し、これらを鋳型にして、in vitro で 35S 標識 ORF1 全長もしくは一部領域に対応するタンパク質を発現させ、切断産物を解析した。なお、p32 と p14 間の切断点は、大腸菌リコンビナントタンパク質の切断産物の N 末端アミノ酸配列解析によって決定した。これらの結果、SaV Mc10 株 ORF1 の６カ所すべての切断部位 (E^{69}/G^{70}, Q^{325}/G^{326}, Q^{666}/G^{667}, E^{940}/A^{941}, E^{1055}/A^{1056}, E^{1722}/G^{1723})を同定することに成功した。

［岡智一郎、片山和彦、小川智子、グラント・ハンスマン、宮村達男、武田直和］

（３）サポウイルス ORF1 の切断に影響する因子の検討

サポウイルス (SaV) Mc10 株の ORF1 の切断部位は E/ G,A もしくは Q/G であったが、これらの dipeptide は Mc10 株の ORF1 中に多く存在することから、サポウイルスプロテアーゼの切断部位認識には P1 部位以外のアミノ酸組成が関与することが示唆された。アミノ酸アライメントの結果、p32/p14 間を除き、各切断点の P4 部位にすべての SaV 株で保存されていたアミノ酸(F もしくは Y)を site-directed mutagenesis 法によって A に置換した clone を作製し、これらを鋳型にして、in vitro で 35S 標識タンパク質を発現させ、切断産物を解析した。その結果、各切断部位の切断効率が著しく低下したことから、SaV プロテアーゼの切断部位の認識には P1 部位に加え、P4 部位のアミノ酸の組成も重要であることが明らかとなった。

［山本真民、岡智一郎、小川智子、片山和彦、グラント・ハンスマン、宮村達男、武田直和］

（４）哺乳動物細胞を用いたサポウイルス様中空粒子 (VLPs)の発現

バキュロウイルス発現系では発現困難であった SaV GII Mc10 株の VLPs を作製するため、T7 RNA polymerase 遺伝子を有する組み換えワクチニアウイルスを COS-7 もしくは 293T 細胞に感染させた後、T7 promoter 配列下流に SaV Mc10 株のサブゲノムの開始コドンと推定される部位からゲノム末端までを組み込んだ plasmid を transfect し、SaV GII Mc10 株の VLPs 作製に成功した。

［岡智一郎、グラント・ハンスマン、片山和彦、小川智子、永田典代、宮村達男、武田直和］

（５）大腸菌リコンビナントタンパク質を用いたサポウイルス 3C-like プロテアーゼ活性の検出

SaV Mc10 ORF1 の切断地図は NH_2-p11-p28-p35 (NTPase)-p32-p14 (VPg)-p70 (Pro-Pol)-p60 (VP1)-COOH で、この切断はサポウイルス自身がコードするプロテアーゼによって行われる。プロテアーゼを含む領域を GST 融合タンパク質として大腸菌で発現させたところ、p14 と p70 間の切断点が E/A であることが明らかとなった。また、ベクター由来のライノウイルスプロテアーゼ認識部位の Q/G 間の切断が観察され、サポウイルスプロテアーゼが他のカリシウイルスと同様、E もしくは Q の直後を切断することが示唆された。

［岡智一郎、片山和彦、小川智子、グラント・ハンスマン、影山　努、宮村達男、武田直和］

（６）サポウイルス 3C-like プロテアーゼの活性発現に必須な領域の同定

SaV Mc10 株の ORF1 は 2,278 アミノ酸からなり、翻訳後、ウイルス自身のプロテアーゼにより、NH_2-p11-p28-p35 (NTPase)-p32-p14 (VPg)-p70 (Pro-Pol)-p60 (VP1)-COOH に切断される。SaV Mc10 株のプロテアーゼの活性発現に必要な領域を同定するため、in vitro coupling transcription/ translation system を用いて ORF1 の C 末端 truncated forms を発現させ、発現産物の泳動パターンを解析した。その結果、SaV Mc10 株のプロテアーゼ活性の発現には少なくとも V1201 までの領域が必要であることが示された。今後、この領域内について、プロテアーゼ活性の発現に重要なアミノ酸の同定を進める。

［岡智一郎、山本真民、片山和彦、小川智子、グラント・ハンスマン、宮村達男、武田直和］

（７）SaV と血液型物質との結合の解析

サポウイルス（SaV）と血液型物質との結合の解析

SaV のレセプター分子は明らかにされておらず、血液型物質との結合についても報告がない。そこで、SaV GV の 1 株の VLPs を用い、Saliva-VLP binding assay により血液型物質との結合を検討したところ、弱い結合を示した。現在、Carbohydrate-VLP binding assay により SaV と糖鎖との結合を確認中である。カリシウイルス科 Lagovirus 属のウサギ出血病ウイルスは H 型物質に結合することが知られている。また、NoV のプロトタイプ Norwalk/68 株も H 型物質を認識する。血液型物質が、カリシウイルス科に共通の結合因子として働いているのかさらなる検討が必要である。

［白土東子、グラント・ハンスマン、鄭　小凡、名取克郎、宮村達男、武田直和］

３．その他の研究

（１）小型球形ウイルス紫外線照射（UV）不活化条件検討-2

昨年に引き続き、排水処理施設における小型球形ウイルスの UV 不活化法の検討を行った。今回は、患者材料を濃縮したノロウイルスとアストロウイルスについて UV 照射による形態変化を電子顕微鏡で観察した。患者由来濃縮ノロウイルスに直接 UV を照射し、紫外線照射後の形態変化に注目して電子顕微鏡で観察したところ、照射の程度に依存して完全粒子の数が減少し遺伝子が抜けた中空粒子が多くなる傾向が認められた。アストロウイルスでも同様の形態変化が認められたので、これらのウイルスの不活化に UV 照射は有効であると考える。

［宇田川悦子］

（２）電子顕微鏡によるウイルス診断の世界レベルでの品質評価研究(External Quality Assessment of EM Virus Diagnostics: EQA-EMV13)

前回に引き続き、本研究所を含む世界各国【26 カ国 93 施設（独；39、EU 内；32、極東 EU；4 とその他 18)】に対し不活化標準ウイルスが頒布された。我々はその検体について電子顕微鏡観察でウイルスの確定診断を行い研究班へ報告した。結果として、分与された５検体中５検体の結果が一致した。この検体中一検体はウイルス粒子が存在せず、確認したところ他の研究所でも同じであった。多分輸送中等の何らかのアクシデントによりウイルス粒子が破壊されたものと考える。総ての結果は他の研究所の結果と良く一致した。［宇田川悦子］

（３）ウイルス構造蛋白質の３次元解析

下痢症に関与しているカリシウイルスは小型で表面構造に特徴があるが、患者材料中のウイルス粒子は不定形を呈する事がある。そこで、培養可能なアストロウイルスを用いて、患者材料由来及び培養由来の夫々のアストロウイルスの表面構造の比較検討を３次元解析装置で行なう事を企画している。このために、ウイルス粒子表面構造のデータを収集する為の３次元解析装置の改良およびコンピュータソフトの開発検討をおこなっている。

［宇田川悦子, 中澤栄子（日立ハイテク)］

II. エンテロウイルスに関する研究

1. レファレンス活動

（１）国内エンテロウイルスレファレンスセンターとしての活動

レファレンスセンターとしてエンテロウイルス標準株と標準抗血清を保管し､要望に応じて地研等に配付した。2004 年は、ポリオウイルス標準株 1 セット、エンテロウイルス単味抗血清 43 種類、プール抗血清 EP95 を 10 セット、コクサッキーA 群同定用 CF 腹水 2 セット、ポリオウイルス標準抗血清 2 セットを配布した。ポリオウイルスの同定および型内株鑑別検査を行政検査として行った。検査したポリオウイルスすべてがワクチン由来株であった。

（２）ポリオ実験室診断技術研修会(JICA)の開催

第 14 回ポリオ実験室診断技術研修会を開催した。研修期間は 2005 年 1 月 25 日～2 月 20 日 、研修参加者は、インド、ミャンマー、ネパール、パキスタン、パナマ、トーゴ、ジンバブエから各 1 名の計 7 名であった。ポリオウイルスの分離・同定・型内鑑別等に関する技術研修およびポリオ根絶の現状と問題点を中心とした講義を行った。

（３）WHO Global Specialized Polio Laboratory (GSL) としての活動

ア) National Polio Laboratory が存在しないラオス・カンボジアの National Polio Laboratory として実験室診断を行った。AFP 由来糞便検体からポリオウイルスの分離および同定を行った。

イ) WHO GSL として、おもにカンボジア・ラオス・ベトナム・韓国、香港、オーストラリア等で分離されたポリオウイルスについて型内鑑別あるいは塩基配列解析を行った。すべてのポリオウイルスがワクチン由来株であることを明らかにし、西太平洋地域における野生株ポリオフリーを確認した。

ウ) 中国 CDC および WHO/WPRO との共同研究により、中国貴州省で 2005 年に分離された 1 型ポリオウイルスが一定期間同地域で伝播していたワクチン由来株(cVDPV)であることを明らかにし、病原性等ウイルス学的性状について解析した。

エ) 東アジア地域における非ポリオエンテロウイルス感染症のサーベイランスおよび実験室診断を行った。特に遺伝子解析による非ポリオエンテロウイルスの実験室診断法についての研究を行った。

オ) 2004 年 4 月 22－23 日に行われたポリオ実験室 GSL 代表者会議(ジュネーブ)に参加した。［清水博之］

カ) 2004 年 7 月 5 日－23 日に中国 CDC(北京)で行われた中国省級ポリオ実験室技術研修会(JICA/WHO/CCDC 主催)に講師として参加した。［吉田　弘、有田峰太郎］

キ) 2004 年 9 月 6－8 日に行われた WHO ポリオ実験室担当者非公式会議(ジュネーブ)に参加した。［清水博之］

ク) 2004 年 9 月 13 日－24 日に行われた JICA による中国省級ラボレビュー(海南、湖南、内モンゴル)に参加した。［清水博之］

ケ) 2004 年 11 月 3－11 月 5 日に行われた WHO による中国国家ラボレビューに参加した。［清水博之］

コ) 2004 年 12 月 15 日-21 日に実施した JICA タイ NIH フォローアッププロジェクト(エンテロウイルスサーベイランスおよび実験室診断強化)に参加した。［清水博之］

サ) 2005 年 3 月に実施した省級ラボレビュー（陝西、寧夏、青海）に参加した。［吉田　弘］

シ) 2005 年 3 月に開催された中国ポリオラボネットワーク会議に出席した。［吉田　弘］

ス) 日本におけるポリオウイルス実験室封じ込めについて周知徹底を図るため、WHO global action plan for laboratory containment of wild polioviruses (second edition) 全編の翻訳を行った。［清水博之、吉田　弘、宮村達男］

（４） JICA 中国 EPI プロジェクトへの協力

JICA の実施する中国 EPI プロジェクトに関し以下の協力を行った。

１）2004 年 7 月 5 日－23 日に中国 CDC(北京)で行われた中国省級ポリオ実験室技術研修会(JICA/WHO/CCDC 主催)に講師として参加した。［吉田　弘、有田峰太郎］

２）2004 年 8 月に行われた JICA による省級ラボレビュー（甘粛省、黒竜江省）に参加した。［宮村達男、吉倉　廣］

３）2004 年 9 月 13 日－24 日に行われた JICA による中国省級ラボレビュー(海南、湖南、内モンゴル)に参加した。［清水博之］

４）2005 年 3 月に実施した省級ラボレビュー（陝西、寧夏、青海）に参加した。［吉田　弘］

５）2005 年 3 月に開催された中国ポリオラボネットワーク会議に出席した。［吉田　弘］

２．西太平洋地域の 2004 年のウイルス分離状況

2004 年にラオス、カンボジアから送付された AFP 症例 145 例由来の糞便検体について、ウイルス分離検査及びポリオウイルスの型内株鑑別を行なった。289 糞便検体から、6 株のポリオウイルスが分離され、すべてワクチン由来株であった。81 検体から非ポリオエンテロウイルスが分離された。ラオスの AFP 患者 1 例より分離された 2 型ポリオウイルスは、型内鑑別および塩基配列解析の結果 2 型 VDPV と同定されたため、追加サーベイランスを行い、２名の接触者から 2 型 VDPV を分離した。その他、ベトナム、香港、ニュージーランド、韓国等で AFP および非 AFP 検体から分離されたポリオウイルスの型内鑑別あるいは塩基配列解析を行なった。

［清水博之、吉田　弘、有田峰太郎、西村順裕、和田純子、宮村達男］

３．世界ポリオ根絶計画に沿ったポリオウイルスに関する研究

（１）カンボジアにおける AFP 症例から分離された C 群エンテロウイルスの解析

昨年度、カンボジアにおける AFP 症例から新たなポリオウイルス組換え体が分離された。今年度は、カンボジアにおける AFP 症例から分離された C 群エンテロウイルスの解析を行い、ポリオウイルス組換え体のゲノム中の未知の配列を与えた親株のウイルスの同定を試みた。その結果、2ABC 領域はカンボジアの CAV17 株に近縁であり、3D 領域はカンボジアの CAV18 株に近縁であることが明らかとなった。これらの配列は、プロトタイプの CAV17 もしくは CAV18 とは異なっていた。これらのことから、ポリオウイルス分離株の未知の配列は、カンボジアで蔓延している C 群エンテロウイルスに由来するものであることが強く示唆された。

［有田峰太郎、祝双利(中国 CDC)、吉田　弘、清水博之、米山徹夫、宮村達男］

（２）ラオスの AFP 患者および接触者から分離された 2 型ワクチン由来ポリオウイルスの解析

2004 年 10 月に急性弛緩性麻痺(AFP)を呈したラオスのワクチン未接種 1 歳児より、野生株根絶後初めて 2 型ワクチン由来ポリオウイルス(VDPV)が分離された。VP1 領域の塩基配列解析によると、Sabin 2 株と比較して 1.1 %以上の変異があったため VDPV と判定された。その後の疫学調査により、AFP 患者由来の VDPV と高い相同性を有する VDPV が 2 名の健常児から分離され、2004 年 10 月から翌年 1 月にかけて、同地域で VDPV が伝播していたことが明らかとなった。2005 年 3 月以降あらたな VDPV は検出されておらず、ラオスの VDPV 伝播は終息したことが示唆される。

［西村順裕、有田峰太郎、吉田　弘、清水博之、宮村達男、小島和暢（WHO, WPRO）］

（３）IPV 導入後のニュージーランドにおける OPV 分離株の解析

2002 年 2 月に IPV を導入したニュージーランドにおいて IPV 導入後に分離された OPV について解析を行い、IPV 導入後の OPV 伝播について検討した。小児科入院患者、エンテロウイルス、AFP および環境中の各サーベイランスより分離されたポリオウイルスを解析した。環境中サーベイランスからは OPV が継続して分離されたが、他のサーベイランス由来の OPV は、IPV 導入後比較的速やかに検出されなくなった。分離ポリオウイルスの遺伝子解析により、OPV 使用国からの輸入ウイルスで

あることが示唆された。

［Sue Huang (IESR, New Zealand), 清水博之、宮村達男、Mark Pallansch (CDC,USA)］

（４）富山県で健常児より分離された 2 型 VDPV の解析

平成 16 年度感染症流行予測調査事業の一環として行われたポリオ感染源調査において、富山衛研において健常児糞便から分離された 2 型ポリオウイルス分離株は、感染研での型内鑑別および VP1 領域の塩基配列解析の結果、2 型 VDPV と判定された(Sabin 2 株から 1.2%変異)。その後、健常児および同居家族からポリオウイルスは分離されず、周囲の OPV 接種率が高いことが確認され、本分離株は非 AFP 症例由来孤発例 VDPV と考えられた。

［清水博之、吉田　弘、有田峰太郎、西村順裕、宮村達男、岩井雅恵（富山衛研）］

（５）ワクチン由来ポリオウイルスの病原性および伝播能の解析

これまで報告された cVDPV の多くは、ポリオレセプター発現トランスジェニックマウス(TgPVR)に脳内接種した場合、野生株と同等の神経毒力を示し顕著な毒性復帰が認められる。cVDPV の in vivo における病原性および伝播能の違いをより詳細に検討するために、経鼻接種による神経病原性の発現および便中に排泄されるウイルス量の比較解析を行った。経鼻接種による生死および麻痺の発現による比較では、フィリピンおよびヒスパニオーラで分離された cVDPV は強毒株である Mahoney 株と同等の病原性を有していた。便中へのウイルス排泄も Sabin 1 と比較すると顕著に増加しており、伝播能においても野生型と同等の性状を有することが示唆された。

［永田典代(感染病理部)、清水博之、Andi Utama、西村順裕、宮村達男、岩崎琢也(長崎大学)］

（６）中国貴州省で分離された 1 型 VDPV の病原性の解析

2005 年 6 月から 9 月にかけて、中国貴州省において、2 例の AFP 症例および 4 名の接触者から計 9 株の 1 型 VDPV が分離された。VP1 領域の塩基配列解析によると、それぞれの VDPV 分離株は、共通の塩基置換を有しており、変異率(1.0-1.2%)からワクチン接種後 1 年程度伝播あるいは持続感染後検出された VDPV であることが示唆された。貴州省で分離された VDPV は、非組換え 1 型ポリオウイルスで、5 ' -UTR の reversion(480-G)が認められない等、これまで報告されている 1 型 VDPV と異なるウイルス学的特徴を有していた。TgPVR21 マウス脳内接種による神経病原性の比較解析によると、AFP 患者から分離された VDPV 株は、Mahoney 株と同等以上の強い病原性復帰が認められたが、接触者由来分離株は、Sabin 1 株と比較すると毒性復帰がみとめられたものの、Mahoney 株と比較すると弱い神経病原性を示した。

［Zhang Yong, Xu Wenbo (中国 CDC)、西村順裕、Andi Utama、清水博之、宮村達男］

（７）ポリオウイルスタンパク質 2BC と相互作用する宿主因子の探索

ポリオウイルスの複製は、感染細胞に特異的に形成される滑面小胞上で行われる。しかし、この滑面小胞の組成およびその生成機序については詳しい解析が行われていない。滑面小胞形成に関与するポリオウイルスタンパク質 2BC を HeLa 細胞内などで発現させることで、ポリオウイルス感染細胞内に形成されるのと形態的に類似した滑面小胞が形成されることが報告されている。我々はポリオウイルスの複製の場として重要なこの滑面小胞の組成、およびその生成機序を解析するため、酵母ツーハイブリッド法 (split-ubiqitin system)を用いて HeLa 細胞由来の cDNA library を対象に、ポリオウイルスタンパク質 2BC と相互作用する宿主因子の探索を試み、7 個の positive clone を得た。今後、これらの clone について、引き続き相互作用の解析を行う。

［岡智一郎、片山和彦、武田直和］

４．エンテロウイルスに関する研究

（１）2002－2003 年富山県内河川水から分離されたエコーウイルス１３型について

2002 年は全国レベルで Echo13 型による無菌性髄膜炎が流行した年である。本研究では河川水から分離された E13 と検査定点から分離された株のゲノムの相関を検討した。富山県内の 3 河川の定点より採取された検体を濃縮処理後、Vero、MA104、RD-18S、Hep-2 cells に接種

し、ウイルス分離同定を行った。同定されたウイルスのうち E13 型について Oberste 等の方法により VP1 領域の部分塩基配列を決定した。また 2002 年に検査定点において 5 例の無菌性髄膜炎患者から分離、同定された E13 についても同様に塩基配列を決定した。環境分離株と患者分離株の塩基配列の違いは１％以下であり同一のクラスターを形成した。2002 年に国内で分離された他の E13 患者分離株と比較したところ最大 3%以下の違いに過ぎず同一のゲノタイプであると考えられた。以上の結果から環境水ウイルスサーベイランスは集団内に循環するウイルスを追跡する手法として有意義であると考えられる。

［岩井雅恵、松浦久美子、永井美之（富山衛研）吉田　弘（感染研)］

（２）モンゴル国における家族内エンテロウイルス感染のリスクファクターに関する研究

2003 年夏に 30 家族、計 122 人の健常者から 5 週間にわたり便を採取しエンテロウイルスのウイルス分離を行った。また同定と平行して遺伝子解析を行い分離株同士のゲノムの相関を解析した。また同時に感染のリスクファクターについてアンケート調査を実施し感染様式について分析を行った。分離同定されたウイルスは E30,33,12,25、CA2,4,10,24 であった。ゲノムの比較の結果、ウイルスが分離された対象者のうち 54%は家族内感染である可能性を示した。感染のリスクファクターとして台所、浴室、トイレゴミ捨て場の汚染が示唆され、手洗いが感染防御に有効であることが明らかになった。

［倉光美奈子、黒岩宙司(東大)、吉田　弘（感染研)］

（３）エンテロウイルス 71 弱毒株の神経毒性に関する解析

これまでに、エンテロウイルス 71(EV71)の感染性 cDNA クローンを構築し、温度感受性変異を導入した S1-3 ’ 変異株が、サルにおいて弱い神経毒性を示すことを報告した。そこで、今回は、S1-3 ’ 変異株の中枢神経への感染過程に介する解析を行った。その結果、S1-3 ’ 変異株は、静脈内接種後、まず初めに腰髄で複製することが示唆された。また、腰髄における複製が、振戦等の臨床症状として顕れるための因子として、年齢が重要であることが示唆された。今後、S1-3 ’ 株を接種したサルの血清を用いて、遺伝子型の異なる EV71 分離株に対する中和能に関する解析を行う予定である。

［有田峰太郎、永田典代、網　康至、須崎百合子、清水博之、岩崎琢也、佐多徹太郎、宮村達男］

（４）　エンテロウイルス 71 感染マウスモデルの作製

マウスにおけるエンテロウイルス 71（EV71）感染モデルにおいてはウイルス側の因子及びマウス側の因子の両方が必須であることが知られているが、その本質的な因子の性質については明らかにされていない。そこで、マウスにおける EV71 感染に必要な因子の同定を目的として、EV71 分離株の一つである NAGOYA 株を用いて、SCID マウスを用いた感染モデルの作製を試みた。その結果、SCID マウスへ持続感染能を有する変異株を分離することに成功した。この変異株は、親株と比べ培養細胞における増殖能が低下していた。今後、EV71 変異株の持続感染能に必要な因子の同定をさらに進める予定である。

［有田峰太郎、網　康至(動物管理室)、清水博之、宮村達男］

（５）エンテロウイルス７１に対するモノクローナル抗体のエピトープ解析

GST 蛋白質とエンテロウイルス７１キャプシド蛋白質の融合蛋白質の大腸菌発現を試みている。これを用いることにより、当室にて作製されたエンテロウイルス７１粒子に特異的なモノクローナル抗体のエピトープ解析が可能になると思われる。

［西村順裕、田野良夫(日本ポリオ研究所)、清水博之、宮村達男］

（６）EV71 特異的レセプターの探索

当室にて EV71 粒子に特異的なモノクローナル抗体が作製された。そのモノクローナル抗体を用いて EV71 結合レセプターの同定を試みている。その手順は以下の４ステップである。１）エンテロウイルス非感受性細胞に感受性細胞由来ライブラリーを発現。２）抗 EV71 抗体を介して EV71 粒子をシャーレに固定。３）１）のライブラリー発現細胞を２）のプレートでパンニング。４）

プレートに残った細胞から cDNA を単離・同定。現在、各種細胞の EV71 感受性について解析している。

［西村順裕，有田峰太郎，清水博之、宮村達男］

（７）東アジアの EV71 の分子疫学解析

近年東アジア諸国では、大規模な手足口病流行の際に死亡例を伴う重篤な中枢神経疾患の多発が報告されている。マレーシア、台湾、日本を含めた多くの地域で、genogroup B および C の EV71 が同時に伝播している。それぞれの genogroup をより詳細に分類した subgenogroup の分布によると、1990 年代後半以降、genogroup B3 および B4、また、genogroup C1 および C2 が、東アジアの多くの地域で分離されている。日本では、1970 年代から 2000 年代にかけて、genogroup C3 を除く、ほぼすべての genogroup の EV71 が分離されているが、最近多く分離される遺伝子型は、genogroup B4 および genogroup C2 である。東アジア地域では、多様な遺伝子型を有し、他の地域で分離されるウイルスと分子疫学的関連性の高い EV71 が多く分離されている。他のエンテロウイルスと同様、EV71 においても地域固有のウイルス伝播は例外で、広範囲な多くの地域間で頻繁にウイルス伝播が起きていることが示唆される。

［清水博之、ANDI UTAMA, 宮村達男、Napa Onnimala, Yaowapa Pongsuwanna (NIH, Thailand)］

（８）HEV-A に属する新規エンテロウイルスの遺伝子解析

2002 年にカンボジアの AFP 患者から分離された同定不能な非ポリオエンテロウイルスの遺伝子解析を行ったところ、Human enterovirus species A (HEV-A)に属する、新規エンテロウイルス(エンテロウイルス 90; EV90)であることが、明らかとなった。カンボジアの EV90 分離株は、オランダの HIV-1 陽性者糞便検体から同定された EV90 分離株と 5`UTR、カプシド、非構造蛋白質等すべてのゲノム領域において高い相同性を示し、世界の広い地域での伝播が示唆された。EV90 の 5`UTR は、既知の HEV-A 株と異なる系統関係を示し、HEV-C および HEV-D と高い相同性を有していた。

［Chen Li (中国 CDC)、清水博之、ANDI UTAMA、宮村達男、Peter van den Broek (Primagen Holding)］

III. 肝炎ウイルスに関する研究

１．A型肝炎ウイルスに関する研究

（１）LAMP 法による HAV の迅速診断法の試み

LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification)法を利用して A 型肝炎の迅速診断法の開発を試みた。増幅する鋳型としてⅢB 型の HAV 株 KRM238 から抽出した RNA を使用し、高率良く RNA を増幅する 5 ' 非翻訳領域のプライマーセットを作製した。今後、他の遺伝子型株への適用を図り、フィールドに応用できるシステムを確立する予定である。

［米山徹夫、下池貴志、清原知子、戸塚敦子、佐藤知子、*太田嘉則（*栄研化学)］

（２）無血清培地を用いた培養細胞による A 型肝炎ワクチン製造の開発

無血清培地 VP-SFM で A 型肝炎ワクチン作製用細胞 GL37 の増殖の改善のため、10 種類の物質でそれぞれコーティングしたプレートで GL37 を継代し、その増殖を観察した。その結果、三種類のプレートでワクチン作製用 FBS 入り培地-未処理プレート（FBS-未処理プレート）よりも細胞の増殖が良くなった。しかしながら、HAV の増殖はどのプレートにおいても FBS-未処理プレートよりも悪かった。今後 VP-SFM 培地に欠ける細胞増殖に必要な因子の探索を検討したい。

［下池貴志、戸塚敦子、武田直和、田代眞人（ウイルス第三部)、宮村達男］

（３）抗原捕捉 PCR もしくは LAMP を目的とした抗 HAV 抗体固相化磁気ビーズの作製

市販の抗マウス抗体固相化磁気ビーズに抗 HAV 単クローン抗体を結合し、異なる遺伝子型のウイルスを吸着させ、回収した HAV 抗原量を ELISA で測定した。いずれのウイルスに対しても回収率の良い抗体を選定し、固相化条件を決定した。今後は PCR、LAMP への実用化を検討する。

［清原知子、戸塚敦子、米山徹夫］

（４）HAV 感染、増殖におけるインターフェロン(IFN)の影響

HAV を効率よく増殖する培養系の開発の為、同じ由来でありながら HAV 増殖効率の異なる細胞 GL37 と GL17 について IFN の影響を調べている。HAV は細胞に感染すると抗 IFN 活性を示し細胞の IFN 産生を抑制する。GL37 も GL17 も HAV 感染後の培養上清からは IFN は検出されず感染後の HAV 増殖に対する IFN の関与は差がないと推察された。また、GL17 のみ、非感染下で微量の IFN を産生しているという知見を得た。これらのことから感染前の IFN の動態が GL37 と GL17 の HAV 増殖の差に関与していると考え検討を行っている。

［清原知子、戸塚敦子、小池智（都神経研）］

２．C 型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究

（１）三次元培養細胞で産生された HCV 様粒子の感染性解析

HCV 全蛋白を発現し HCV-RNA 複製が持続的に複製する RCYM1 細胞を三次元培養することにより HCV 様粒子が産生され細胞外へ分泌される。この HCV 様粒子を含む培養上清を Huh7 細胞へ添加したところ、72 時間後に HCV-RNA および蛋白発現が認められた。一方、subgenomic-HCV レプリコン細胞の培養上清の場合はこのような発現は観察されなかった。HCV 様粒子の感染は抗 E2 抗体及び NOB 抗体 (E2 蛋白と細胞との結合を阻害する)により抑制されるため、エンベロープ依存的な感染であることを確認した。

［村上恭子、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（２）温度感受性ゲル TGP で三次元培養した HCV 発現細胞の形態学的解析

TGP で三次元培養した RCYM1 細胞の微細構造を透過型および走査型電子顕微鏡によって観察した。単層培養細胞に比べ細胞表面の微絨毛がよく発達し、また、微小胆管様の構造が細胞間に観察された。これらの特徴はラジアルフロー型バイオリアクター （RFB）培養で認められたものと一致しており、三次元培養化細胞が生体肝組織に近いことを示している。

［村上恭子、石井孝司、吉崎佐矢香、相崎英樹、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（３）三次元培養細胞内での HCV 様粒子の形態観察

HCV 様粒子が産生される RCYM1 細胞の TGP 培養系で、細胞内の HCV 様粒子の形態、存在様式を解析した。RCYM1 細胞内には小胞体膜上及び小胞内に 50nm 程度の粒子様構造物が観察された。免疫電子顕微鏡観察でこの構造物が anti-core 及び anti-E1 抗体と反応したことから、HCV 様粒子であることが示された。

［村上恭子、石井孝司、吉崎佐矢香、相崎英樹、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（４）TGP 三次元培養細胞を利用した HCV 粒子産生系の薬剤評価への応用

TGP 三次元培養細胞を用いた HCV 粒子産生系が新規薬剤評価系として利用可能であるか否かについて検討した。HCV 治療薬として使用されているインターフェロン(IFN)またはリバビリン(RBV)を同培養系に添加し、培養上清中の HCV 粒子密度に相当する 1.18g/ml 分画中の HCV-RNA 量を測定した。HCV-RNA 量は約 90%まで減少することがわかった。HCV 粒子産生阻害作用を指標とした新たな抗 HCV 薬の評価系として有用であることが示された。

［村上恭子、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（５）RFB 三次元培養システムを利用した HCV 粒子産生系の薬剤評価への応用

RFB を利用した RCYM1 細胞の三次元培養系では培養上清中に HCV 粒子が放出される。この培養系が抗 HCV 薬評価系として利用可能であるかを検討した。RFB に RCYM1 細胞を導入後、100IU/ml のインターフェロン（IFN）を培地中に添加し、2 週間培養した。経時的に培地を回収し、HCV-RNA 量を測定したところ、細胞あたりの HCV 粒子産生量が IFN 処理によって顕著に減少することを見出した。また、IFN 添加 7 日目以降では細胞増殖の亢進を観察した。IFN により HCV が除去されたことで細胞増殖能が回復した可能性が考えられた。

［村上恭子、石井孝司、吉崎佐矢香、相崎英樹、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（６）三次元培養系による HCV 粒子作製の効率化

RCYM1 細胞の三次元培養系で HCV 様粒子の産生、細胞外への分泌を見出しているが、ウイルス産生効率を

向上させるため、宿主細胞としてセンダイウイルス C 蛋白発現により IFN 非感受性となった Huh7 細胞(H-SeVC-36)等の様々な IFN 応答抵抗性細胞での HCV 複製を検討している。これらの細胞株に種々の遺伝子型のダイシストロニック HCV ゲノム RNA を導入し、より複製効率の高い細胞の樹立を試みている。

［村上恭子、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（７）感染性クローン H77 の REB/HCV 感染系における増殖のメカニズムの解析

我々はチンパンジーで感染性を示した HCV 分子クローン H77 を RFB で培養した FLC4 細胞に導入すると、培養上清中に、長期にわたって安定的に HCV 粒子を産生すること、その粒子が感染性も示すことを見出している。この RFB で増殖している HCV RNA の塩基配列を調べたところ、数カ所に遺伝子変異が集積していた。これらの遺伝子変異が FLC４細胞での HCVRNA の複製における影響を調べるため、これらの遺伝子変異を導入したレプリコン遺伝子を用いた実験を行っている。

［相崎英樹、村上恭子、吉崎佐矢香、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男］

（８)RFB による HCV 遺伝子型 2a 発現細胞(IH fmp)の三次元培養検討

HCV 遺伝子型 2a の full-length dicistronic RNA を保持する Huh7 細胞（IH fmp）を RFB 培養しウイルスを大量産生させるため、まず IH fmp 細胞の培養条件の至適化を検討した。遺伝子型 1b 細胞（RCYM1）と同じ条件で培養したところ必ずしも細胞増殖は良好とは言えなかったため、播種細胞数、培地等を変更したところ、細胞増殖の指標となる酸素消費量とグルコース消費量は共に経時的な増加を示した。

［吉崎佐矢香、石井孝司、村上恭子、相崎英樹、 *脇田隆字、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研)］

（９）RFB 培養による遺伝子型 2a HCV 粒子の産生

HCV 遺伝子型2a クローン JFH1 は培養細胞においてウイルス粒子を産生することが報告されている。そこで RFB を用いた三次元培養において HCV 粒子の産生を試みた。JFH1 の full length genome から作製した RNA を Huh7 細胞にトランスフェクションし、RFB による三次元培養を行った。培養上清を濃縮し HCV-RNA を定量したが、これまでのところ HCV 粒子産生を示す知見は得られていない。現在、遺伝子導入、RFB 培養条件を詳細検討中である。

［吉崎佐矢香、石井孝司、村上恭子、相崎英樹、*脇田隆字、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研)］

（10）Pol I プロモーター/ターミネーター系を用いた感染性 HCV 粒子の作成

HCV 全長の遺伝子を RNA polymerase I プロモーター／ターミネーター間に挿入したプラスミドを作成し、ヒト肝臓由来の細胞に導入すると、細胞内で HCV ゲノム RNA の合成およびウイルス蛋白の発現が確認できた。さらにその培養上清中にもウイルス粒子の分泌が確認された。ショ糖密度勾配遠心法により HCV 粒子の密度を調べたところ、約 1.15-1.18 g/ml であった。さらにこの上清を限外濾過膜にて濃縮し、Huh7.5.1 細胞へ感染させたところ、ウイルスの感染、複製が確認された。現在、ウイルス粒子の電子顕微鏡による観察を行っている。

［鈴木亮介、近藤円香、政木隆博、松田麻未、相崎英樹、村上恭子、*脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研）］

（11）HCV レプリコンを持つ細胞への HCV 構造蛋白の供給による粒子形成

HCV レプリコン細胞に HCV 構造蛋白を供給することで、HCV RNA がパッケージングされたウイルス様粒子を形成できる可能性がある。HCV subgenomic replicon Huh7 細胞株 (5-15) に、HCV 構造蛋白を発現する組換え DIs を感染させ、１週間培養後上清及び細胞を分画して調べたところ、蔗糖密度勾配遠心分画で構造蛋白、HCV RNA は同一の密度画分に存在した。またこの RNA は RNase に抵抗性であったことから、レプリコン RNA を含む HCV 粒子形成が示唆された。

［張斌、石井孝司、村上恭子、鈴木亮介、吉崎早矢香、鈴木哲朗、宮村達男］

（12）HCV コア蛋白によるヌクレオキャプシド様粒子の作成

HCV コア蛋白によるヌクレオキャプシド形成機構を解析し、コア蛋白のセルフアセンブリー、RNA パッケージングには N 末端側に３カ所存在する塩基性アミノ酸クラスター (aa 6-14, 39-44, 59-72) が重要であることを見出した。現在、HCV ゲノム発現系を用いてコア蛋白の変異が粒子形成へ及ぼす影響を解析している。

［坂本真一郎、松田麻未、白木和子、鈴木亮介、*松浦善治、鈴木哲朗、宮村達男（*大阪大学微研)］

（13）バキュロウイルス-昆虫細胞由来試験管内発現系を利用した HCV ヌクレオキャプシド産生

バキュロウイルスベクターを昆虫細胞での HCV 蛋白発現系で細胞内にヌクレオキャプシド様粒子を産生することが可能であるが、発現蛋白質の可溶化が容易でないことから粒子の単離が難しい。そこで、最近開発されたバキュロウイルス-昆虫細胞由来の in vitro translation system でコア遺伝子を発現させ、蔗糖密度勾配遠心にかけたところヌクレオキャプシドと考えられる密度ピークが検出された。現在この画分の性状を解析中である。

［張斌、石井孝司、鈴木亮介、坂本真一郎、吉崎早矢香、鈴木哲朗、宮村達男］

（14）複製複合体を用いた HCV ゲノム複製機構の解析

HCV ゲノム複製活性を保持したまま、HCV 非構造蛋白と宿主因子からなる HCV ゲノム複製複合体を粗精製し、その解析を目指した。まず、初めて 5-bromouridine 5 ’-trephosphate を用いて、レプリコン細胞内で複製している HCV を組織染色することに成功した。更に、無細胞系で HCV 複製活性を検出できる系を構築した。これらの方法を用いた解析から、HCV 非構造蛋白と宿主因子からなる HCV ゲノム複製複合体は lipid raft を含む界面活性剤不溶性画分に内包されていることを見いだした。

［相崎英樹、*マイケル・ライ（*南カルフォルニア大学)］

（15）HCV 複製における hVAP-33 の役割

Human vesicle-associated membrane protein-associated protein of 33 kDa (hVAP-33) の HCV 複製における役割について研究した。hVAP-33 は NS5A, 5B と結合し、膜の lipid raft 上に引き込み、ゲノム複製複合体を形成する働きがあることを示した。更に、最近の研究では、HCV レプリコン細胞での HCVRNA の適応性変化にこの hVAP-33 が重要な役割をしていることが証明され、注目されている。

［相崎英樹、*マイケル・ライ（*南カルフォルニア大学)］

（16）HCV 複製における PTB の役割

polyprimidine tract-binding protein (PTB)は HCV RNA の５’末端や３’末端などに結合し、HCV の翻訳に影響を与えていることが知られている。我々は、このPTB がゲノム RNA 複製に影響を与えている可能性について調べた。PTB は lipid raft を含む界面活性剤不溶性画分に存在する HCV ゲノム複製複合体に含まれ、ウイルス RNA 合成に必須な蛋白であることを示した。

［相崎英樹、*マイケル・ライ（*南カルフォルニア大学)］

（17）プロテオーム解析による HCV 複製調節因子の検索(1)

HCV ゲノム複製複合体は界面活性剤不溶性画分に内包されていると考えられている。HCV ゲノム複製に必要な宿主因子を同定し、ウイルス複製のメカニズムを明らかにするため、レプリコン細胞と Huh-7 細胞から界面活性剤不溶性画分を粗精製し、二次元電気泳動により各蛋白の量的比較を行い、HSP90、TRiC、HSC70 など約 50 種類の蛋白スポットがレプリコン細胞で有意に検出された。そこで、レプリコン細胞を HSP90 の特異的阻害剤 Geldanamycin で処理したところ、ウイルス複製を強く抑制したことから、HSP90 が HCV 複製に関与していることが示唆された。現在、その他の宿主因子についても検討中である。

［相崎英樹、松田麻未、井上　寧、*マイケル・ライ、鈴木哲朗、宮村達男（*南カルフォルニア大学)］

（18）プロテオーム解析による HCV 複製調節因子の検索(2)

HCV ゲノム複製機構を明らかにするため、RCYM1 細胞から lipid rafts/caveolae 分画を粗精製し性状解析を行った。また、HCV ゲノム複製と細胞増殖との相関を調べ、細胞が対数増殖期にあるとき複製活性が高いことを見出した。これらの知見を基に、HCV ゲノム複製を調

節する宿主因子を同定するため、対数増殖期及び定常期の RCYM1 細胞からそれぞれ複製複合体を分離し二次元電気泳動により各蛋白の量的比較を行い、約 10 種類の蛋白スポットに有意差を認めた。MALDI-TOF-MS 解析を用いて、それらの宿主蛋白を同定した。対数増殖期の複製複合体分画に分子シャペロンが多く含まれるという特徴が見出された。

［井上　寧、松田麻未、村上恭子、相崎英樹、鈴木哲朗、宮村達男］

（19）HCV 複製に分子シャペロン TRiC および HSC70 が与える影響

HCV ゲノム複製機構に関与する宿主蛋白として、分子シャペロン TRiC（T-complex polypeptide 1 ring complex）の subunit である CCT5 および HSC70（heat shock cognate protein 70）を同定した。これらに対する siRNA によって発現を抑制したところ、HCV 複製が 30～40%低下した。薬剤による TRiC 誘導により HCV 複製効率は上昇した。また、CCT5 が HCV NS5B 蛋白と結合することを明らかにした。以上より、分子シャペロン特に TRiC が HCV 複製に強く関与していることが示唆された。

［井上　寧、村上恭子、松田麻未、相崎英樹、白倉雅之、下地　徹、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（20）HCV の複製および翻訳に対する Pin1 の影響

Pin1 はリン酸化蛋白に結合し、その蛋白を異性化させる機能を持ち、これまでに細胞周期や癌化に重要な役割を担っている事が報告されている。この Pin1 が、HCV の翻訳または複製へ関与している可能性について解析した。その結果、HCV レプリコン細胞において複製効率に対する影響は認められなかったが、dicistronic reporter assay 系において Pin1 の過剰発現による HCV IRES の翻訳効率の上昇が認められた。

［鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男］

（21）HCV NS5A 蛋白のウイルス RNA 複製における役割

NS5A 蛋白を部分欠損またはリン酸化部位を点変異させた HCV RNA レプリコンを用いた複製解析から、HCV ゲノム複製に影響する NS5A 領域が明らかにされた。NS5A 内の多くのリン酸化部位の変異によって HCV 複製は劇的に低下した。また、これらの NS5A 変異は HCV IRES 活性には影響を与えなかった。NS5A 変異が HCV 複製複合体形成に及ぼす影響を membrane floatation assay によって解析中である。

［坂本真一郎、根岸英雄、相崎英樹、鈴木亮介、村上恭子、*松浦善治、鈴木哲朗、宮村達男（*大阪大学微研）］

（22）プロテアソームによる HCV コア蛋白の選択的分解における PA28γの役割

HCV コア蛋白はプロテアソームによってユビキチン依存的及び非依存的に分解される可能性を示してきた。後者の機構にはプロテアソーム活性化因子 PA28 との結合が重要であることが、ユビキチン鎖が形成されない変異コア蛋白が PA28γの発現によって不安定化し、PA28γ結合領域を欠損させた場合はそのような不安定化は観察されない、などの知見から明らかとなった。

［鈴木亮介、*森石恆司、石井孝司、白倉雅之、勝二郁夫、*松浦善治、鈴木哲朗、宮村達男（*大阪大学微研）］

（23）HCV NS2 結合宿主因子の探索

HCV NS2 蛋白に結合する宿主因子を探索する目的で、Flag-tag 付加 NS2 蛋白を恒常的に発現するほ乳動物細胞株を樹立し、この細胞から Flag 抗体を用いて NS2-宿主因子複合体を調製した。NS2 結合宿主因子を MALDI-TOF/MS により同定したところ、α/β-tubulin および ANT(Adenine Nucleotide Translocase)2/3 であった。ANT2/3 はミトコンドリア蛋白質である事から、さらに NS2 蛋白質のミトコンドリアへの局在を調べ、NS2 発現細胞においてミトコンドリア中に NS2 蛋白が局在している事を確認した。

［鈴木亮介、松田麻未、鈴木哲朗、宮村達男］

（24）HCV 遺伝子型 1b 及び 2a genomic RNA の発現に伴う細胞蛋白質の量的変動の解析

HCV 複製が宿主細胞へ及ぼす影響を調べる為に、HCV 遺伝子型 1b 及び 2a の full-genomic RNA をそれぞれ発現している Huh7 細胞と発現していないコントロー

ル細胞について蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析を行い、コントロール細胞に対して差の見られるスポットを探した。各細胞検体より約 1000 spot 検出し、t-test<0.05、コントロール細胞に対して±1.5 倍以上の差の見られたスポットが、遺伝子型 1b については 11 種類、2a に関しては 3 種類存在する事がわかった。これらについて現在蛋白同定中である。

［松田麻未、鈴木哲朗、宮村達男］

（25）Human ICAD の遺伝子発現調節機構の解析

Inhibitor of caspase-activated DNase (ICAD)はアポトーシスを抑制的に調節する因子であるが、遺伝子発現機構は十分に明らかではない。human ICAD 遺伝子をクローニングし、転写調節機構を解析した。5 ’ RACE 解析から翻訳コドンの上流７１bp に転写開始点を同定し、部分欠損変異体を用いたレポーターアッセイにより転写調節に重要な領域を同定した。また、クロマチン免疫沈降法などによって、その領域内に存在する E-box 配列への転写因子 Myc の結合が humanICAD 遺伝子発現の調節に重要であることが明らかとなった。

［小俣和彦、鈴木亮介、政木隆博、*佐藤田鶴子、鈴木哲朗、宮村達男（*日本歯科大学)］

（26）HCV コア蛋白による human ICAD の遺伝子発現活性化

我々はこれまでにcDNAマイクロアレイ解析などからHCV コア蛋白発現細胞で ICAD の発現が上昇することを見出している。そこで、HCV コア蛋白が human ICAD プロモーター活性へ及ぼす影響を解析した。human ICAD プロモーター活性は HCV コア蛋白の発現によって亢進されること、全長コア蛋白に比べ C 末端側を部分欠損させた核局在型の方がその効果が大きいことがわかった。

［小俣和彦、鈴木亮介、*佐藤田鶴子、鈴木哲朗、宮村達男（*日本歯科大学)］

（27）ヒト B 細胞株を用いた HCV 病原性機構の解析

HCV 感染による肝外病変、特に B 細胞系へ及ぼす影響を明らかにするため、HCV コア蛋白発現 B 細胞株（Bjab Core）と一過性にコア蛋白を発現させた EBV B cell line (EB-BCL Core)を使って HCV コア蛋白の発現に伴う B 細胞表面分子変化を検索した。CD48 抗原の発現低下が最も顕著であること、コア蛋白の発現によって、CD48 のプロモーター活性及び mRNA レベルが低下することを見出した。さらに、コア蛋白の発現量依存的な CD48 プロモーター活性の抑制効果を明らかにした。

［町田早苗、鈴木亮介、小俣和彦、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男］

（28）シグナルペプチド付加 HCV E2 蛋白による細胞性免疫誘導の試み

HCV に対する DNA ワクチンは作製が簡便などのメリットがあるもの細胞性免疫（CTL）の誘導効率が低い。我々は、配列多様性に富んだ HCV E2 領域に対する CTL を効率よく誘導するため、シグナルペプチドを付加させた形で E2 蛋白を発現させ本来の蛋白プロセシングを保持させることを試みた。E1 の C 末端側疎水性領域に存在する E2 シグナルペプチドを付加した E2、及び単独 E2 の発現プラスミドを作製し、マウスに免疫し、CTL 活性を解析した。その結果、シグナルペプチド付加 E2 を免疫したマウスで有意に CTL が誘導され、新しいドミナントエピトープが見出された。

［町田早苗、石井孝司、鈴木亮介、*赤塚俊隆、鈴木哲朗、宮村達男（*埼玉医科大学)］

（29）C 型肝炎治療薬に対する耐性ウイルスの解析

現在、C 型肝炎に対する治療法として最も効果が期待できるのは、IFN とリバビリンの併用療法であるが、リバビリンに対する耐性ウイルスの出現については不明な点が多い。そこで、遺伝子型 1b 及び 2a の HCV レプリコン細胞にリバビリンを数ヶ月間処理したところ、遺伝子型 2a レプリコン細胞がリバビリン耐性を獲得することを見出し、耐性細胞で特徴的な HCV 遺伝子変異を同定した。

［スス・ムェー、*脇田隆字、**小池和彦、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研、**東京大学)］

（30）HCV RNA 結合ペプチドの探索

抗 HCV 薬の創製を目指して、HCV RNA に特異的に結合しウイルス増殖を阻害するペプチドの探索を行って

いる。RNA 結合ペプチドのスクリーニングには、ユニークな細胞内 RNA-ポリペプチド相互作用検出系である KAN (Kanamycin Antitermination)システムを用いた。KAN システムでは、標的 HCV RNA 発現プラスミドとランダムペプチドライブラリー発現ベクターを大腸菌内で共発現させ、レポーターアッセイによって結合ペプチド配列を選択する。これまでに HCV 5 ’非翻訳領域 RNA と結合しうる 3 個の陽性クローンを得た。

［鎌田麻利江、石井孝司、*原田和雄、鈴木哲朗、宮村達男（*東京学芸大学)］

（31）C 型肝炎の発症進展に関与する宿主遺伝子の解析

ウイルス肝炎の個別診断、治療法への応用を最終的な目標として、C 型肝炎の発症、進展に関連する遺伝子多型の解析を行っている。日本人健常者及び C 型肝炎患者についてアレル特異的 SNP 検出プローブを用いて X、Y を除く全染色体にわたって SNP スキャンニングを行った。その結果、C 型肝炎の発症と最も強く連鎖する領域が 7 番染色体内に見出された。現在、標的領域の絞り込みと候補遺伝子の同定を進行中である。

［鈴木哲朗、*亀岡洋祐、吉崎佐矢香、宮村達男（*医薬基盤研)］

（32）歯科診療における院内感染対策ガイドライン作成へ向けた情報収集

近年、歯科医療における診療技術の高度化、多様化に伴って院内感染対策を組織的、体系的に整備することが求められている。厚生労働省研究班にてウイルス性肝炎、エイズなどの感染リスク評価に立脚したガイドラインの作成を進めている。CDC ガイドラインの翻訳本の作成を分担するとともに、コクランライブラリーを利用した感染リスク情報の網羅的な収集を行った。

［鈴木哲朗、*佐藤田鶴子、宮村達男（*日本歯科大学）］

（33）HCV NS5A 蛋白質と amphiphysin II の相互作用

HCV の NS5A 蛋白質は細胞内で小胞状膜構造を形成し、その膜上に局在する。Amphiphysin II は脂質二重膜の湾曲度センサーとして機能する蛋白質で、エンンドサイトーシスでの小胞形成に関与する。したがって、NS5A 蛋白質は amphiphysin II と結合することにより、その機能を利用して小胞状膜構造を形成すると予想された。しかし、NS5A 蛋白質の局在する小胞状膜構造の形成には、amphiphysin II は関与していないことを明らかにした。

［西村順裕、岡本徹（阪大微研)、森石恆司（阪大微研)、松浦善治（阪大微研)］

（34）HCV コア蛋白と結合する宿主因子の検索

HCV コア蛋白質の新たな機能を同定する目的で、MEF-tag 精製法、および GST-pull down 法を用いてコア蛋白に特異的に結合する宿主因子のスクリーニングをおこなった。特異的な結合蛋白を SDS-PAGE ゲルより回収し、質量分析法で分析し、７つの新規結合因子を得た。これらとコア蛋白の結合を免疫沈降法で確認した。HCV による病原性、ウイルス複製との関連について解析している。

［勝二郁夫、白倉雅之、下地　徹、福田浩一郎、村上恭子、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男；市村徹（都立大)、佐藤慈子、深澤征義、山河芳夫、西島正弘（細胞化学)、水本清久（北里大薬)］

（35）E6AP による HCV コア蛋白の分解調節機構の解析

コア蛋白の新規結合因子として E3 ユビキチンリガーゼ E6-associated protein（E6AP）を同定した。E6AP 依存性コア蛋白分解の分子機構について解析した。E6AP（WT）との共発現では、Core 蛋白のユビキチン化が促進され、E6AP（dn）との共発現では、ユビキチン化は抑制された。また、siRNA で E6AP の発現を抑制したところ Core 蛋白の分解が阻害された。コア蛋白の E3 ユビキチンリガーゼが E6AP であることを明らかにした。

［白倉雅之、勝二郁夫、下地徹、福田浩一郎、村上恭子、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男；市村徹（都立大)］

（36）HCV コア蛋白と E6AP の結合領域の解析

E6AP によるコア蛋白の認識機構を明らかにするために、コア蛋白および E6AP の各種欠損変異体を発現するプラスミドを作製した。これらを用いて GST-pull down

法、免疫沈降法などで結合部位を解析した。E6AP との結合にはコア蛋白の N 末側に重要な領域が存在することが分かった。また、E6AP 側は HECT domain 近傍に重要な領域が存在することが明らかとなった。更に詳細に結合部位を解析中である。
[福田浩一郎、勝二郁夫、白倉雅之、下地徹、村上恭子、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男；水本清久（北里大薬）]

（37）HCV コア蛋白と結合する宿主因子 ftp-3 の解析
コア蛋白と結合する宿主因子として ftp-3 を同定した。ftp-3 は主として核内に存在する RNA 結合蛋白で RNA スプライシングに関与すると推定されている。細胞内での結合は免疫沈降法ーイムノブロット法で確認することができた。コア蛋白との結合が ftp-3 の機能に及ぼす影響と病原性との関連を解析している。
［勝二郁夫、村上恭子、下地　徹、福田浩一郎、宮村達男、市村　徹（都立大学)］

（38）HCV 非構造蛋白と結合する宿主因子の解析
HCV がコードする非構造領域蛋白は酵素活性を有し、ウイルス複製に必須である。ウイルスが複製する際には宿主の複製機構を巧みに利用していると推定されるが、どの宿主因子を利用しているかは明らかになっていない。そこで、MEF-tag affinity 精製法と質量分析法で HCV 非構造蛋白と結合する宿主因子のスクリーニングを行い、ウイルス複製を規定する宿主側因子の同定を試みている。
［勝二郁夫、白倉雅之、村上恭子、下地　徹、福田浩一郎、宮村達男、市村徹（都立大)、水本清久（北里大薬）］

（39）HCV IRES IIId 領域に結合する宿主因子の影響
HCV 5 ' 非構造領域内の IIId 領域にはコア蛋白が結合すること、及びコア蛋白が HCV IRES 依存的翻訳を抑制する事が報告されている。翻訳抑制の機構として IIId に結合する宿主因子とコアの拮抗作用が考えられた。そこで、IIId 領域特異的に結合する宿主因子を検索したところ、p54-nrb,hnRNP-H,PSF 等が同定された。これらの因子と HCV-RNA 複製効率、粒子形成等への影響を検討中である。
［村上恭子、福田浩一郎、下池貴志、松田麻未、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（40）HCV コア蛋白質による HCV RNA の翻訳抑制機構の解析
これまで HCV 5 '非翻訳領域（5 'UTR）内の stem-loop IIId 領域 (IIId)に HCV コア蛋白質が相互作用し 5 'UTR 依存的翻訳を抑制することを示唆する結果を得た。昨年に引き続き、翻訳抑制に重要なコア蛋白質領域を更に詳しく調べた結果、コア蛋白質に存在する正に荷電したアミノ酸残基のクラスター、三領域が翻訳抑制に重要であることを示唆する結果を得た。翻訳に重要な宿主因子と HCV 5 ' UTR との相互作用にコア蛋白質がどのように関わるかの解析を進めている。
［下池貴志、鈴木哲朗、＊松浦善治、宮村達男: （＊阪大微研)］

３．E 型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究
（１）遺伝子 1 型（G1)、G3 及び G4 HEV VLP の抗原性の比較
組換えバキュロウイルス発現システムを用い、G1、G3 及び G4 HEV の ORF2 の N 末端から 111 アミノ酸を欠失した領域を昆虫細胞で発現させ、VLP の作製に成功した。G1 と G3 の VLP をマウスに免疫し、単クローン抗体を作製した。エピトープが同定されたそれぞれの単クローン抗体を用い、G1、G3 型及び G4 VLP との反応の違いから抗原性を評価した。その結果、遺伝子型間には抗原性の異なるエピトープが存在し、一部のエピトープは立体構造に依存する事が明らかになった。また、遺伝子型特異的な単クローン抗体が得られた。これらの単クローン抗体を用いて、遺伝子型を識別できる抗原および抗体検出法の樹立を進めている。
［李　天成、武田直和、宮村達男］

（２）E 型肝炎ウイルス中空粒子（HEV VLP）形成に必須な領域の同定
N 末端から 111 アミノ酸を欠失させた HEV 構造蛋白を組換えバキュロウイルスで発現すると、直径約 23-24nm の VLP が産生される。アミノ酸配列解析によって、この粒子蛋白は 497 個のアミノ酸から形成され、N 末端の 111 個のアミノ酸以外に C 末端から 52 個のア

ミノ酸が欠失していることが明らかになっている。構造蛋白の N 末端、あるいは C 末端、さらに両端を欠失した構造蛋白を発現し、VLP 形成に必須な領域の同定を試みた結果、VLP 形成に必須な領域は 126-601 アミノ酸であることが明らかになった。

［李　天成、武田直和、宮村達男］

（3）大きなサイズをもつ G3 HEV VLP の作製およびウイルス遺伝子との結合

G3 HEV の ORF2 全長を発現し、直径約 35-38nm の粒子を作製することに成功した。この粒子は形状、サイズともネイティブなウイルス粒子と非常に類似の粒子であった。現在、クリオ電顕で三次構造の解析をおこなっている。また、この粒子の中には約 2k bp の ORF2 RNA が取り込まれていた。HEV 全長遺伝子を含む組み換えバキュロウイルスと ORF2 全長の組み換えバキュロウイルスを共感染し、HEV 全長遺伝子を大きい粒子に取り込めるかどうかを検討している。

［李　天成、恒光　裕（動衛研）、武田直和、宮村達男］

（4）G4 HEV の構造蛋白の発現及び抗原性の解析

イノシシからヒトの HEV と極めて類似の HEV が分離されている。イノシシの HEV 抗体保有率は高く、中間宿主の一つではないかと考えられている。急性 E 型肝炎患者血清から 2 株、イノシシ糞便から 1 株の G4 HEV 遺伝子を検出した。構造蛋白全長、及び N 末端から 13 アミノ酸を欠失した領域を RT-PCR 法で増幅し、定法どおり組換えバキュロウイルスを作製し、VLP 形成を電子顕微鏡で観察した。しかし、いまだウイルス様粒子形成は見られていない。さらに改変したコンストラクトを作製し、大きな VLP の作製を進めている。

［本郷美那子、李　天成、宮村達男、武田直和、栄　賢司、伊藤　雅（愛知衛研）］

（5）マングースの E 型肝炎ウイルス抗体保有状況

HEV の中間宿主を同定する目的で、沖縄島の野生マングース 84 匹を捕獲し、血清抗体および HEV 遺伝子の保有状況を調べた。組換え HEV 様中空粒子をマイクロプレートに固相化し、酵素標識抗ネコ IgG および IgM を二次抗体とした ELISA 法を確立した。抗体の有無はウエスタン法（WB）で確認した。また、血清から RNA を抽出し、RT-PCR 法によって構造蛋白領域の一部を増幅した。この結果、7 匹（8.3%）が IgG 抗体陽性で、12,800 倍の抗体価を有する個体がいた。この個体は IgM 抗体も陽性であった。IgG 抗体保有率は体重、身長とともに増加する傾向が見られた。HEV 遺伝子の増幅は成功していない。

［李　天成、宮村達男　武田直和、斉藤美加、小倉　剛（琉球大学）］

（6）HEV の異種動物への感染実験

最近の遺伝子解析の結果から、野生動物由来 HEV はヒト由来 HEV と極めて似ている事が明らかになってきた。HEV が種の壁を越えて異種動物に感染するかどうかを明らかにするため、イノシシ由来の G4 HEV およびブタ由来の G3 HEV をそれぞれカニクイザルに静脈注射し、経時的に採血、採便し、血中の ALT、AST、HEV RNA、IgG、IgM、IgA および便中の HEV RNA を測定した。何れのサルも ALT、AST、IgG、IgM、IgA の上昇と、便、血中からの HEV RNA の検出が確認され、野生動物由来 HEV はサルに感染することが明らかになった。

［李　天成、武田直和、宮村達男、網　康至、須崎百合子（動物管理室）］

（7）野生動物の HEV 感染状況調査

イノシシ、シカ、野ウサギの HEV 感染状況を知る目的で、血清から HEV RNA 検出および HEV-IgG 抗体調査を行った。シカでは 287 検体の全てが HEV RNA、および HEV-IgG 抗体陰性であった。野ウサギの血清 31 検体からも抗体は検出されなかった。イノシシ血清 169 検体では 84 検体（49.7%）が陽性であった。さらに調査する必要があると考えている。

［李　天成、武田直和、宮村達男、棚林　清、山田章雄（獣医科学部）］

（8）輸血後肝炎における E 型肝炎ウイルス（HEV）の臨床的意義

輸血後肝炎の疑われる症例検体について抗 HEV 抗体保有率の解析を行った。測定した 91 症例全例で抗 IgM

抗体は陰性であった。抗 IgG 抗体は 17 例（18.7%）が陽性であった。また、供血者血清 500 検体について同様に抗 HEV 抗体の解析を行ったところ、抗 IgG 抗体は 16 例（3.2%）、抗 IgM 抗体は 0 例（0%）が陽性であった。輸血歴を有する患者群では、輸血を介した抗 HEV 抗体の伝搬などのために抗 IgG 抗体保有率が高い傾向にあるのかもしれない。

［李　天成、*菊地　秀、**瀧本　眞、***藤井寿一、****枝元良弘、鈴木亮介、武田直和、鈴木哲朗、宮村達男］

（*仙台医療センター、**兵庫県リハビリテーションセンター附属中央病院、***東京女子医科大学、****国立国際医療センター）］

４．GB ウイルス（GBV）に関する研究

（１）GBV-B 感染動物モデルの確立

GBV-B の全長 cDNA から合成した GBV-B RNA をタマリンの肝臓に接種することで急性肝炎を発症させられることを昨年報告したが、より簡便な感染モデル構築のため本年はマーモセットに GBV-B RNA またはタマリンの感染血漿を接種することでウイルス血症を発症させられるかを検討した。マーモセットは RNA、感染血漿いずれの接種でもウイルス血症は発症したが、急性肝炎症状は呈さなかった。

［石井孝司、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、宮村達男、*飯島沙幸、*明里宏文、**山口健次郎、**槙　昇（*医薬基盤研、**先端生命科学研）］

（２）GBV-B 蛋白を発現する組み換え DIs による免疫誘導能の検討

GBV-B の構造蛋白や非構造蛋白の一部を組み込んだ組換え DIs を作成し、マウスに皮下接種したところ、目的蛋白質に対する抗体の誘導が認められた。現在、これらの DIs をタマリンあるいはマーモセットに接種し、GBV-B を感染させて防御効果を検討する実験を進めている。

［石井孝司、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、宮村達男、*飯島沙幸、*明里宏文、**山口健次郎、**槙　昇（*医薬基盤研、**先端生命科学研）］

IV.　腫瘍ウイルスに関する研究

１．ヒト乳頭腫ウイルス (HPV)に関する研究

（１）HPV16E6 蛋白と結合する宿主蛋白 E6AP の新規基質蛋白の検索

HPV16E6 蛋白は宿主蛋白である E6AP と複合体を形成し E3 ユビキチンリガーゼとして機能し、p53 をユビキチン化し、分解され、不活化する。E6AP は単独でもユビキチンリガーゼ活性を有する。E6AP の新規基質蛋白を同定するために、MEF-tag 精製法、質量分析法を用いて解析し、新規 E6AP 結合蛋白を同定した。得られた結合蛋白は新規基質蛋白の可能性が考えられ、現在、詳細に検討中である。

［勝二郁夫、下地徹、宮村達男；市村　徹（都立大）］

（２）E6AP と annexin A1 の相互作用と機能解析

子宮頸癌細胞株 C33A 細胞から GST-pull down 法により E6AP 新規結合蛋白として annexin A1 を同定した。in vitro において E6AP は annexin A1 と Ca2+依存性に結合した。また、E6AP と annexin A1 を共発現させたところ、annexin A1 の蛋白レベルが減少したことから、annexin A1 は E6AP のユビキチン化の基質である可能性が示唆された。現在、E6AP 依存性 annexin A1 分解機構について解析を進めている。

［下地徹、勝二郁夫、松田麻未、村上恭子、宮村達男］

V. SARS コロナウイルス（SARS-CoV）に関する研究

（１）SARS コロナウイルス（SARS-CoV）構造蛋白のワクチニアウイルスでの発現

重症急性呼吸器症候群（SARS）は SARS-CoV 感染によって起こる疾患で、症状の重篤さと致死率の高さから人類に対する深刻な新たな脅威となっている。本疾患の高感度診断系およびワクチン開発を目的として、SARS-CoV の構造蛋白 4 種の cDNA を DIs 株に組み込み、組換えウイルスを哺乳類細胞に感染させたところ、目的の各蛋白が感染細胞で発現していることが確認でき、すべての蛋白を発現させた哺乳類細胞では virus-like particle (VLP) が形成されていることが示唆された。この VLP は診断薬やワクチンの候補として重要であると考えられ、現在研究を進めている。

［石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男、*横田恭子、**長谷川秀樹、**永田典代、***水谷哲也、***森川　茂、****田

口文広、****田代真人（*免疫部、**感染病理部、***ウイルス第一部、****ウイルス第三部)］

（２）SARS-CoV 構造蛋白を発現する組換えワクチニアウイルスの免疫誘導能の検討

SARS-CoV構造蛋白を発現する組換えDIsをマウスに皮下及び経鼻接種したところ、いずれのマウスでもSARS-CoV に対する液性及び細胞性免疫が誘導された。Spike protein である S を発現する組換え DIs を接種された群では、SARS-CoV を経鼻接種した場合に感染から完全に防御されたことから、本組換え DIs は SARS ワクチンの候補として有望であると考えられる。

［石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男、*横田恭子、*大西和夫、*高須賀直美、**長谷川秀樹、**永田典代、***水谷哲也、***森川　茂、****田口文広、****田代真人（*免疫部、**感染病理部、***ウイルス第一部、****ウイルス第三部)］

（３）コロナウイルスの生活環における lipid raft の役割

マウス肝炎ウイルス（MHV）は HCV と同じプラス鎖 RNA ウイルスであるが、HCV と異なり、効率の良い細胞培養系が確立している。そこでまず、MHV の生活環における lipid raft の役割について調べた。その結果、lipid raft はMHV のエントリーや細胞融合には必要だが、ウイルス放出には必要ないことがわかった。今後、この実験に用いた方法を用いて、HCV の生活環における lipid raft の役割について研究する予定である。

［相崎英樹、*マイケル・ライ（*南カルフォルニア大学)］

VI.その他の研究

（１）ナノバイオ構造用高速高精度解析用電子顕微鏡（TEM）の改良研究

最近の BSE や炭疽菌テロに代表されるように，各種感染症の増大が顕在化している。感染症原因であるウイルスやプリオン蛋白質の機能を解明するためにナノオーダーの微細構造解析が極めて重要で、数百 nm サイズの微小かつ微量なウイルスやプリオン蛋白質の微細構造を直接観察するには高分解能電子顕微鏡（TEM）が唯一のツールである。高コントラスト像検出系技術，ウイルス・蛋白質サーチ画像処理技術，試料前処理用マイクロマシン技術を開発し，これらを搭載したナノバイオ構造高速高精度解析用電子顕微鏡を企画開発したが、これを現在改良検討中である。

［宇田川悦子、柿林博司（日立中央研究所)］

（２）サブトラクション法による輸血後肝炎原因因子の探索

既知の肝炎ウイルス、TTV が関与しない輸血後肝炎症例の血漿検体からサブトラクション法により病因因子の探索を行った。輸血後検体から特異的に増幅される遺伝子断片に候補クローンを得ており、現在、cDNA クローニングのためライブラリースクリーニングを行っている。

［スス・ムェー、鈴木亮介、*瀧本　眞、**小池和彦、鈴木哲朗、宮村達男 (*兵庫県リハビリテーションセンター附属中央病院、**東京大学)］

（３）HRV に関する臨床研究および HRV RNA 定量法の開発

慢性呼吸器疾患の急性増悪は、しばしば感冒が契機となって起こると考えられている。感冒の原因として、ウイルス感染が、なかでも HRV 感染の頻度が高いと考えられている。そこで気管支喘息および慢性閉塞性肺疾患患者急性増悪時の HRV 感染の寄与について前向き多施設研究で検討を行っている。現在までに、59 例を登録し、2 例の急性増悪を確認した。現在、TaqMan Real-Time PCR 法による virus RNA 定量法の確立を試みている。これまでに、10^3 copy/Sample までの定量が可能となった。

［沼田尊功、井上　寧、佐藤哲夫*、鈴木哲朗、宮村達男（*東京慈恵会医科大学呼吸器内科)］

（４）TGP 三次元培養肝細胞のプロテオーム解析

TGP 中でスフェロイド状に三次元培養されたヒト肝癌細胞では細胞極性が形成される。この時どのような蛋白の発現が変化しているかを明らかにするためプロテオーム解析を行った。その結果、単層培養系に比べ脂肪酸輸送に関わる fatty acid binding protein (FABP) 1 の発現上昇が Huh7、HepG2 細胞ともに認められた。この時、FABP1 mRNA レベルも上昇していること、また FABP

の転写活性化に関わる peroxisome proliferator-activated receptor αの遺伝子発現が亢進していることを定量 RT-PCR 法で明らかにした。
［吉崎佐矢香、松田麻未、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男］

（５）TGP 三次元培養における肝機能発現

分化型ヒト肝癌細胞株の TGP 三次元化培養系が、単層培養系に比べ肝機能発現がどのように異なるかをアルブミン産生能を指標として解析した。HepG2 細胞を TGP で培養した場合, 単層培養に比べ細胞外に分泌されるアルブミン量の有意な上昇が観察された．この時、アルブミンの mRNA 量は三次元培養系の方がやや高い傾向にあったものの有意差は認められず，遺伝子発現から蛋白分泌に至るまでの複数過程における分子機構が関与し，最終的な steady-state level の差に繋がっていると考えられた.
［岩田耕一郎、吉崎佐矢香、*岩堀　徹、**平野俊彦、鈴木哲朗、宮村達男（*東京医科大学、**東京薬科大学)］

（６）TGP 三次元培養肝細胞のマイクロアレイ解析

HepG2 細胞の TGP 三次元培養系での遺伝子発現変化をマイクロアレイ法によって網羅的に解析した。TGP 培養によって発現量が 2 倍以上に増加した遺伝子は 87 種類, 2 分の 1 以下に低下した遺伝子は 20 種類だった。細胞増殖，細胞周期に関与する遺伝子の発現減少，細胞骨格、脂質代謝に関連する遺伝子の発現増加が特徴的であった。
［岩田耕一郎、吉崎佐矢香、*岩堀　徹、**平野俊彦、鈴木哲朗、宮村達男（*東京医科大学、**東京薬科大学)］

（７）足場付加型新規 TGP による高分化型肝癌細胞 FLC4 の培養

細胞接着因子を付加した TGP を用いて FLC4 細胞の三次元培養を試みた。細胞接着因子（水溶性ゼラチン、コラーゲンペプチド、ゼラチン)、含量、付加方法、基材を変えて検討を行った。転移温度が 20℃以上のゲル、接着因子を点在させたゲルでは増殖は認められなかった。一方、転移温度が 15℃のゲル、接着因子を均一に付加したゲルでは増殖とスフェロイド形成が認められた。スフェロイド形成が良好であったコラーゲンペプチド 8%含有ゲルでは培養上清中へのアルブミン、αフェトプロテインの分泌上昇が認められた。
［吉崎佐矢香、松田麻未、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男］

（８）高機能保持性肝癌細胞株を用いたレチノイン酸によるアルブミン発現調節機構の解析

All-trans retinoic acid (ATRA)がアルブミン産生を転写レベルで低下させることを見出した。この調節にはアルブミン遺伝子の nt −367/-167 領域が重要であること、ATRA により C/EBP の dominant-negative isoform である liver-enriched transcriptional inhibitory protein (LIP)の発現が選択的に上昇すること、LIP の過剰発現は C/EBP によるアルブミンの転写活性化作用を抑制することを見出した。以上より、ATRA によるアルブミンの発現低下には LIP の dominant negative 作用が重要であることが分かった。
［政木隆博、鈴木哲朗、*松浦知和、**岡崎　勲、宮村達男（*東京慈恵会医科大学・臨床検査医学、**東海大学医学部公衆衛生・社会医学)］

＜別＞　検査業務

第１室：

行政検査

ノロウイルス確認検査	5 件、61 検体	
E 型肝炎確認検査	8 件、60 検体	

検定業務

経口生ポリオワクチン	小分製品	1 件

第２室：

行政検査

平成 16 年度は 4 株のポリオウイルス分離株について行政検査依頼があり、PCR-RFLP 法あるいは ELISA 法による型内株鑑別試験の結果、すべてワクチン株と同定された。富山県で分離された 2 型ポリオウイルスは、塩基配列解析の結果 VDPV と判別された。未同定エンテロウイルス計 13 株の同定について行政検査依頼があり、塩基配列解析による同定を行った。

第３室及び第４室：

依頼試験

B 型肝炎ウイルス体外診断薬　２件

C 型肝炎ウイルス体外診断薬　１件

第５室：

検定業務

乾燥組織培養不活化 A 型肝炎ワクチン　２件

組換沈降Ｂ型肝炎ワクチン（酵母由来）　２件

沈降Ｂ型肝炎ワクチン（huGK-14 細胞由来）　５件

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Tamura M, Natori K, Kobayashi M, Miyamura T, Takeda N: Genogroup II noroviruses efficiently bind to heparan sulfate proteoglycan associated with cellular membrane. J. Virol. 78: 3871-3826, 2004.

2) Okamoto K, Moriishi K, Miyamura T, Matsuura Y: Intramembrane proteolysis and endoplasmic reticulum retention of hepatitis C virus core protein. J. Virol. 78: 6370-6380, 2004.

3) Guntapong R, Hansman GS, Oka T, Ogawa S, Kageyama T, Pongsuwanna Y, Katayama K: Norovirus and sapovirus infections in Thailand. Jpn. J. Infect. Dis. 57: 276-278, 2004.

4) Katayama K, Miyoshi T, Uchino K, Oka T, Tanaka T, Takeda N, Hansman GS: Novel recombinant sapovirus. Emerg. Infect. Dis. 10: 1874-1876, 2004.

5) Hansman GS, Doan L, Kguyen T, Okitsu S, Katayama K, Ogawa S, Natori K, Takeda N, Kato Y, Nishio O, Abe K, Ushijima H: Detection of norovirus and sapovirus infection among children with gastroenteritis in Ho Chi Minh City, Vietnam. Arch. Virol. 149: 1673-1688, 2004.

6) Hansman GS, Katayama K, Maneekarn N, Peerakome S, Khamrin P, Tonusin S, Okitsu S, Nishio O, Takeda N, Ushijima H: Genetic diversity of norovirus and sapovirus in hospitalized infants with sporadic cases of acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand. J. Clin. Microbiol. 42: 1305-1307, 2004.

7) Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, Sato S, Fukai K, Kato T, Takahashi K, Mishiro S, Imai M, Takeda N, Ikeda H: Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. Transfusion 44: 934-940, 2004.

8) Tajiri-Utagawa. E: Small round structured viruses (SRSVs) and transmission electron microscopy (TEM). African J. Biotech. 3：8-11, 2004.

9) Shimizu H, Utama A, Onnimala N, Li C, Li-Bi Z, Yu-Jie M, Pongsuwanna Y, Miyamura T: Molecular epidemiology of enterovirus 71 infection in the Western Pacific Region. Pediatr. Int. 46: 231-235, 2004.

10) Shimizu H, Thorley B, Paladin FJ, Brussen KA, Stambos V, Yuen L, Utama A, Tano Y, Arita M, Yoshida H, Yoneyama T, Benegas A, Roesel S, Pallansch M, Kew O, Miyamura T: Circulation of type 1 vaccine-derived poliovirus in the Philippines in 2001. J. Virol. 78: 13512-13521, 2004.

11) Nagata N, Iwasaki T, Ami Y, Tano Y, Harashima A, Suzaki Y, Sato Y, Hasegawa H, Sata T, Miyamura T, Shimizu H: Differential localization of neurons susceptible to enterovirus 71 and poliovirus type 1 in the central nervous system of cynomolgus monkeys after intravenous inoculation. J. Gen. Virol. 85: 2981-2989, 2004.

12) Arita M, Shimizu H, Miyamura T: Characterization of in vitro and in vivo phenotypes of poliovirus type 1 mutants with reduced viral protein synthesis activity. J. Gen. Virol. 85: 1933-1944, 2004.

13) Kew OM, Wright PF, Agol VI, Delpeyroux F, Shimizu H, Nathanson N, Pallansch MA: Circulating vaccine-derived polioviruses: current state of knowledge. Bull. World Health Organ. 82: 16-23, 2004.

14) Nishimura Y, Shimojima M, Sato E, Izumiya Y, Tohya Y, Mikami T, Miyazawa T: Downmodulation of CD3εexpression in CD8α+β- T cells of feline immunodeficiency virus-infected cats. J. Gen. Virol. 85: 2585-2589, 2004.

15) Ichimura N, Shimojima M, Nishimura Y, Tohya Y, Akashi H: Molecular cloning and sequencing of feline CD7. J. Vet. Med. Sci. 66: 1255-1258, 2004.

16) Suzuki T, Suzuki R, Li J, Hijikata M, Matsuda M, Li TC, Matsuura Y, Mishiro S, Miyamura T: Identification of basal promoter and enhancer elements in an untranslated region of

the TT virus genome. J. Virol. 78: 10820-10824, 2004.

17) Aizaki H, Lee KJ, Sung VM, Ishiko H, Lai MM: Characterization of the hepatitis C virus RNA replication complex associated with lipid rafts. Virology 324: 450-61, 2004.

18) Gao L, Aizaki H, He JW, Lai MM: Interactions between viral nonstructural proteins and host protein hVAP-33 mediate the formation of hepatitis C virus RNA replication complex on lipid raft. J. Virol. 78: 3480-3488, 2004.

19) Matsukura T, Sugase S: Human papillomavirus genomes in squamous cell carcinomas of the uterine cervix. Virology 439-449, 2004.

20) Suzuki R, Sakamoto S, Tsutsumi T, Rikimaru A, Tanaka K, Shimoike T, Moriishi K, Iwasaki T, Mizumoto K, Matsuura Y, Miyamura T, Suzuki T: Molecular determinants for subcellular localization of hepatitis C virus core protein. J. Virol. 79: 1271-1281, 2005.

21) Maloney BJ, Takeda N, Suzaki Y, Ami Y, Li TC, Miyamura T, Arntzen CJ, Mason HS: Challenges in creating a vaccine to prevent hepatitis E. Vaccine 23: 1870-1874, 2005.

22) Kamata K, Shinozaki K, Okada M, Seto Y, Natori K, Shirato-Horikoshi H, Katayama K, Takeda N, Tanaka T, Taniguchi K: Molecular cloning, expression and antigenicity of norovirus virus-like particles and detection of noroviruses in stool samples. J. Med. Virol. 76: 129-136, 2005.

23) Hansman GS, Natori K, Ushijima H, Katayama K, Takeda N: Characterization of polyclonal antibodies raised against sapovirus genogroup five virus-like particles. Arch. Virol. DOI: 10.1007/s00705-005-0506-0, 2005.

24) Hansman GS, Katayama K, Oka T, Natori K, Takeda N: Mutational study of sapovirus expression in insect cells. Virol. J. 2: 13, 2005.

25) Oka T, Katayama K, Ogawa S, Hansman GS, Kageyama T, Ushijima H, Miyamura T, Takeda N: Proteolytic processing of sapovirus ORF1 polyprotein. J. Virol. 79: 7283-7290, 2005.

26) Hansman GS, Natori K, Oka T, Ogawa S, Tanaka K, Nagata N, Ushijima H, Takeda N, Katayama K: Cross-reactivity among sapovirus recombinant capsid proteins. Arch. Virol. 150: 21-36, 2005.

27) Hansman GS, Kuramitsu M, Yoshida H, Katayama K, Takeda N, Ushijima H, Surenkhand G, Gantulga D, Kuroiwa C: Viral gastroenteritis in Mongolian infants. Emerg. Infect. Dis. 11: 180-182, 2005.

28) Bull RA, Hansman GS, Clancy LE, Tanaka MM, Rawlinson WD, White PA: Norovirus recombination in ORF1/ORF2 overlap. Emerg. Infect. Dis. 11: 1079-85, 2005.

29) Huang QS, Greening G, Baker G, Grimwood K, Hewitt J, Hulston D, van Duin L, Fitzsimons A, Garrett N, Graham D, Lennon D, Shimizu H, Miyamura T, Pallansch MA: Persistence of oral polio vaccine virus after its removal from the immunization schedule in New Zealand. Lancet 366: 394-396, 2005.

30) Arita M, Shimizu H, Nagata N, Ami Y, Suzaki Y, Sata T, Iwasaki T, Miyamura T: Temperature-sensitive mutants of enterovirus 71 show attenuation in cynomolgus monkeys. J. Gen. Virol. 86: 1391-1401, 2005.

31) Ishikawa T, Fukushima Y, Shiobara Y, Kishimoto T, Tanno S, Shoji I, Suzuki T, Matsui T, Shimada Y, Ohyama T, Nagai R, Miyamura T: Outbreak of hepatitis C virus infection in an outpatient clinic. J. Gastroenterol. Hepatol. 20: 1087-93, 2005.

32) Kuramitsu M, Kuroiwa C, Yoshida H, Miyoshi M, Okurmura J, Shimizu H, Narantuya L, Bat-Ochir D: Non-polio enterovirus isolation among families in Ulaanbaatar and Tov province, Mongolia: prevalence, intrafamilial spread, and risk factors for infection. Epidemiology and Infection Published online 12 May 2005.

33) Nilsson J, Miyazaki N, Xing L, Wu B, Hammar L, Li TC, Takeda N, Miyamura T, Cheng RH: Structure and assembly of a T=1 virus-like particle in BK polyomavirus. J. Virol. 79: 5337-5345, 2005.

34) Someya Y, Takeda N, Miyamura T: Characterization of the norovirus 3C-like protease. Virus Res. 110: 91-97, 2005.

35) Tanaka E, Matsumoto A, Takeda N, Li TC, Umemura T, Yoshizawa K, Miyakawa Y, Miyamura T, Kiyosawa K: Age-specific antibody to hepatitis E virus has remained constant during the past 20 years in Japan. J. Viral. Hepat. 12:439-442, 2005.

36) Arita M, Zhu SL, Yoshida H, Yoneyama T, Miyamura T,

Shimizu H: A Sabin 3-derived poliovirus recombinant contained a sequence homologous with indigenous human enterovirus species C in viral polymerase coding region. J. Virol. (in press).

37) Yang CF, Chen HY, Jorba J, Sun HC, Yang SJ, Lee HC, Huang YC, Lin TY, Chen PJ, Shimizu H, Nishimura Y, Utama A, Pallansch M, Miyamura T, Kew Oand Yang JY: Intratypic recombination among lineages of type 1 vaccine-derived poliovirus emerging during chronic infection of an immunodeficient patient. J. Virol. (in press).

38) Oka T, Katayama K, Ogawa S, Hansman GS, Kageyama K, Miyamura T, Takeda N: Cleavage activity of the Sapovirus 3C-like protease in *Escherichia coli*. Arch. Virol. (in press).

39) Li T-C, Takeda N, Miyamura T, Xing L, Wang J, Engvall H, Hammar L, Cheng RH: Essential elements of the capsid protein for self-assembly into empty virus-like particles of hepatitis E virus. J.Virol. (in press).

40) Hamamoto I, Nishimura Y, Okamoto T, Aizaki H, Liu M, Mori Y, Abe Y, Suzuki T, Lai M.M.C, Miyamura T, Moriishi K, Matsuura Y: Human VAP-B is involved in hepatitis C virus replication through interaction with NS5A and NS5B. J.Virol. (in press).

41) Oka T, Hansman G.S, Katayama K, Ogawa S, Nagata N, Miyamura T, Takeda N: Expression of sapovirus virus-like particles in mammalian cells. Arch. Virol. (in press).

42) Nakamura K, Someya Y, Kumasaka T, Ueno G, Yamamoto M, Sato T, Takeda N., Miyamura T, Tanaka N: A norovirus protease structure provides insights into active/substrate-binding site integrity. J. Virol. (in press).

43) Li T-C, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Shinohara Y, Kurata Y, Ishida M, Sakamoto S, Takeda N. Miyamura T: Transmission of hepatitis E virus from wild boar meat to a human. Emerging Inf. Dis. (in press).

44) Polyak SJ, Klein Kevin C, Shoji I, Miyamura T, Lingappa JR: Assemble and interact: pleiotropic Functions of the HCV core protein hepatitis C viruses. in Genomes and Molecular Biology. (Seng-Lai Tan ed.) Horizon Scientific Press, Norwich, UK, (in press).

2. 和文発表

1）三好龍也，李　天成，武田直和，宮村達男，田中智之：野生イノシシから E 型肝炎ウイルス遺伝子の検出．肝臓．45：509-510，2004．

2）李　天成，武田直和：E 型肝炎について．モダンメディア．50：78-85，2004．

3）勝二郁夫：Ｃ型肝炎．からだの科学「増刊」新興再興感染症-SARS の教訓．58-60，日本評論社，2004．

4）李　天成，武田直和，宮村達男：E 型肝炎．からだの科学「増刊」新興再興感染症．日本評論社，61-66，2004．

5）李　天成，武田直和，宮村達男：E 型肝炎ワクチン．ウイルス性肝炎（下）．日本臨床社，548-553，2004．

6）李　天成，貞升健志，岡田峰幸，田中智之，近平雅嗣，左近直美，榮　賢司，山下照夫，武田直和：E 型肝炎検査マニュアル．2004．

7）武田直和，李　天成，宮村達男：HEV 粒子の構造．ウイルス性肝炎（下）．日本臨床社，501-503，2004．

8）武田直和，李　天成，宮村達男：HEV 抗体の検出法．ウイルス性肝炎（下）．日本臨床社，542-545，2004．

9）武田直和，甲木和子，清水博之：AHC 検査マニュアル．2004．

10）武田直和，下池貴志：肝炎ウイルス．厚生労働省(ed)：食品衛生検査指針，社団法人日本食品衛生協会，475-480，2004．

11）武田直和：ウイルス性胃腸炎．獣医公衆衛生学 第 3 版．184-185，2004．

12）武田直和：ノロウイルス感染症．感染症の事典 191-193，2004．

13）武田直和：急性出血性結膜炎．感染症の事典 60-61，2004．

14）武田直和：E 型肝炎．感染症の事典 57-59，2004．

15）武田直和：E 型肝炎．共通感染症ハンドブック 84，2004．

16）武田直和：E 型肝炎．倉田毅（ed）：家庭医学大全科，法研，2004．

17）武田直和：ウイルス総論．厚生労働省（ed）：食品衛生検査指針 社団法人日本食品衛生協会，448-449，2004．

18）清水博之，武田直和，宮村達男：不活化ポリオワクチン，綜合臨床 53：1860-1865，2004．

19) 清水博之: 東アジア地域で分離されるエンテロウイルス 71 型の分子疫学. 病原微生物検出情報 25: 228-229, 2004.
20) 清水博之, 武田直和, 宮村達男: ポリオワクチン, 小児科診療 67: 1843-1850, 2004.
21) 清水博之: 急性灰白髄炎とポリオ様疾患「最新版 家庭医学大全科」(株) 法研, p2632-2633, 2004.
22) 清水博之, 武田直和: ポリオ「ネオエスカ 感染症・アレルギーと生体防御」同文書院, p14-17, 2004.
23) 高尾信一, 下薗広行, 柏 弘, 松原啓太, 坂野 堯, 池田政憲, 岡本尚子, 吉田 弘, 島津幸枝, 福田伸治: 本邦において初めて流行が確認された小児の human metapneumovirus 感染症の臨床的, 疫学的解析. 感染症学雑誌 78(2): 129-37, 2004.
24) 藤本嗣人, 近平正嗣, 吉田真策, 宗村徹也, 岡藤輝夫, 岡藤隆夫, 吉田 弘, 西尾 治, コクサッキーウイルス A 群 6 型によると考えられた脳炎ケースの臨床及び分子疫学的検討. 臨床とウイルス 33(3): 141-145, 2005.
25) 宮村達男. B型肝炎. Progress in Medicine, ライフ・サイエンス, 25: 265-266, 2005.
26) 米山徹夫, 清原知子, 下池貴志: A 型肝炎―我が国の最近の発生動向を中心に―. 臨床とウイルス. 32(3): 149-155, 2004.
27) 鈴木哲朗. C 型肝炎ウイルスと肝発癌. 臨床とウイルス 32(3): 156-162, 2004.
28) 鈴木亮介, 鈴木哲朗. Non A-E: TTV のウイルス学, 今までにわかったこと, 病因的意義. 臨床とウイルス 32(3): 179-183, 2004.
29) 李 天成, 武田直和, 宮村達男: E 型肝炎の最近の診断法, 感染方式―E 型肝炎は人畜共通感染症か.臨床とウイルス. 32(3): 170-178, 2004.
30) 片山和彦. カリシウイルスの命名法. 臨床とウイルス 32(5): 380-387, 2004.
31) 村上恭子, 鈴木哲朗. HCV の新たな感染系及び HCV-RNA 複製系の開発動向. 日本臨床 62: 111-115, 2004.
32) 相崎英樹, 鈴木哲朗. HCV-RNA 複製および HCV 増殖の分子メカニズム. 日本臨床 62: 81-84, 2004.
33) 鈴木哲朗, 松浦善治. HCV 感染レセプター. 肝疾患 Review 2004 117-120, 2004.
34) 戸塚敦子, 下池貴志, 米山徹夫: A 型肝炎ワクチン. 小児科診療, 67(11): 1955-1960, 2004.
35) 下池貴志, 戸塚敦子: B 型肝炎ワクチン. ワクチンの辞典・日本ワクチン学会編, 朝倉書店 pp 156-161, 2004.
36) 戸塚敦子, 下池貴志: A 型肝炎ワクチン. ワクチンの辞典・日本ワクチン学会編, 朝倉書店 pp 162-167, 2004.
37) 戸塚敦子: A 型肝炎. 感染症の辞典・国立感染症研究所学友会編, 朝倉書店 pp51-52, 2004.
38) 片山和彦: ノロウイルス感染症. Medical Practice 22: 863-865, 2005.
39) 白土(堀越)東子: ノロウイルスによる感染性胃腸炎の集団発生. 生活と環境, (財)日本環境衛生センター, 50: 8-13, 2005.
40) 白土(堀越)東子, 岡智一郎, 片山和彦, 武田直和: ノロウイルス研究の最近の動向. 感染・炎症・免疫 Vol 35, No.2, 2005.
41) 清水博之: ポリオウイルス感染症の実験室診断. 日本臨床 63, Suppl 7: 377-381, 2005.
42) 清水博之: 非ポリオエンテロウイルス感染症の実験室診断. 日本臨床 63, Suppl 7: 382-385, 2005.
43) 清水博之, 武田直和: 急性出血性結膜炎の実験室診断. 日本臨床 63, Suppl 7: 386-388, 2005.
44) 清水博之: エンテロウイルス 71 感染症の実験室診断. 日本臨床 63, Suppl 7: 389-392, 2005.
45) 清水博之, 吉田 弘, 宮村達男 (訳): 野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する WHO 世界的行動計画. ウイルス 55: 161-178, 2005.
46) 米山徹夫: A 型肝炎. Progress in Medicine: ライフ・サイエンス, 25: 1197-1199, 2005.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Murakami K, Ishii K, Yoshizaki S, Aizaki H, Tanaka K, Shoji I, Sata T, Suzuki T, Bartenschlager R, Miyamura T. Assembly of HCV-like particles in three-dimensional cultures. 11th International Symposium on Hepatitis C & Related Viruses, Heidelberg, Germany, October 3-7, 2004.

2) Moriishi K, Mochizuki R, Abe T, Mori Y, Moriya K, Koike K, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y. PA28gamma-dependent degradation of HCV core protein in the nucleus in vivo. ibid.

3) Sakamoto S, Shiroki K, Suzuki R, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T. HCV capsid assembly: role of basic residue clusters in the core protein. ibid.

4) Fukasawa M, Sato S, Yamakawa Y, Natsume T, Suzuki T, Shoji I, Aizaki H, Miyamura T, Nishijima M. Proteomic profiling of lipid droplet proteins in HCV core-expressing hepatoma cell lines. ibid.

5) Okamoto T, Kimura-Someya T, Moriishi K, Watanabe R, Ishii K, Nunberg JH, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y. Polytopic topology of HCV E1 glycoprotein on the endoplasmic reticulum. ibid.

6) Shirakura M, Shoji I, Ichimura T, Suzuki R, Suzuki T, Sugiyama Y, Shimoji T, Murakami K, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, Miyamura T. Proteomic analysis of hepatitis C virus core- interacting proteins using a novel tandem affinity purification tag and mass spectrometry. ibid.

7) Takeda N. Risk factors of hepatitis E viruses. Symposium on Hepatitis E Virus, New Delhi, India, Feb 18, 19, 2005.

8) Miyamura T. Characterization of self-assembled virus-like particles of genotype III and IV hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. ibid.

9) 宮村達男. Current situation of Polio and polio vaccination in Japan. 21 世紀初頭における予防接種. 2nd International Workshop on Vaccinology. July 2, 2005.

10) Hansman GS, Natori K, Oka T, Takeda N, Katayama K: Cross-reactivity among sapovirus recombinant capsid proteins. In 2nd International calicivirus conference. Dijon, France, Nov, 2004.

11) Tanaka T, Kitamoto N, Kamata K, Miyoshi T, Uchino K, Oseto M, Sakae S, Kobayashi S, Natori K, H. Y, Jiang X, Gaham DY, Estes MK, Takeda N: Diagnostic kit for norovirus infection. ibid.

12) Oka T, Katayama K, Ogawa S, Hansman GS, Kageyama T, Miyamura T, Takeda N: IIn vitro proteolytic processing and identification of the cleavage site of sapovirus ORF1. ibid.

13) Katayama K, Oka T, Ogawa S, Shirato H, Miyamura T, Takeda N: Study on norovirus replication in vitro. ibid.

14) Katayama K, Oka T, Ogawa S, Shirato H, Miyamura T, Takeda N: Analysis of norovirus replication using full-length genome. In Seventh International Symposium on Positive-Strand RNA Viruses. San Francisco, May, 2004.

15) Li T-C, Nagata N, Tanaka K, Ochiai S, Isiko H, Takeda N, Miyamura T: Characterization of self-assembled virus-like particles of genotype IV hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. ibid.

16) Hansman GS, Katayama K, Oka T, Natori K, Ogawa S, Ushijima H, Takeda N: Expression of human Sapovirus virus-like particles. ibid.

17) Oka T, Katayama K, Ogawa S, Hansman GS, Ushijima H, Miyamura T, Takeda N: In vitro proteolytic processing of the sapovirus ORF1 polyprotein. ibid.

18) Xing L, Wang J, Li T-C, Takeda N, Miyamura T, Anderson D, Purcell R, Cheng H: Role of ORF2 C-terminal region in assembly of HEV virus-like particle. ibid.

19) Takeda N, Suzaki Y, Ami Y, Li T-C, Mason HS, Arntzen CJ, Miyamura T: Challenges in creating a vaccine to prevent hepatitis E. In Plant-derived Vaccines and Antibodies: Pptential and Limitations. Veyrier du Lac, France, March 21-24, 2004.

20) Li T-C, Nagata N, Tanaka K, Ochiai S, Ishiko H, Takeda N, Miyamura T: Characterization of self-assembled virus-like particles of genotype IV hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. 第 5 回日中ウイルス学会. 大阪, June 10-11, 2004.

21) Tanaka T, Kitamoto N, Kamata K, Miyoshi T, Iwagami Y, Oseto M, Sakae K, Uchino K, Yoshida H, Jiang X, Estes MK, Natori K, Takeda N: Development of norovirus diagnostic assay system. ibid.

22) Li T-C, Takeda N, Miyamura T: Characterization of self-assembled virus-like particles of genotype III and IV hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. In 40th Anniversary US-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto, Japan, Dec, 2004.

23) Tanaka T, Kitamoto N, Ito K, Kamata K, Miyoshi T, Uchino K, Oseto M, Sakae K, Kobayashi S, Natori K,

Yoshida H, Jiang X, Gaham DY, Parker T, Estes MK, Takeda N: Development of immunochromato kit for rapid diagnosis of norovirus infection. ibid.

24) Li T-C, Takeda N, Miyamura T: Characterization of self-assembled virus-like particles of genotype 3 and 4 hepatitis E viruses generated by recombinant baculoviruses. In Fuji Forum. Aug 10-11, 2004.

25) Shimizu H, Thao NTT, Tu PV, Binh NT, Thanh NTH: Circulation of enterovirus 71 in the western pacific region JSPS workshop on infectious diseases in Vietnam, Nagasaki, Nov. 2004.

26) Arita M, Zhu SL, Yoshida H, Yoneyama H, Miyamura T, Shimizu H: A type 3 poliovirus recombinant contains a sequence highly homologous with indigenous human enterovirus species C in viral polymerase coding region. EUROPIC 2005 XIIIth Meeting, Lunteren, Netherlands, May 23-29, 2005.

27) Shimizu H, Utama A, Nishimura Y, Miyamura T: Construction and characterization of chimeric polioviruses between a type 1 vaccine-derived poliovirus and species C enteroviruses. ibid.

28) Shimizu H: Surveillance, epidemiology and laboratory diagnosis for enterovirus infections. Emerging and Re-emerging Infectious Disease Symposium, Taipei, June, 2005.

29) Shimizu H: Vaccine-derived polioviruses - current understanding and the implication for laboratory diagnosis. Seminar on Eradication of Vaccine Preventable Diseases (II), Kumamoto, July, 2005.

2. 国内学会

1) 米山徹夫: A 型肝炎. 第３回トラベラーズワクチンフォーラム,東京, 2004 年６月.

2) 清原知子, 下池貴志, 米山徹夫, 宮村達男: 参照 B 型肝炎ワクチンを用いた in vitro 試験法の基礎的検討. 第 8 回日本ワクチン学会・学術集会, 札幌市, 2004 年 10 月 9, 10 日.

3) 永田典代, 岩崎琢也, 清水博之, 原嶋綾子, 波多野いく持, 吉河智城, 佐多徹太郎, 野本明男, 倉田　毅: ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス（TgPVR21）を用いたポリオウイルス経粘膜免疫実験モデルの確立. 同上.

4) 石井孝司, 町田早苗, 鈴木亮介, 吉崎佐矢香, 森川茂, 水谷哲也, 田口文広, 田代真人, 横田恭子, 高須賀直美, 大西和夫, 鈴木哲朗, 宮村達男: 高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の組換え生ワクチンとしての応用. 同上.

5) 名取克郎: ノロウイルス, サポウイルス中空粒子の発現とその利用. 第 16 回ウイルス性下痢症研究会, 東京, 2004 年 11 月 20 日.

6) 岡 智 一 郎 : 7th International Symposium on positive-strand RNA viruses の報告. 同上.

7) 片山和彦: カリシウイルスのデータベース構想. 同上.

8) 片山和彦, 岡智一郎, 白土東子, 松原尚子, 影山　努, 小川智子, 宮村達男, 武田直和: ノロウイルス全長 cDNA クローンを用いた複製機構の解析. 第 52 回日本ウイルス学会, 横浜, 2004 年 11 月 21-23 日.

9) 白土（堀越）東子, 名取克郎, 小川智子, Hansman Grant, 鎌田公仁夫, 影山　努, 片山和彦, 宮村達男, 武田直和: カリシウイルスと血液型物質との結合の解析. 同上.

10) 岡智一郎, 小川智子, Hansman Grant, 影山　努, 片山和彦, 宮村達男, 武田直和: サポウイルス ORF1 のプロセッシング産物の同定と切断地図の作製. 同上.

11) 影山　努, 小嶋滋之, 李　天成, 片山和彦, 武田直和: 蛍光プローブを用いた HEV の高感度検出法および遺伝子型識別法の開発. 同上.

12) 内野清子, 三好龍也, 田中智之, 片山和彦, 武田直和: ノロウイルス遺伝子型別の解析からみたウイルス浸淫状況の把握. 同上.

13) 松原尚子, Hansman Grant, 名取克郎, 岡智一郎, 普後　一, 濱野國勝, 宮村達男, 武田直和, 片山和彦: サポウイルス粒子形成機構の解析. 同上.

14) Hansman Grant, 名取克郎, 岡智一郎, 小川智子, 牛島廣治, 武田直和, 片山和彦: Cross-reactivity among sapovirus recombinant capsid proteins. 同上.

15) 伊藤　雅, 三好龍也, 田中智之, 山下照夫, 小林慎一, 藤浦　明, 李　天成, 武田直和, 宮村達男, 榮　賢司: 野生動物の E 型肝炎ウイルス（HEV) および HEV

抗体保有状況. 同上.

16) 高村史記, 新倉昌浩, 横田恭子, 李　天成, 武田直和, 宮村達男, 保富康宏: DNA ワクチン封入キメラ VLP 経口投与による粘膜誘導ワクチンの試み. 同上.

17) 李　天成, 恒光　裕, 永田典代, 宮村達男, 武田直和: 3型 HEV 構造蛋白の発現と抗原性の解析. 同上.

18) 清水博之, Chen Li, Andi Utama, 有田峰太郎, 宮村達男: カンボジアで分離された新たな A 群エンテロウイルスの遺伝子解析. 同上.

19) 有田峰太郎, 清水博之, 永田典与, 網　康至, 須崎百合子, 佐多徹太郎, 岩崎琢也, 宮村達男. エンテロウイルス 71 温度感受性変異株の神経毒性に関する解析. 同上.

20) 村上恭子, 石井孝司, 吉崎佐矢香, 相崎英樹, 田中恵子, 勝二郁夫, 佐多徹太郎, 鈴木哲朗, 宮村達男: 三次元肝細胞培養システムによる C 型肝炎ウイルス（HCV）粒子形成. 同上.

21) 白倉雅之, 勝二郁夫, 市村　徹, 鈴木亮介, 鈴木哲朗, 椙山裕一, 下地　徹, 村上恭子, 佐藤滋子, 深澤征義, 山河芳夫, 西島正弘, 宮村達男: MEF tag 精製-プロテオーム解析による C 型肝炎ウイルス Core 蛋白新規結合因子の同定. 同上.

22) 石井孝司, 横田恭子, 竹森利忠, 長谷川秀樹, 水谷哲也, 森川　茂, 田口文広, 田代眞人, 吉崎佐矢香, 鈴木哲朗, 宮村達男: 高度弱毒化ワクチニアウイルス株（感染研）DIs の SARS 生ワクチンとしての応用. 同上.

23) 町田早苗, 松井政則, 石井孝司, 鈴木亮介, 鈴木哲朗, 宮村達男, 赤塚俊隆: HCV envelope E1(signal peptide)-E2 をコードする DNA を用いた HCV E2 特異的 CTL の誘導. 同上.

24) 鈴木亮介, 坂本真一郎, 下池貴志, 森石恆司, 松浦善治, 宮村達男, 鈴木哲朗: C 型肝炎ウイルスコア蛋白質の小胞体, ミトコンドリア, 核への局在を規定するシグナルの解析. 同上.

25) 森石恆司, 中村理加, 宮本大伸, 鈴木哲朗, 森屋恭爾, 小池和彦, 宮村達男, 松浦善治: HCV コア蛋白質の局在および病原性発現における PA28γの役割. 同上.

26) 林　昌宏, 菰田泰正, 鈴木健介, 谷　英樹, 大椿朋子, 松尾栄子, 津田祥美, 森石恆司, 宮村達男, 松浦善治: HCV 感染におけるヒト繊維芽細胞成長因子受容体の役割. 同上.

27) 飯島沙幸, 石井孝司, 李　永仲, 岩田奈織子, 八木慎太郎, 山口健次郎, 槙　昇, 吉崎佐矢香, 町田早苗, 木村展之, 鈴木哲朗, 佐多徹太郎, 宮村達男, 明里宏文: C 型肝炎のサル病態モデル開発. 同上.

28) 米山徹夫, 下池貴志, 清原知子, 戸塚敦子, 宮村達男: 合成 siRNA による HAV の増殖抑制. 同上.

29) 勝二郁夫, 白倉雅之, 市村　徹, 鈴木亮介, 鈴木哲朗, 椙山裕一, 下地　徹, 村上恭子, 佐藤慈子, 深澤征義, 山河芳夫, 西島正弘, 宮村達男: MEF タグ精製-プロテオーム解析による C 型肝炎ウイルス Core 蛋白新規結合因子の同定. 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸市, 2004 年 12 月 8-11 日.

30) 下地　徹, 勝二郁夫, 椙山裕一, 松田麻未, 宮村達男: HPV16E6 蛋白質と結合する宿主蛋白質 E6AP の機能調節機構の解析. 同上.

31) 武田直和, 李　天成, 宮村達男. VLP 作製と E 型肝炎研究. 第 15 回感染研シンポジウム, 東京, ?.

32) 白土（堀越）東子, 小川智子, 鎌田公仁夫, 影山　努, 片山和彦, 宮村達男, 武田直和: ノロウイルスの最近の動向. 衛生微生物技術協議会第 26 回研究会, 福井市, 2004 年 7 月 8 日.

33) 宮村達男: 教育講演 "ポリオ根絶への途". 同上.

34) 武田直和: 平成 17 年度第 1 回食品衛生監視委員等研修会, 宇都宮市, 2004 年 7 月 22 日.

35) 武田直和: 食習慣の落とし穴：わが国の E 型肝炎とリスクファクター. 第 23 回和歌山県感染症化学療法研究会. 和歌山, 2004 年 4 月 17 日.

36) 玉田陽子, 弘 八, 矢野公士, 福田実可, 学 大, 矢野右人, 石橋大海, 李　天成, 宮村達男, 武田直和: E 型肝炎診断の問題点：HEV 抗体の感度と特異性に関する検討. 第 40 回日本肝臓学会総会. 東京, 2004 年 6 月 3, 4 日.

37) 武田直和: わが国における E 型肝炎.第 45 回日本臨床ウイルス学会. 大阪, 2004 年 6 月 12, 13 日.

38) 李　天成, 武田直和, 宮村達男: HEV 感染の現状と検査法. I 衛生微生物技術協議会第 25 回研究会. さいたま市, 2004 年 7 月 8-9 日.

39) 片山和彦, グラント・ハンスマン, 岡智一郎, 牛島廣治, 三好龍也, 田中智之, 宮村達男, 武田直和:

Sapovirus ゲノムの解析. 同上.
40) 清水博之, アンディ・ウタマ, 有田峰太郎, 宮村達男: エンテロウイルスの分子進化とゲノム遺伝子組換え. 同上.
41) 有田峰太郎, 祝　双利, 清水博之, 宮村達男: C 群エンテロウイルスの分子疫学. 同上.
42) 武田直和: わが国における E 型肝炎. 第２３回北陸実験動物研究会, 富山, 2004 年 10 月 2 日.
43) 武田直和: 話題の小型球形ウイルス. 第 9 回浜松新興再興感染症講演会, 浜松, 2004 年 11 月 26 日.
44) 白土(堀越)東子, 名取克郎, 小川智子, 鎌田公仁夫, 影山　努, 片山和彦, 宮村達男, 武田直和: カリシウイルスと血液型物質との結合の解析. 第 27 回日本分子生物学会年会. 神戸市, 2004 年 12 月 8-11 日.
45) 武田直和: ウイルス性食中毒の予防_ノロウイルスや肝炎ウイルス. 平成 16 年度厚生労働科学研究（食品の安全性高度化推進研究推進事業）シンポジウム「食の安全と科学」, 東京, 2005 年 1 月 25 日.
46) 武田直和: わが国における E 型肝炎. 第 139 回獣医学会公衆衛生学分科会シンポジウム, 新潟, 2005 年 2 月 11 日.
47) 武田直和: わが国における E 型肝炎. 平成 16 年度希少感染症診断技術研修会. 東京, 2005 年 2 月 22 日.
48) 米山徹夫: A型肝炎ウイルス. 第139回日本獣医学会, 東京, 2005 年 3 月.
49) 吉田　弘: ポリオ根絶計画と環境ウイルスサーベイランス, 第 8 回マリンバイオテクノロジー学会, 熊本市, 2005 年 5 月 28, 29 日.
50) 岩井雅恵, 松浦久美子, 永井美之, 吉田　弘: 2002－2003 年富山県内河川水から分離されたエコーウイルス 13 型について. 第 46 回日本臨床ウイルス学会, 福岡市, 2005 年 6 月 4 日.
51) 清水博之: ポリオ根絶をめざして. 第 6 回感染症フォーラム「感染症の制御戦略」, 大阪市, 2005 年 2 月.
52) 清水博之: ポリオ根絶の進展とポリオウイルスの実験室封じ込め. 平成 16 年度希少感染症診断技術研修会. 東京, 2005 年 2 月.
53) 清水博之, 宮村達男: ワクチン由来ポリオウイルスによるポリオ流行. 第 79 回日本感染症学会, 名古屋市, 2005 年 4 月.
54) 宮村達男, 清水博之: ポリオ根絶計画の進展とポリオワクチン戦略. 同上.
55) 佐藤慈子, 深澤征義, 山河芳夫, 夏目　徹, 鈴木哲朗, 勝二郁夫, 相崎英樹, 鈴木亮介, 宮村達男, 西島正弘: プロテオミクスの手法を用いた C 型肝炎ウイルスの病原性に関与する宿主因子の探索. 第 125 年会日本薬学会, 東京, 2005 年 3 月 29 日-31 日.

3.ウイルス第三部

部長　田代眞人

概　要

当部は村山分室に配置され、第１室（インフルエンザウイルス)、第２室（風疹ウイルス)、第３室（麻疹ウイルス)、第４室（ムンプスウイルス)、第５室（ウイルス性呼吸器感染症とサイトカイン）で構成される。研究業務は、各ワクチン製剤とサイトカイン製剤の品質管理、および当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法に関する研究、レファランス業務および国際協力である。

人事異動では、4 月 1 日に田口文広主任研究官が第 5 室長に昇任し、野田雅博が主任研究官に採用された。12 月 1 日に沼崎啓が第 3 室長に、2 月 28 日に氏家誠が第 5 室研究員に各々採用された。一方、3 月 31 日付けで斉藤早久良主任研究官と関谷成則技官が定年退職し、齋藤義弘主任研究官が辞職した。

業務では、インフルエンザ、風しん、麻しん、おたふくかぜの各ワクチンおよびγ-グロブリン製剤に関する国家検定、検査、特別審査、研究業務を担当した。インターフェロン製剤の収去検査と各感染症の体外診断薬依頼検査も行った。また、各種標準品・参照品を製造して配布した。GMP や WHO 新基準に準拠した品質管理体制の構築と内部諸規定の整備など、国際的に通用する近代的な品質管理体制への転換を図った。第３室はユニセフ買い上げ用麻疹ワクチンの品質管理に関してＷＨＯの定期査察を受け、高い評価を得た。

研究業務では、インフルエンザ流行動向調査事業、感染症流行予測事業、ウイルス株系統保存事業を進め、全国地衛研と協力して流行ウイルスの解析と流行予測を行い、国内のワクチン株を選定した。新型インフルエンザ対策として､ワクチン緊急開発体制､抗ウイルス剤備蓄、健康危機管理のあり方等を検討して提言した。また WHO 麻疹拡大予防接種計画に応じて、麻疹の免疫抑制機構、ワクチンの安全性と有効性、成人麻疹の実態と原因、2 次性ワクチン効果不全の鑑別と実態解明、国及び WHO ワクチン政策見直し提言、IgM 抗体簡易診断法の実用化、麻疹ウイルス分離用細胞の開発、麻疹ウイルスの分子疫学等の研究を進めた。風疹ウイルスでは、分子疫学および血清診断法の標準化、風疹ウイルス病原性機序、ワクチン政策の再検討の研究を行った。ムンプスウイルスでは、分子疫学、分子病態・病原性機構の研究、ワクチン全般については細胞や牛血清由来に由来するウイルスの検出方法の改良、動物由来の材料等を使用しない新ワクチンの開発を行った。またインターフェロン感受性・抵抗性の解析、二重鎖 RNA 依存性蛋白リン酸化酵素の研究を進めた。またリバース・ジェネティクスを駆使したセンダイウイルスの研究によりウイルス病原性の分子機構の解析を進めた。

国際協力では、WHO インフルエンザ協力センターとして各国から送付された多数のウイルス株を解析し、WHO インフルエンザワクチン推奨株を決定した。WHO 世界インフルエンザ計画に参画し、地球レベルでの監視体制、大流行対応計画の策定および、WHO 総会での採択を図った。また、中国や東南アジアでのインフルエンザ計画を支援し、多数の技術講習会や研修員の教育を行った。東南アジア諸国での H5N1 型高病原性鳥インフルエンザの流行に際しては､国内外のヒト検体の感染診断、分子疫学の解明、迅速簡易診断キットの開発、新型インフルエンザワクチン緊急開発を行った。また、WHO や JICA の要請に応じてアジア諸国に対して職員を派遣し、緊急技術支援、対策への助言・提言を行った。麻疹、風疹に関しては､WHO 西太平洋地域レファランス検査室、WHO 世界特別検査室に指定され、WHO 麻疹・風疹拡大予防接種計画の策定・実施に協力し、標準検査法の開発・普及を行った。

業　績

調査・研究

Ⅰ.インフルエンザウイルスに関する研究

1.　高病原性鳥インフルエンザウイルスの流行におけ

る実験室診断と国際協力

2003 年末から東アジアを中心に高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 が家禽の間で大流行し、１億羽以上の家禽が斃死または殺処分されている。ベトナム、タイ、カンボジアではヒトへも感染し 50 名近い死者を出すまでに至り、これに起因した新型インフルエンザウイルスの出現とそれによる世界的な汎流行が危惧されている。当室では、WHO インフルエンザ協力センターとして、ベトナム、カンボジアなどから H5 ウイルス感染が疑われる患者の検体を受け入れ､培養細胞によるウイルス分離、RT-PCR 法および RT-LAMP 法によるウイルス遺伝子検出などの病原学的診断を行った。これら診断結果は検体送付国と WHO に逐一報告され、当該国での新型インフルエンザ対策に役立てられた。一方、臨床検体から分離された高病原性鳥インフルエンザウイルスについては、詳細な抗原解析と遺伝子解析が行われた。また、WHO-H5 ネットワークから随時海外分離株を入手し、同様に解析を行った。これら解析情報は随時 WHO-H5 ネットワーク間で交換され、ネットワーク参加国のワクチン開発のための資料として活用された。[今井正樹、二宮愛、小渕正次、板村繁之、西藤岳彦、斉藤利憲、小田切孝人、田代眞人]

2. 本邦における家禽での高病原性鳥インフルエンザ（H5N1）発生に伴う防疫作業従事者の血清疫学調査

平成 16 年２月末に国内で今年３例目となる高病原性鳥インフルエンザ（H5N1）が京都府で発生し 25 万羽の鶏が処分された。その殺処分等の防疫作業に従事した作業者の感染リスクを評価するために作業従事者や作業非従事者の血清について中和抗体価を測定して調査した。その結果、対照検体の作業非従事者 33 名の血清はすべて検出限界未満（中和抗体価 10 未満）となったため、中和抗体価 10 以上を陽性と判定した。作業従事者血清 58 検体中５検体が陽性と判定された。その内４名は養鶏場従事者で充分な防御対策がなされる前から感染鶏に接触しており、その間に感染した可能性が高いと推測された。しかしながら抗体陽性となった５名はいずれも発熱等の全身症状は無く、発症はしていなかったと考えられた。他の防疫従事者に比較して養鶏場従事者の陽性率が高かったことから、個人防護具の使用など感染防御対策および抗インフルエンザ薬予防内服による発症阻止策が有効であったと考えられる。 [板村繁之、砂川富正*、上野正浩*、増田和貴*、谷口清洲*、岡部信彦*、藤田直久**、京都府保健福祉部、小田切孝人、田代眞人：*感染症情報センター、**京都府立医大]

3. インフルエンザワクチン株製造のための海外 GMP 施設の視察調査

新型インフルエンザワクチン株、特に H5、H7 亜型の高病原性ウイルスはリバースジェネティクス法を用いて弱毒化することによって作製することを想定している。しかしながら、現在国内にワクチン株を作製する GMP 対応の設備が無いため、当研究所村山庁舎に平成 19 年度完成を目指してワクチン株製造施設の建設が進められている。そこで、新型インフルエンザワクチン製造株の作製に係わる品質管理方法と必要設備の規格等についての情報を収集するために、新型インフルエンザのワクチン株を製造している海外研究施設である米国セントジュード小児研究病院と英国 NIBSC の２ヶ所と新型インフルエンザワクチンの試験製造を実施したオーストリアのバクスターワクチン社の製造所を視察調査した。ワクチン株製造については現状では厳格に GMP 管理下で実施するものと一定の品質管理方法を導入して実施している２つの形態が存在している。新型インフルエンザワクチン製造株を作製する GMP 対応の施設としては BSL3 の製造ルームが清浄度管理のなされた環境下にあれば適切であると考えられる。GMP 対応には施設・建物などのハード面よりもソフト面での負担が大きく、どちらの方式を適正と考えるかは経費面とその品質確保に及ぼす影響を勘案して選択する必要がある。新型インフルエンザワクチン開発や製造に係わる品質管理方法、検定基準等については関係機関と協力して国際的にも整合性を維持しながら進めていく必要がある。[板村繁之、篠原克明*、白山裕久**：*バイオセーフティ管理室、**厚労省血液対策課]

4. 新型インフルエンザに対するアジュバント添加ワクチンの開発

現在認可されている製造方法に従って製造されたワクチンは新型インフルエンザ特に H5 亜型ウイルスに対し

て極めて低い免疫原性であることが臨床試験で明らかになってきた。そこでより免疫原性の高いワクチンの開発を短期間に行うために、現在アジュバントとして認可されているアラムを添加したワクチン開発を進めている。本年度は、アラム添加ワクチンのモックアップワクチンとして使用するワクチン株 NIBRG-14(H5N1)を英国 NIBSC より入手して製造株のマスターシードを GMP 製造施設で作製し、その抗原性や遺伝子の塩基配列について解析を実施した。得られたマスターシードは、作製されたワクチン株の性状を保持していることを確認し、それを製造株として試作ワクチンの製造を行った。また、試作ワクチンの力価試験に必要な一元放射拡散試験用の標準抗原、参照抗血清の作製も同時に行った。［板村繁之、金子睦子、今井正樹、小渕正次、細菌製剤協会、小田切孝人、田代眞人］

5. 新型インフルエンザワクチン株の開発

高病原性鳥インフルエンザウイルスの流行に備えるために、リバースジェネティクス（RG）法を用いてワクチン株を作製し、その安全性を検証した。A/PR/8/34 株の cDNA をバックボーンとする RG 系を用いて、2004 年にベトナムでヒトから分離された A/Vietnam/JP1203/2004（H5N1）株と京都でニワトリから分離された A/chiken/Kyoto/3/2004（H5N1）株を弱毒化した。これら弱毒化組み換えウイルスの病原性を調べるために、ニワトリ及びマウスへの接種試験を行った。その結果、組み換えウイルスはニワトリとマウスに対して病原性を示さず、十分に弱毒化されていることが確認できた。［二宮愛、今井正樹、喜田宏*、小田切孝人、田代眞人： *北海道大学大学院］

6. 新型インフルエンザワクチンの製造に用いる細胞株の検索

インフルエンザワクチン製造用の種ウイルスをリバースジェネティクス(RG)技術で作製するためには、ウイルス遺伝子をコードするプラスミド DNA を細胞にトランスフェクションすることが必要である。トランスフェクションに感受性を示す細胞株を検索することを目的として、American Type Culture Collection から様々なサル由来細胞株（CV-1 細胞、BS-C-1 細胞、LLC-MK2 細胞、Vero 細胞）を購入し、これらが RG 技術に利用できるかどうかを検討した。その結果、プラスミド DNA の取り込み効率は LLC-MK2 細胞が最も高いことがわかった。さらに、この細胞を用いて、高病原性鳥インフルエンザウイルスの回収を行ったところ、非常に高いウイルス産生が得られることがわかった。［今井正樹、田代眞人、小田切孝人］

7. B 型インフルエンザウイルス BM2 蛋白の機能に関する研究

B 型インフルエンザウイルス第 7 分節 RNA によってコードされている BM2 は、イオンチャンネル活性をもつ膜蛋白質である。我々は、ウイルス増殖過程における BM2 の機能を明らかにするために、リバースジェネティクス法を用いて BM2 欠損および部分欠失変異株を作製し、それらの性状解析を行った。その結果、BM2 は B 型インフルエンザウイルスの増殖には必須な蛋白質であることが明らかになった。また、BM2 の欠損は M1 蛋白と細胞膜との親和性を低下させ、その結果、ウイルス粒子への M1-ヌクレオカプシド（vRNP）複合体の取り込みを著しく低下させることがわかった。このことから、BM2 はイオンチャンネル機能に加えて、ウイルス粒子への M1-vRNP 複合体の assembly にとって不可欠な機能を持つことが明らかになった。［今井正樹、二宮愛、小渕正次、小田切孝人］

8. 新型インフルエンザウイルスに対するワクチンのマウスにおける有効性の検討

2003 年にヒトから分離された鳥由来の強毒株 A/Hong Kong/213/2003（H5N1)をもとに作製したワクチン株 rgHK213 を用いて、ホルマリン不活化全粒子ワクチンを試作した。アルミニウムアジュバントと共にマウスに皮下接種して免疫した後、ワクチンの元株ならびに 2004 年に分離された強毒 H5N1 ウイルスで攻撃し、感染防御効果を調べた。その結果、微量の抗原でもアジュバントの使用により、同型同株と同型異株両方のウイルスに対する感染防御能を効果的に誘導できる可能性が示された。［二宮愛、今井正樹、田代眞人、小田切孝人］

Ⅱ. 風疹ウイルスに関する研究

１．風疹抗体測定のための国内標準品の作製と評価（続）

昨年度測定した風疹IgG抗体用国内標準品候補の抗体価を確認するために、他施設にEIAによる平行線定量法とHI試験法による抗体測定を依頼した。感染研による測定結果と同等な値が得られ、測定法の妥当性が確認された。エンザイグノストとプラテリアのIgGキットを用いても同等な抗体価が得られ、平行線定量法はデンカ以外のキットにも、また、感染後急性期、回復期のIgG抗体測定にも応用可能であった。しかし、国際標準品の値がバイアルによって変動したため、国内標準品の値付けをし直す必要が生じた。[海野幸子、堀内善信*、加藤宏幸、大槻紀之、門澤和恵　:*細菌第二部]

２．RT-PCR による風疹ウイルス遺伝子検出の標準化

nested RT-PCR 法による風疹ウイルス遺伝子検出は高感度であるが、単一反応条件による結果は定量性に難点がある。感染の有無の判断は、当該手法の検出感度によって左右されるため、複数施設における検査には同等の感度が必要となる。このため標準ウイルス（M-33）の段階希釈液を調製し、複数検査施設に配付し、感度の比較を行った。結果の連絡を受けた１施設では、ほぼ同程度の感度（３倍程度の差異）が得られている。
[加藤宏幸、門澤和恵、海野幸子]

３．Vero細胞を用いた風しんワクチンウイルスの無血清培養系の確立（続）

無血清培地DM201に馴化させたVero細胞で５代継代した風しんワクチンウイルスのＥ１遺伝子は、元のワクチンウイルス及び従来の牛血清を含む培地で培養されたVero細胞で継代されたウイルスと同じ配列であった。一方、ペプトン（大豆由来）を添加した無血清培養の同Vero細胞で５代継代したウイルスではアミノ酸の変化を伴う塩基の変異が１個所認められた。この変異が培地組成の影響か、継代過程で一定の頻度で現れるものかは不明である。 少なくとも５代の継代の範囲で、DM201のみを用いた Vero 細胞無血清培養系の風しんワクチン製造への応用性が示された。[海野幸子、大槻紀之、加藤宏幸、門澤和恵、大良勇治]

４．ワクチンの品質管理に関する検討（続）

細胞培養用牛血清中には高率にウシポリオーマウイルス（BPyV）遺伝子が混入している。遺伝子の存在が感染性を有するウイルスの存在を意味するかどうかは不明であるが、多くの生ウイルスワクチンはその製造に牛血清を使用しているためBPyV遺伝子がワクチン中に混入する可能性がある。そこで、国内流通している生ウイルスワクチン（麻しん、風しん、おたふくかぜ、ポリオ、水痘）からBPyV遺伝子の検出を試みた。その結果水痘ワクチンの一部のロットからBPyV由来遺伝子が検出された。しかし、一定の長さ以上のウイルス遺伝子断片は検出されなかったことから、当該ワクチン中に感染性を有するBPyVが存在する可能性は低いと考えられた。[大槻紀之、伊藤治＊、海野幸子、田代 眞人：＊農林水産省動物医薬品検査所]

５．ニワトリ初代腎細胞のウイルス感受性

トリ培養細胞由来の生ウイルスワクチンの外来性ウイルス等否定試験に用いているニワトリ初代腎細胞のトリ由来ウイルスに対する感受性を調べた。8PFUのトリパラミクソウイルス（Yucaipa）を細胞に感染させて２週間培養すると$10^{5.9}$に、$10^{1.9}$PFU のトリコロナウイルス(IBV)は$10^{4.7}$PFUに増殖した。比較に用いたウズラ初代胚細胞ではYucaipaは接種量の20倍に、IBVは検出限界以下にしかそれぞれ増殖しなかった。ニワトリ初代腎細胞はこれらトリ由来ウイルスに対して高い感受性を有しており、外来性ウイルス等否定試験に用いることの有利性が示された。[海野幸子、加藤宏幸、大槻紀之、植村やよい*、大良勇治　:*生化学工業株式会社]

６．ワクチン製造株の品質管理に関する研究

ワクチン製造承認株、マスターシード、製造用ワーキングシード及び５代の継代可能枠の理解についてWHO生物製剤基準におけるシードロットシステムの考え方と我国のワクチン原液製造の実態を比較して、麻しん、おたふくかぜ及び風しん各ワクチン製造へのシステム導入の要件を考察した。臨床試験で安全性と有効性が確認されたワクチンを製造承認株として、同質のワクチンを連続的かつ恒常的に製造するためには、マスターシードロット及びワーキングシードロットの定義を定めること、均一な構成で充分性質の良く調べられたシードロットが

大量に用意されること、シードロットやワクチン製造に製造承認株を作製した時の培養条件を再現することの重要性について共通理解することがまず第一に必要と考えられた。[海野幸子、大槻紀之]

Ⅲ. 麻疹ウイルスに関する研究

1. Vero/hSLAM 細胞の有用性に関する研究

臨床検体からの麻疹ウイルス分離効率を Vero/hSLAM 細胞と B95a 細胞で比較し、両者に差がないことを確認した。また同一検体から両細胞で得られた麻疹ウイルスの H 及び N 遺伝子の塩基配列は完全に一致していた。さらに Vero/hSLAM 細胞を用いると、風疹ウイルスの増殖効率が RK13 より良くなることも明らかにした。Vero/hSLAM 細胞は麻疹だけでなく風疹のサーベイランスにも有用な細胞といえる。［齋藤義弘、海野幸子、田代眞人］

2. てんかん、重症心身障害児・者への予防接種基準重症児（者）における麻疹ワクチン接種の有効性と安全性の検討

重度心身障害者への麻疹ワクチンの接種における安全性と有効性を検証するために、接種前後での麻疹免疫の上昇、各種サイトカインや血球数の変動を調べた。麻疹抗体の上昇から有効性が認められ、特別な副反応も認められなかった。［岡田晴恵、秋元未来、田代眞人］

3. 牛血清を使用しない麻しんワクチン製造法の開発に関する研究

現行の弱毒生麻しんワクチンの製造には鶏初代胚細胞が利用され、その製造過程において牛やその他の動物由来成分が使用されている。ワクチンの安全性を確保するために初代鶏胚細胞の作製からウイルスの増殖まで動物由来成分を全く使用しないで麻しんワクチンの製造が可能かどうか検討を行った。現在使用可能な無血清培地や酵素を用いて麻疹ワクチンウイルスを増やした場合、増殖量は従来法の約 1/10 であった。現行の製造法と同等量のワクチンウイルスを得るためには、さらなる技術的な検討が必要である。［齋藤義弘、大槻紀之、沼崎啓、田代眞人］

4. 麻しんワクチンのシードロットシステム導入における問題点に関する研究

麻しんワクチンの製造においてもシードロットシステムの導入は不可欠である。わが国の生物学的製剤基準のもとで、本システムを導入するには、各メーカーがその実情に合わせて十分な量のワーキングシードを設定し、そのシードウイルスの性状が弱毒確認試験に合格したウイルスと同等であることをサル以外の試験法で証明しておく必要があると考えられた。［齋藤義弘、沼崎啓、田代眞人］

Ⅳ. ムンプスウイルスに関する研究

1. おたふくかぜ生ワクチン接種後のムンプス発症例

おたふくかぜ生ワクチン接種後にムンプスを発症した 4 例について調査をおこなった。1 例目はワクチン接種後、1 年 9 ヶ月目に耳下腺腫脹を訴えたケースであり、IgM の大幅な上昇と野外株が分離されことから、ワクチンがテイクしていなかったと判断した。2 例目、3 例目はどちらも接種後 2～3 週で耳下腺腫脹が現れたケースであり、どちらからもムンプスワクチン株ウイルスが分離され、ワクチンの副反応と判断した。4 例目は、接種後 40 日目に風邪様症状の無いまま発熱し、徐々に活気が低下し、傾眠傾向を示したケースである。髄液からムンプスワクチン株ウイルスが分離された。ワクチンの副反応による非典型的な無菌性髄膜炎と判断した。［加藤篤、久保田 耐、名木田 章*、田辺 良**、田代眞人 :* 水島中央病院、**船橋市立医療センター ］

2. おたふくかぜ生ワクチンの牛由来成分を使用しない培養方法に関する研究

現行のおたふくかぜ生ワクチンは牛血清等の動物由来物質を含む培地で増殖維持されたニワトリ胚繊維芽細胞(CEF)を用いて製造される。ワクチン製造における動物由来因子の使用はそれらに由来する感染性因子が製剤中に迷入する危険性を伴う。そこで、従来の牛血清入り培地と、無血清培地とでそれぞれ培養した CEF 細胞に市販ワクチン等を接種し、8 代まで継代した。増殖してくるウイルスの性状をプラークサイズの変化によって検討したところ、無血清合成培地で培養した CEF に 8 代継代したウイルスのプラックサイズの平均値は有意に低下

していた。これは、継代によりウイルスが変わってしまう可能性を示しており、無血清培地の使用を製造現場に当てはめるのは、慎重に行った方がよいと思われた。[加藤 篤、木所 稔、久保田 耐、田代眞人]

3. おたふくかぜ生ワクチン製造株の品質管理に関する研究

我国の生物製剤の品質管理方法においてシードロットシステムが議論され､それを生ワクチンの製造に採用し、均一な製品にすべきであると言われて久しい。しかし、生ワクチンをシードロットシステムへ切換える作業は進んでおらず、未だこの方式の統一的な採用にはなっていない。進行を阻んでいる原因は、主に製造用保存株と製造用ワーキング株という概念が定着していないことであることが明らかになった。[加藤 篤､木所 稔､久保田 耐､田代眞人]

4. ムンプスウイルスの IFN 作用抑制機構の研究

ムンプスウイルス感染細胞ではインターフェロン(IFN)による抗ウイルス効果が抑制されており、その原因はウイルス V 蛋白質により宿主 IFN 情報伝達系に関わる STAT1 蛋白質が分解されるためだとされている。一方、麻疹ウイルスでもウイルス V 蛋白質により IFN による抗ウイルス効果が抑制される事が見いだされたが、この場合は STAT1 蛋白質の分解はない。ムンプスウイルスの IFN 情報伝達系阻害に STAT1 分解が必須であるかどうかを改めて詳細に検討した。その結果、ムンプスウイルス感染に伴い､STAT1 が完全に消失していないにもかかわらず、抗ウイルス効果の発動が阻止される例がみられた。このような例においては IFN により誘導される STAT1 のリン酸化および核移行が抑制されていた。これらのことからムンプスウイルスには STAT1 分解消失以外の IFN 情報伝達系阻害機構が存在すると考えられた。 [久保田 耐、加藤 篤、横沢紀子*、横田伸一*、藤井暢弘*：*札幌医大]

V. インターフェロン・サイトカイン・重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究

1. SARS-CoV S蛋白のプロテアーゼによる解裂と膜融合活性

SARS-CoV は、粒子表面のＳ蛋白が受容体に結合し、エンドソーム内に取り込まれ、エンドゾーム経由で細胞内へ侵入する．最近、Ｓ蛋白がトリプシンにより解裂すると膜融合が惹起されることが報告され、エンドソーム内でのＳ蛋白の解裂及び膜融合活性の活性化が示唆されている。この新しいメカニズムを解析するために、SARS-CoV 感染細胞を用いて、トリプシン等のプロテアーゼの融合能活性化を調べた。SARS-CoV 感染細胞を trypsin、 thermolysin、 dispase で処理すると、強い細胞融合が認められ、100kD に解裂したＳ２サブユニットが認められた． Collagenase 等の 処理では細胞融合は弱く、Ｓ２は認められなかった。プロテアーゼ処理後に残存する 100kD の S2 の存在と膜融合活性の発現が一致することから、S 蛋白の活性化には、Ｓ蛋白の解裂による S2 の出現が必要であると推測された。[松山州徳、川瀬みゆき、石井孝司*、森川茂**、田代眞人、田口文広：*ウイルス第２部、**ウイルス第１部]

2. SARS-CoV スパイク（S）蛋白の細胞融合活性に関する研究：解裂 S 蛋白による解析

SARS-CoV S 蛋白は受容体に結合後、エンドゾームに輸送され、その酸性環境下で活性化される蛋白分解酵素によりＳ蛋白の解裂が起り、その結果エンベロープとエンドゾーム膜が融合し、ウイルスゲノムが細胞内に放出されるという細胞侵入機構が提唱されている。我々は、SARS-CoVによる膜融合にＳ蛋白の解裂がどのように関与しているのかを知る目的で SARS-CoVS 蛋白に解裂シグナルを導入した変異 S 蛋白を作製し、その細胞融合能について検討した。SARS-CoV S 蛋白中程には２か所の塩基性アミノ酸クラスター[アミノ酸 758-761(１)、793-797(２)]が存在する。各々の部位を MHVS 蛋白の宿主プロテアーゼ依存性の解裂シグナルと類似のアミノ酸配列に置換した変異 SARS-S 遺伝子を作製し VeroE6 細胞で発現させた。解裂シグナルを持たない親株 S 蛋白は細胞融合活性を示さなかったが、解裂部位導入 S 発現細胞では細胞融合が認められた。これらの結果から、SARS-CoV Ｓ蛋白は特異的な解裂により細胞融合活性を獲得することが推測された。[前島雅美、福士秀悦*、松山州徳、中垣慶子、森川茂*、田代眞人、田口文広：*ウイルス第１部]

3. マウス肝炎ウイルスの受容体非依存性感染に関する研究：spinoculation 法を用いた解析

マウス肝炎ウイルス（MHV）は特異的受容体（MHVR）を介して細胞に侵入する。MHV-cl-2 株は MHVR を介し感染後、感染細胞から MHVR を発現しない細胞へ感染する（MHVR 非依存性感染）が、その変異株 srr7 はこの活性がない。MHVR 非依存性感染は、S 蛋白が MHVR に結合すること無く膜融合能が活性化されるためと考えられる。このことは、ウイルス粒子が細胞表面に接することにより、MHVR 非発現細胞へも感染が成立する可能性を示唆している。そこで、spinoculation 法でウイルス粒子を細胞に隣接させることにより、MHVR を持たない細胞へ感染するか否かを検討した。MHVR 非発現 BHK 細胞に cl-2 と srr7 を 10^5 PFU 接種し、3000 rpm で 2 時間遠心すると、cl-2 株では約 500 個の syncytium が観察されたが、srr7 接種細胞では syncytium 形成は全く認められなかった。このことから、cl-2 は遠心によって細胞に接触後、S 蛋白の活性化が起こり細胞内侵入するが、srr7 にはその活性がないことが検証された。 [鈴木一充、松山州徳、中垣慶子、田口文広]

4. マウス肝炎ウイルス（MHV）の神経系細胞ににおける第一標的細胞と感染様式

マウス肝炎ウイルス（MHV）JHM-cl-2 株は神経親和性を示し、脳内では MHV 受容体（MHVR)発現のない多種類の細胞に感染することから、感染拡大は MHVR 非依存性である可能性が示唆されてきた。株化培養細胞系では cl-2 は MHVR 発現細胞に感染し、その後受容体非発現細胞にも感染が拡大するが、その変異株 srr7 はその活性を欠くことが知られている．本実験では神経系培養細胞を用いて MHVR 非依存性感染を解析した。MHVR に対する抗体 CC1 を用いた FACS で解析から、MHVR は microglia に発現していた。神経系細胞混合培養系での感染では、cl-2 感染は 8 時間頃から検出され、時間と共に拡大したが、srr7 はごく少数の細胞に感染し、拡大は観察されなかった。cl-2 の初感染は CC１で阻止されたが、感染拡大は阻止されなかった. これらの結果から、cl-2 は神経系混合培養細胞においても、最初受容体を持つ microglia に感染し、その後受容体非発現の多くの神経系細胞へと感染拡大することが示唆された． [中垣慶子、中垣和英*、田口文広 ：*日本獣医畜産大学]

5. 急性ウイルス性呼吸器疾患原因ウイルスのレファレンス体制構築に関する対応

急性ウイルス性呼吸器疾患原因ウイルスのレファレンス体制を再整備することを目的として，ヒト Respiratory syncytial（RS）ウイルス，ヒトメタニューモウイルス，ヒトパラインフルエンザウイルス，ヒトライノウイルス及びヒトアデノウイルス（一部の血清型）について標準株および／あるいは臨床分離株の収集，保存を行った。また，これらウイルスの増殖に至適な細胞培養系の保存，血清学的同定に用いる標準抗血清の保存等, リファレンスに必要な試料の確保をあわせて行った。[野田雅博，荻野利夫，田代眞人]

6. 抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体力価測定に関する基礎的検討

新生児，乳児および小児における RS ウイルス感染による重篤な下気道疾患の発症抑制に使用される抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体の含有力価（中和価）測定するための基礎的検討を行った。その結果，中和反応条件は 36℃，60 分間，感染標的細胞は HEp-2C 細胞あるいは NIH H-292 細胞で良好な成績が得られた。所定の容量に溶解された製剤の標準 RS ウイルス株（サブクラス A：Long 株およびサブクラス B：Wash 18537 株）に対する中和価は，$100\times2^{9\sim10}$ 倍を示した。対照に用いる標準血清の選択，測定価の標準化等について継続検討中である。[野田雅博，田代眞人]

7. 国内臨床分離株の抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体に対する反応性

臨床分離株において抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体に対して難結合性の株の存在の有無を検討した。国内臨床分離株 30 株（サブクラス A：15 株，サブクラス B：10 株およびサブクラス未同定株：5 株）を用いて中和反応を行った結果，今回供試した 30 株はすべてに抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体で中和された。同様の検討は継続する予定である。
[野田雅博，田代眞人，水田克己*，七種美和子**，野口

有三**，近藤玲子***，大瀬戸光明***：*山形県衛生研究所，**横浜市衛生研究所，愛媛県立衛生環境研究所***]

8. RS ウイルス感染症診断マニュアルの作成

RS ウイルス感染症は感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の改正に伴い，新たに 4 類感染症に位置づけられた。そこで RS ウイルス感染症診断マニュアルを新たに作成し，感染症研究所から各地方衛生研究所へ配布されている病原体検査マニュアルの改訂版に追加掲載した。

［野田雅博，田代眞人，一戸貞人*，吉住正和**，木村博一**，七種美和子***，野口有三***，加瀬哲男****：*千葉県衛生研究所，**群馬県衛生環境研究所，***横浜市衛生研究所，****大阪府公衆衛生研究所］

9. 感染症流行予測調査事業に係る感染源調査

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第 15 条の規定に基づき，計 386 例の検体からウイルス分離を実施した。[野田雅博，宮嶋直子、荻野利夫、今井正樹，二宮愛，小田切孝人，田代眞人]

10. センダイウイルス(SeV) C 蛋白発現細胞での IFN 作用抑制機構の研究

センダイウイルス(SeV)C 蛋白発現 HeLa 細胞は３種のインターフェロン（IFN)αβγのいずれに対しても完全な抵抗性を示す。昨年に引き続き IFN に対する抵抗性のメカニズムについて検討した。 SeVC 蛋白発現 HeLa 細胞では IFN□処理後リン酸化された STAT1 が巨大分子を形成して蓄積し、正常な脱リン酸化反応が起きない機構が働いている可能性が考えられた。STAT1 が形成する複合体について、脱リン酸化に関係すると思われる分子を免疫沈降で解明することを試みたが、明確な関与分子を決定するにはいたらなかった。［斉藤早久良、加藤篤］

11. パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子の機能

パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子であるＶや C 蛋白質の機能について、最近、センダイウイルス(SeV)の C 蛋白質、ムンプスウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス２型、ニューカッスル病ウイルス、麻疹ウイルスの V 蛋白質がインターフェロン(IFN)のシグナル伝達を阻害し、細胞が抗ウイルス状態になるのを妨げていることが明らかになってきた。そこで、SeV の C 蛋白質のどの部分が抗 IFN 効果にとって重要かを調べるために荷電アミノ酸をアラニンに置換した変異 C 蛋白質を作製し、その抗 IFN 能を調べたところ、151/153/154 のアミノ酸が関わっており、また STAT1 と C 蛋白質の結合と抗 IFN の発揮との間の相関が無いことが判明した。[加藤 篤、久保田 耐、田代眞人、永井美之*：*富山衛研]

VI. その他の研究

1. 痘瘡ワクチン株の改良と B5R 遺伝子の機能解析

我々は、高度弱毒痘瘡ワクチン株 LC16m8 は復帰変異を起こしやすく、その原因遺伝子が B5R 遺伝子であることを突きとめた。そこで、復帰変異の起こりにくい改良型ワクチン株を開発するために、LC16m8 株から B5R 遺伝子を完全に取り除いた m8Δを作出した。m8Δは、LC16m8 に比べて遺伝的安定性に優れ、動物に対する病原性は同程度に低く、一方で米国の現行ワクチン Dryvax に遜色のない強い感染防御免疫を誘導することが証明された。これらの結果から、m8Δは安全で有効な痘瘡ワクチンおよびウイルスベクターとなりうることが示された。また BALB/c マウスの感染防御実験において m8Δの感染防御免疫誘導能が、野生型 B5R を発現するウイルス（m8B5R 株）より有意に高かったことから、我々は、従来ポックスウイルスの感染防御に不可欠であると考えられていた B5R 遺伝子が必ずしも感染防御に必須ではないことを証明した。[木所 稔、田代眞人、志田壽利*：*北海道大学遺伝子病制御研究所]

2. ワクチン開発迅速化のためのセンダイウイルスベクター基盤的技術開発の研究

センダイウイルスは、ほ乳類細胞や鳥類細胞で旺盛に増殖するため、センダイウイルスをベクターとした場合にも、多くの細胞で大量発現を期待できる。新型インフルエンザウイルスの世界的規模での流行に備えるためにはワクチンによる予防がもっとも効果的とされている。しかし、ヒトへの病原性を持った株を、現状の製造工程を使ってそのままワクチンとすることは困難が予想される。そこで、H5 型インフルエンザウイルスの HA を組

込みこんだセンダイウイルスで HA 蛋白質を発現させた。発現 H5 蛋白質は、培地にトリプシンを加えなくも感染細胞で HA1 と HA2 に開裂していた。[加藤 篤、森本金次郎*：*ウイルス第一部]

レファレンス業務

1. インフルエンザ HA ワクチンの国家検定のための標準抗原・参照抗血清の作製

平成 16 年度のインフルエンザ HA ワクチンに使用するワクチン株である A/NewCaledonia/20/99(IVR-116)(H1N1）、A/Wyoming/3/2003(IVR-134) (H3N2)、B/Shanghai/361/2002 の 3 株について国家検定の力価試験に使用する参照抗インフルエンザ HA 抗血清と標準インフルエンザ HA 抗原（一元放射拡散試験用）を作製した。標準インフルエンザ HA 抗原に含有される HA 抗原の含有量の設定を、英国、米国の生物製剤に関する国立試験研究機関である NIBSC、CBER と協力して国際的な標準に基づいて実施した。また、海外の標準抗原の抗原量の設定についても同様に協力を行った。
[板村繁之、金子睦子、小田切孝人、田代眞人]

2. 高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアルの作成

2003 年末から始まった東アジア諸国における高病原性A/H5N1鳥インフルエンザの被害は家禽だけにとどまらず、鳥からの直接感染による死者はこれまでに 50 名を超えている。我が国でも、2004 年初頭にニワトリへの感染があったことから、今後、各地方衛生研究所において高病原性鳥インフルエンザの診断を行う必要性が生じた場合に備え、診断マニュアルを整備しておく必要がある。感染研から各地衛研に配布される病原体検査マニュアルの改正に伴い、従来の方法に比べ、より感度の高い高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子診断法を開発し、ウイルス分離法と合わせてマニュアルに掲載した。［今井正樹、二宮愛、小渕正次、板村繁之、西藤岳彦、斉藤利憲、小田切孝人、田代眞人］

3. 動物インフルエンザウイルス系統保存における共同研究

新型インフルエンザウイルスの出現時に、それに抗原性が近似したワクチン製造株を速やかに供給できるように、自然界に存在する A 型の 15 種類全ての HA 亜型のウイルスの収集・系統的分類およびそれらに対する抗血清の作製を完了させた。本年度は新たに野鳥とブタからそれぞれ 6 株と 4 株のインフルエンザウイルスが分離された。それらの抗原解析を行った結果、トリウイルスの 6 株は A/H7N7 型であること、ブタウイルスの 4 株は A/H1N2 型であることが判明し、これら分離株は感染研の動物インフルエンザウイルス保存バンクに組み込まれた。また、ウイルスを分離し供与してくれた地衛研には、それらの解析結果を個別に還元した。［今井正樹、二宮愛、板村繁之、西藤岳彦、小渕正次、斉藤利憲、小田切孝人、田代眞人］

サーベイランス業務

1. インフルエンザウイルス流行株のサーベイランス

インフルエンザの流行状況を把握し、次シーズンのワクチン株を選定するために全国 74 地方衛生研究所および関連施設の協力のもとに、インフルエンザウイルス流行株の詳細な性状解析をおこなった。2004/2005 シーズンは昨シーズンより流行の立ち上がりが遅く、第 6～7 週目にピークが見られ、いくつかの県では A/H3 の散発的な流行が 4 月以降も見られた。A/H1、A/H3、B 型の分離比はそれぞれ 3%、41%、56%であった。A/H1 の流行は小さいながら 3 シーズンぶりに見られ、その大半はワクチン株 A/New Caledonia/20/99 類似株であった。A/H3 はシーズン前半ではワクチン株 A/Wyoming/3/2003 と抗原的に区別できなかったが、シーズン後半には A/Wyoming/3/2003 とは抗原性の異なる株が増える傾向が見られた。HA 遺伝子解析から、分離株のほとんどは A/California/7/2004 に特徴的なアミノ酸置換 K145N を持ち、A/Wyoming/3/2003 とは遺伝的に区別できる一群を形成した。B 型は山形系統が分離株の 99%以上を占め、ワクチン株 B/上海/361/2002 類似株が大半であった。一方、少数分離された Victoria 系統株は代表株 B/Brisbane/32/2002 や B/山東/7/97 からは抗原的に変化していた。これら、解析結果は定期的に WISH を通じて地方衛生研究所に報告された。また、年 2 回開催される WHO インフルエンザワクチン株選定会議で報告された。さらに衛生微生物技術協議会、ウイルス学会

等の研究集会を通じて研究機関へ還元され、感染研 HP で一般にも還元された。[西藤岳彦、小渕正次、斎藤利憲、松澤哲宏、安西和子、福家優、板村繁之、今井正樹、二宮愛、金子睦子、小田切孝人、田代眞人]

2. ノイラミニダーゼ阻害剤耐性株サーベイランス

我が国では世界で使用されている抗インフルエンザ薬（ノイラミニダーゼ阻害剤）の 2/3 が消費されており、国内の研究グループからは我が国の小児で薬剤耐性株が高頻度に見いだされたという報告がなされた。そこで、WHO ノイラミニダーゼ阻害剤耐性株ネットワーク（NISN）の一員として我が国におけるノイラミニダーゼ阻害剤耐性株のサーベイランスを実施した。全国の地方衛生研究所の協力を得て 2003/2004 シーズンの分離株約 1300 株を収集し、海外検査機関に送付しスクリーニングを行った。解析した約 1200 株において 4 株のオセルタミビル耐性株が見いだされ、それらの NA 遺伝子の全塩基配列を決定した。[西藤岳彦、小渕正次、斎藤利憲、松澤哲宏、安西和子、福家優、板村繁之、今井正樹、二宮愛、金子睦子、小田切孝人、田代眞人]

3.ブタへの新型インフルエンザウイルスの侵入監視における研究

鳥インフルエンザウイルスが中間宿主のブタの世界に侵入しているのか否かを監視するために、全国 29 地区の地衛研に依頼して、ブタでの A 型 H1、A 型 H5、A 型 H7、A 型 H9 ウイルスに対する抗体調査を行った。血清中の抗体価は、A/swine/埼玉/27/2003 (H1N2)、A/Vietnam/1194/2004(NIBRG-14)(H5N1)、A/mallard/Netherlands/12/00 （ H7N3 ）、 A/ 香 港 /2108/2003 (H9N2)各不活化ウイルスを抗原に用い赤血球凝集抑制試験にて測定した。その結果、H1 のブタインフルエンザウイルスに対する陽性例は２９地区中１２地区のブタで検出され、このウイルスに類似した株が国内のブタに広く浸淫していることが明らかになった。一方、H5 と H7 の鳥インフルエンザウイルスに対しては全て陰性であった。 なお、H9 の鳥インフルエンザウイルスについては現在調査中である。

現行の血清診断法は、鳥インフルエンザウイルスに対する陽性反応が感染による特異反応なのか他の亜型への交差反応なのか判定できないなどの問題点がある。そのため、血清調査から得た結果を新型インフルエンザウイルスの侵入監視対策に反映させることは難しい。そこで、来年度は現行法に代わる調査法として、培養細胞によるウイルス分離法を用い、ブタの呼吸器からインフルエンザウイルスを直接検出する予定である。 ［今井正樹、二宮愛、野田雅博、宮嶋直子、荻野利夫、小田切孝人、田代眞人］

4. 風疹の流行予測調査

風疹は感染症流行予測調査の対象疾病であるため、感受性調査用標準血清（HI 抗体陽性血清と陰性血清）を 13 県に提供し、それらの抗体調査結果を解析した。[海野幸子、大槻紀之、加藤宏幸、感染症情報センター第三室]

品質管理に関する業務

1. インフルエンザ HA ワクチンの安全性向上のための品質管理に関する研究

インフルエンザワクチンの力価試験として 2000 年に一元放射免疫拡散試験法が導入され、それとともにワクチンに含有される総蛋白量が増加し生物学的製剤基準の上限に近いワクチンも出現してきた。また、マウス白血球数減少試験においても基準の上限に近いワクチンが散見されるようになってきた。そこで、ワクチンの安全性と有効性を確保するために必要な品質管理の試験方法の改良・開発やその意義について研究を実施し、現行の基準改訂の基礎となる知見を得ることを目指した。その結果、マウス白血球数減少活性と相関する生体反応として IFNα の産生を見出した。この反応はワクチン効果の基礎になる免疫応答とは別の機構として機能していることが示唆された。また、より精度、再現性の高いマウス白血球数減少試験法を確立し、品質管理を容易にすることを可能にした。さらに、ワクチンの総蛋白含量とマウス白血球数減少活性との関係について解析したところ、現行の蛋白含量の基準である 240μg/ml 以下よりも高い 300、800μg/ml に設定したワクチンでも現行基準を上回る活性を検出できなかった。従って現行のワクチンの蛋白含量の基準値を上げるのにマウス白血球数減少試験の基準を変更する必要はないと考えられる。一方、現行

力価試験が必ずしも免疫原性を担保しない可能性が見出され、引き続き検討を進めている。 [板村繁之、西藤岳彦、竹森利忠*、堀内善信**、細菌製剤協会、小田切孝人、田代眞人：*免疫部、**細菌第二部]

国際協力関係業務

1. WHO 西太平洋地域（WPR）諸国におけるインフルエンザサーベイランスへの協力

中国は新型インフルエンザの出現にとって重要な地域であるとともに世界のワクチン株となる株が多く分離される国であることから、中国におけるインフルエンザサーベイランス情報および分離株は世界のインフルエンザ対策にとって重要な役割を占めている。しかし、中国国内におけるサーベイランス網の整備や海外諸国との連携はかなり立ち後れていることから、WHO、感染研、米国 CDC が協力して 2000 年から 5 カ年計画で中国のサーベイランスの強化を目的とした技術支援を行ってきた。最終年となる本年度は、感染研から田代、小田切、板村が中国のサーベイランス拠点を視察し、問題点や改良点を提言するとともにこれらを次 5 カ年計画に盛り込んだ。一方、中国をはじめ WPR 諸国で分離され亜型同定が行われた株は定期的に感染研に送られ（中国 123 株、台湾 13 株、モンゴル 4 株)、当室にて詳細な抗原解析、遺伝子解析が行われた。これら解析結果はそれぞれの国に適宜還元されるとともに WHO インフルエンザワクチン株選定会議でワクチン推奨株選定のための資料として活用された。[小田切孝人、西藤岳彦、小渕正次、斎藤利憲、松澤哲宏、安西和子、福家優、板村繁之、今井正樹、二宮愛、金子睦子、田代眞人]

2. 高病原性鳥型インフルエンザウイルスのヒト感染事例に関する技術協力（ベトナム派遣）

2003 年末から始まった東アジア各地における高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザの流行は、2004 年前半にやや治まったかに見えたが、2004 年後半から 2005 年初頭にかけて再燃し、この期間の死者はタイ、ベトナム、カンボジアで合計 30 名を超えた。ウイルス第 3 部第 1 室は、ベトナム、ホーチミン市のパスツール研究所ならびに世界保健機構(WHO)の要請を受け、昨年度に引き続き、同研究所に 2 名（小渕、今井）の研究員を 1 月後半の 2 週間、さらに別の 2 名（西藤、二宮）を 2 月前半の 2 週間派遣し、合計 4 週間にわたる技術協力を行った。現地では、同研究所における臨床検体を用いた H5 診断技術（RT-PCR 法）の再評価、ならびに診断技術確立のための支援を行った。[小渕正次、西藤岳彦、今井正樹、二宮愛]

3. WHO 東南アジア地域におけるインフルエンザサーベイランスワークショップへの協力

インド、プネー市の National Institute of Virology にて７月２６日から７月３０日まで、インド国内のインフルエンザ担当者を対象にインフルエンザサーベイランス網の確立を目的としたトレーニングワークショップが実施された。これに伴い、WHO の要請を受けて、現地でインフルエンザの実験室診断法の講義および実習指導を行った。 [小渕正次]

4. Vero/hSLAM 細胞の分与

麻疹ウイルス分離用細胞として、Vero/hSLAM 細胞をその求めに応じて世界各国に分与している。本年度は、タイ、フイリピン、ニュージーランド、アレーシア、中国、シンガポール、韓国の各研究機関に分与した。[齋藤義弘、菅井敏行、沼崎啓、田代眞人]

研修業務

1. 高病原性鳥インフルエンザの実験室診断についての研修・研究

ベトナムより日本学術振興会のアジア諸国との学術交流事業による招へい研究者 1 名を平成 16 年 11 月 4 日から 12 月 2 日まで受け入れ、アジア地域で流行する高病原性鳥インフルエンザウイルスの実験室診断について研修・研究を行った。

2. インフルエンザサーベイランストレーニングワークショップの開催

2003 年から東アジア諸国において高病原性 H5N1 鳥インフルエンザが家禽で大流行し、ヒトにも感染して死者が出ていることから、新型インフルエンザウイルスの出現とそれによる世界的な汎流行が危惧されている。一方、アジア諸国の多くは通常のインフルエンザ流行に対

するサーベイランスもかなり立ち遅れており、これらの国々では新型インフルエンザ対策の一環としてヒトインフルエンザサーベイランス網の早急な整備が必要である。そこで、アジア諸国が連携をはかりサーベイランスの整備を進めるために、これらの国々を対象として 5 月 17 日から 20 日の日程でインフルエンザサーベイランストレーニングワークショップを WHO との共催で行った。バングラデシュ、インド、インドネシア、マレーシア、モンゴル、ニューカレドニア、フィリピン、タイおよびベトナムから 17 名の疫学者、ラボ研究者が参加した。また、感染研の他に米国 CDC、メルボルン WHO インフルエンザ協力センター、WHO 東南アジア地域事務局および WHO 西太平洋地域事務局から 9 名の講師陣を招へいした。ワークショップでは高病原性鳥インフルエンザの流行状況、WHO グローバルサーベイランスネットワークや我が国のサーベイランス体制、バイオセーフティーの講義の他に参加国からはサーベイランスの現状が紹介され、そのあり方や問題点などについて活発な討論がなされた。さらに疫学とラボトレーニングのセッションに分かれて、それぞれ疫学調査、ウイルス学的診断等について講義、実習が行われた。[田代眞人、小田切孝人、板村繁之、西藤岳彦、小渕正次、今井正樹、二宮愛、斎藤利憲、金子睦子、松澤哲宏、安西和子]

3. 特別課程ウイルスコース

平成 16 年 9 月 14 日～10 月 15 日、インフルエンザサーベイランスの実習、麻疹・風疹・RS ウイルス感染症の各講義、実験室診断法の実習

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ.誌上発表

1. 欧文発表

1)Imai M., Watanabe S., Ninomiya A., Obuchi M., Odagiri T. : Influenza B virus BM2 protein is a crucial component for incorporation of viral ribonucleoprotein complex into virion during virus assembly. J Virol. 78: 11007-11015 (2004)

2)Ohishi K, Kishida N, Ninomiya A, Kida H, Takada Y, Miyazaki N, Boltunov AN, Maruyama T, :Antibodies to human-related H3 influenza A virus in Baikal seals (Phoca sibirica) and ringed seals (Phoca hispida) in Russia. Microbiol. Immunol. 48:905-909 (2004)

3)Saito T, Nakaya Y, Suzuki T, Ito R, Saito T, Saito H,Takao S, Sahara K, Odagiri T, Murata T, Usui T, Suzuki Y, and Tashiro M, :Antigenic alteration of influenza B virus associated with loss of a glycosylation site due to host-cell adaptation. J. Med. Virol. 74 :336-343 (2004)

4)Takasuka N, Fujii H, Takahashi Y, Kasai M, Morikawa S, Itamura S, Ishii K, Sakaguchi M, Ohnishi K, Ohshima M, Hashimoto S, Odagiri T, Tashiro M, Yoshikura H, Takemori T, Tsunetsugu T-Yokota A subcutaneously injected UV-inactivated SARS coronavirus vaccine elicits systemic humoral immunity in mice. International Immunol. 16 :1423-1430 (2004)

5)Haagmans,B.L., Kuilen,T., Martina,B.E., Fouchier,R.A.M., Rimmelzwaan,G.F., van Amerongen, G.,van Riel, D., de Jong,T.,Itamura,S., Chan,K., Tashiro,M., Osterhaus,A.D.M.E.: Pegylated interferon-a protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques. Nature Medicine 10: 290-293 (2004)

6)Hien,T.T., Liem,N.T., Dung,N.T., San,L.T., Mai,P.P., Chau,N.V., Suu,P.T., Dong,V.C.,Mai,L.T.Q.,Thi,N.T., Khoa,D.B., Phat,L.P., Truong,N.T., Long,H.T., Giang, L.T., Tho, N.D.,Kim Tien,N.T., San, L.H.,Tuan,L.V., Dolecek,C., Thanh,T.T., de Jong,M., Schultsz,C., Cheng,P., Lim, W.,Horby,P., the World Health Organization International Avian Influenza Investigative Team (Bhat, N.,Brudon,P., Calain,P., Curns,A., Doran,R., Fukuda,F., Grein,T., Horby,P., Itamura,S.,.Miranda, N.,Uyeki,T.), Farrar,J. :Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. N.Engl.J.Med. 350: 1179-1188 (2004)

7)Iwasaki,T,, Itamura,S, Nishimura,H, ,Sato,Y,, Tashiro,M,, Hashikawa,T,, Kurata,T.: Productive infection in the murine central nervous system with avian influenza virus A (H5N1) after intranasal inoculation. Acta Neuropathol. 108 : 485-492 (2004)

8)Ali HA, Sawada T, Hatakeyama H, Ohtsuki N, Itoh O. Characterization of a 39kDa capsular protein of avian *Pasteurella multocida* using monoclonal antibodies. Vet Microbiol. 20;100(1-2) :43-53 (2004)

9)Esaki H, Noda K, Otsuki N, Kojima A, Asai T, Tamura Y,

Takahashi T. Rapid detection of quinolone-resistant Salmonella by real time SNP genotyping. J Microbiol Methods. 58(1) :131-4 (2004)

10)Ali HA, Sawada T, Hatakeyama H, Katayama Y, Ohtsuki N, Itoh O. Invasion of chicken embryo fibroblast cells by avian Pasteurella multocida. Vet Microbiol. 30 :104(1-2):55-62 (2004)

11)Kato, A., C. Cortese-Grogan, S. A. Moyer, F. Sugahara, T. Sakaguchi, T. Kubota, N. Otsuki, M. Kohase, M. Tashiro, and Y. Nagai. Characterization of the amino acid residues of Sendai virus C protein that are critically involved in its interferon antagonism and RNA synthesis down-regulation. J Virol. 76:7114-7124 (2004)

12)Nagai, Y. and A. Kato. Accessory genes of the Paramyxoviridae, a large family of nonsegmented negative strand RNA viruses, as a focus of active investigation by reverse genetics, in press. In Y. Kawaoka (ed.), Biology of Negative Strand RNA Viruses: The Power of Reverse Genetics, Springer-Verlag GmbH and Co. KG, Curr. Topic Microbiol. Immunol 283:198-248 (2004)

13)Saika S, Kidokoro M, Aoki, and A, Ohkawa T. Neurovirulence of mumps virus: Intraspinal inoculation test in marmosets. Biologicals, 32 :147-152 (2004)

14)Kidokoro, M., M. Tashiro, and H., Shida. Genetically stable and fully effective smallpox vaccine strain constructed from highly attenuated vaccinia LC16m8. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102 :4152-4157 (2005)

15)Miyajima N, Takeda M, TashiroM, Hashimoto K, Yanagi Y, Nagata K, and Takeuchi, K. Cell tropism of wild-type measles virus is affected by amino acid substitutions in the P, V and M proteins,or by a truncation in the C protein. J Gen Virol 85 :3001-3006 (2004).

16)Takeda M, Ohno S, Seki F, Hashimoto K, Miyajima N,Takeuchi K, and Yanagi Y. Efficient rescue of measles virus from cloned cDNA using SLAM-expressing Chinese hamster ovary cells. Virus Res. 108 :161-165 (2005)

2. 和文発表

1)小田切孝人、二宮愛、板村繁之、西藤岳彦、宮嶋直子、森川茂、西條政幸、田代眞人：SARS 診断法の開発と SARS 検査の結果　インフルエンザ 5 :35-24 (2004)

2)小田切孝人：東アジア諸国で大流行している高病原性トリインフルエンザウイルス　小児科 45 :434-439 (2004)

3)小田切孝：SARS の検出　からだの科学［増刊］:9-14 (2004)

4)板村繁之：SRAS、新型インフルエンザ、トリインフルエンザ-missing link を探して　蛋白質核酸酵素 49：772-780 (2004)

5)板村繁之：SARS に対する抗ウイルス療法の開発　医学のあゆみ 210: 160 (2004)

6)板村繁之：インフルエンザ・鳥インフルエンザ「ネオエスカ　感染症・アレルギーと生体防御」　同文書院 31-38（2005）

7)板村繁之：インフルエンザワクチンとは、どのようなものですか「医療者のためのインフルエンザの知識」医学書院　122-125 (2005)

8)板村繁之：インフルエンザワクチンは、特にどのような人に接種が必要ですか「医療者のためのインフルエンザの知識」医学書院　131 (2005)

9)板村繁之：インフルエンザワクチンの有効性・有効期間について教えてください「医療者のためのインフルエンザの知識」医学書院　133-135 (2005)

10)板村繁之:抗インフルエンザ薬による予防と予防効果について教えてください「医療者のためのインフルエンザの知識」医学書院　136-137 (2005)

11)板村繁之:インフルエンザ予防の経済効果について教えてください「医療者のためのインフルエンザの知識」医学書院　138-139 (2005)

12)大槻紀之、田口邦史、高木昌美、後藤起佐子、伊藤治：鶏用生ワクチンからのトリ白血病ウイルス遺伝子の検出　動薬検年報　41:37-40 2004

13)岡田晴恵、田代眞人：鳥インフルエンザの脅威にどう立ち向かうか　世界(4)：48-57 (2004)

14)岡田晴恵、田代眞人：WHO 新型インフルエンザ会議は何を警告しているか　世界(7)：259-266 (2004)

15)岡田晴恵:成人麻疹と麻疹ワクチン　化学療法の領域 20(9)：81-86 (2004)

16)栗原まな、中江陽一郎、小萩沢利孝、衛藤義勝、岡田晴恵、田代眞人：重症心身障害児（者）における麻疹予

防接種の検討 日本小児科学会雑誌 108(11)：1372-1378 (2004)
17)岡田晴恵：鳥インフルエンザの脅威–本当の怖さはこれからだ– 河出書房新社 (2004)
18)田代眞人、岡田晴恵：新型インフルエンザ大流行の脅威と対策 最新医学社 59(2)：7-14 (2004)
19)岡田晴恵：成人麻疹の増加とその背景 Medical Tribune37(7)：48-49 (2004)
20)岡田晴恵：現在、注目すべき感染症 風しん 助産師教育 43：7 (2004)
21)岡田晴恵：産婦人科における風疹–先天性風疹症候群の予防のための風疹予防接種の重要性について 助産雑誌 58(6)：521 (2004)
22)岡田晴恵：ウイルスの変異–鳥インフルエンザの伝播を機に 綜合臨床 53(6)：1981-1986 (2004)
23)岡田晴恵：緊急のお知らせ！風疹流行とその予防風疹ワクチン接種の願い 公衆衛生 68(7)：538-539 (2004)
24)田代眞人、岡田晴恵、中山哲夫：ウイルス感染症との闘い～インフルエンザ・SARS・麻疹・風疹～ ヘルシスト 28(4)：2-10 (2004)
25)岡田晴恵：風疹ワクチン接種へのお願い–健康な赤ちゃんを授かるために–労働と健康 30(4)：27-28 (2004)
26)岡田晴恵：風疹ワクチン接種のお願い 生まれ来る子どもたちのために 保健師ジャーナル 60(8)：788-789 (2004)
27)田代眞人、岡田晴恵：インフルエンザワクチン ワクチンの事典：141-155 (2004)
28)岡田晴恵：麻疹の現状と学校保健現場の麻疹対策 保健師ジャーナル 60(9)：916-920 (2004)
29)田代眞人、岡田晴恵：パンデミック（世界的大流行）に備えはあるか Medical Tribune37(42) 感染症版：64-66 (2004)
30)岡田晴恵、宮崎千明：先天性風疹症候群とワクチン戦略 現代医療 36(11)：116-122 (2004)
31)岡田晴恵：人類 VS 感染症 岩波ジュニア新書、(2004)
32)岡田晴恵、田代眞人、濱田篤郎：新型ウイルスに対する危機管理を考える Medical Tribune38(2)感染症版：65-68 (2005)
33)岡田晴恵、田代眞人：鳥インフルエンザの流行は、何が問題なのか 日本農村医学会雑誌 53(5)：775-782 (2005)
34)岡田晴恵、田代眞人：WHO が推進するインフルエンザ戦略 綜合臨床 54(2)：252-260 (2005)
35)加藤 篤：自然免疫に対抗するセンダイウイルス蛋白質 ウイルス 54:179-188 (2004)
36)加藤 篤：ウイルス感染とインターフェロンシステムからの回避 臨床免疫 41:611-616 (2004)
37)田口文広、田代眞人：SARS の脅威（２）病原体の究明と診断 臨床病理レビュー特集 第 129 号 4月 86-92, (2004)
38)田口文広、田代眞人、納富継宣：特別寄稿 SARS ウイルス迅速診断 特集 小児科外来における迅速診断キットの活用 日本小児科医会会報 第 27 号 4 月：43-46,(2004)
39)水谷哲也、田口文広：SARS ウイルスのワクチンからだの科学 増刊５月：21-27 (2004)
40)水谷哲也、田口文広：SARS ウイルス-ワクチン開発と現状 綜合臨床 第 53 号６月：1968-1975 (2004)
41)田口文広、田代眞人：重症急性呼吸器症候群（SARS）と SARS コロナウイルス 化学と生物第 42 号８月：546-552 (2004)
42)水谷哲也、田口文広：SARS コロナウイルスのワクチン開発 細胞工学 23 巻 7 月 ：759-800 (2004)
43)田口文広：SARS の迅速診断キット インフルエンザ第５号 10 月 ：39-45(2004)
44)田口文広：SARS コロナウイルスとワクチン 臨床と研究 第 81 巻 12 月 ：69-74 (2004)
45)田口文広：SARS コロナウイルスとワクチン開発 現代化学 第 404 号 11 月：45-51 (2004)
46)田口文広：SARS コロナウイルス 獣医畜産新報 第 58 巻：129-134 (2005)
47)田口文広：SARS「ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御」 同文書院 3 月：27-31 (2005)

Ⅱ.学会発表

1. 国際学会

1)Umino, Y., Kato, H., Otsuki, N., T-Taya, K., Tada, Y., Okabe, N., Tashiro, M.: Current situation of Rubella in Japan: Assessment of vaccination program, Fourth World Congress

on Vaccine and Immunization, Tsukuba, Japan, September 30, 2004

2)Kato, A., C. Cortese-Grogan, S. A. Moyer, F. Sugahara, T. Sakaguchi,, M. Tashiro, and Y. Nagai. Characterization of the amino acid residues of Sendai virus C protein that are involved in its interferon antagonism. Workshop on Repliction and Cell Biology of Negative Strand RNA Viruses. Evanstgon, IL, USA June 12-16, 2004

3)Kidokoro, M., M. Tashiro, and H. Shida: Novel genetically stable vaccine strains constructed from vaccinia LC16m8 and mO, IVth World Congress on Vaccines and Immunology (WCVI), Tsukuba, September 30-October 3, 2004

4)Taguchi F, Matsuyama S and Nakagaki K. Receptor-independent infection of murine coronavirus: a unique mechanism of virus spread. Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji Island, Hyogo, Japan 8-August30-September2, 2004

2. 国内学会

1)今井正樹、渡辺真治、二宮愛、小渕正次、小田切孝人：B 型インフルエンザウイルスの増殖過程における BM2 蛋白の機能、第 52 回日本ウイルス学会総会、横浜、2004 年 11 月

2)今井正樹、渡辺真治、二宮愛、小渕正次、小田切孝人：B 型インフルエンザウイルスの増殖過程における BM2 蛋白の機能 第 27 回日本分子生物学会年会、神戸、2004 年 12 月

3)今井正樹：鳥インフルエンザの検査室診断法　平成 16 年度希少感染症診断技術研修会、国立感染症研究所、2005 年 2 月

4)小田切孝人、西藤岳彦、小渕正次、板村繁之、今井正樹、二宮愛、田代眞人：2003/2004 シーズンのインフルエンザ流行株の解析と次シーズンのワクチン株　第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会、横浜、2004 年 11 月

5)小田切孝人、西藤岳彦、小渕正次、斉藤利憲、板村繁之、今井正樹、二宮愛、田代眞人：2003/2004 シーズンのインフルエンザウイルス流行株と 2004/05 シーズンワクチン株　平成 16 年度衛生微生物技術協議会、埼玉、2004 年 7 月

6)二宮愛、今井正樹、田代眞人、小田切孝人：弱毒化鳥インフルエンザウイルス H5N1 を用いたアルムアジュバントワクチンのマウスにおける有効性の検討　第 8 回日本ワクチン学会、　札幌、2004 年 10 月

7)二宮愛、今井正樹、田代眞人、小田切孝人：弱毒化 H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスを用いたアルムアジュバント添加ワクチンのマウスにおける有効性の検討 第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会、横浜、2004 年 11 月

8)Odagiri T.　Development of new diagnostic tools for sever acute respiratory syndrome (SARS) and for highly pathogenic avian influenza. WHO consultation on a coordinated response for the fast-track development of diagnostic tools for new and re-emerging infectious diseases. Kobe, September, 2004.

9)小田切孝人、今井正樹、二宮愛、納富継宣、峰川晴美、石崎徹、田代眞人：LAMP 法による高病原性鳥インフルエンザウイルス感染診断系の開発　第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会、横浜、2004 年 11 月

10)Odagiri T, Imai M, Ninomiya A, Minekawa M, Notomi T, Ishizaki T, Tashiro M. Development of H5-LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) system as a new diagnostic tool for detection of H5N1 avian influenza viruses. Fortieth Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto December, 2004.

11)小田切孝人：高病原性鳥インフルエンザ：鳥インフルエンザの問題点と対策　平成 16 年度希少感染症診断技術研修会　国立感染症研究所、東京、2005 年 2 月

12)板村繁之：高病原性鳥インフルエンザ　第 4 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会, 横浜, 2004 年 11 月

13)江嵜英剛、能田健、大槻紀之、小島明美、浅井鉄夫、高橋敏雄：リアルタイム PCR 一塩基多型(SNP)タイピング法によるキノロン耐性サルモネラ遺伝子変異検出法の確立　第 137 回日本獣医学会学術集会、藤沢市、2004 年 4 月

14)斎藤正明、海野幸子：抗体検査から見た 2003 年の風疹　第 52 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2004 年

11 月

15)斎藤義弘、海野幸子、柳　雄介、田代眞人：麻疹ウイルスの分離および中和抗体価測定における Vero/hSLAM 細胞の有用性　第 52 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2004 年 11 月

16)岡田晴恵、秋元未来、菅井敏行、田代眞人、栗原まな：重症心身障害児（者）における麻疹ワクチン接種の有効性と安全性　第 45 回日本臨床ウイルス学会、大阪、2004 年 6 月

17)秋元未来、岡田晴恵、田代眞人：大学生における麻疹・風疹ワクチン接種、罹患状況の調査について　第 45 回日本臨床ウイルス学会、大阪、2004 年 6 月

18)栗原まな、中江陽一郎、小萩沢利孝、衛藤義勝、岡田晴恵、田代眞人：重症心身障害児（者）における麻疹予防接種の検討　第 46 回日本小児神経学会、東京、2004 年 7 月

19)岡田晴恵：てんかん、重症心身障害児・者への予防接種基準　重症児（者）における麻疹ワクチン接種の有効性と安全性の検討　第 46 回日本小児神経学会、東京、2004 年 7 月

20)斉藤義弘、海野幸子、柳雄介、田代眞人：麻疹ウイルスの分離および中和抗体価測定における Vero/hSLAM 細胞の有用性　日本ウイルス学会第 52 回学術総会、横浜、2004 年 11 月

21)菅井敏行, 田代眞人, 横田俊 :ウイルス感染　OVA 経気道感作により作成したマウス喘息モデルにおける T 細胞サブセットおよび樹状細胞の関与　日本臨床ウイルス学会学術集会、大阪、2004 年 6 月

22)北畠正大、安井文彦、井上真吾、森田公一、鮫島由紀恵、村井 深、水野喬介、木所 稔、志田壽利、橋本真一、松島綱治、小原道法：組換えワクシニアウイルスによる SARS ワクチンの開発　第 8 回日本ワクチン学会、札幌、2004 年 10 月

23)加藤 篤、久保田 耐、田代眞人、永井美之：センダイウイルス C 蛋白質による抗インターフェロン効果　第 52 会日本ウイルス学会総会、横浜、2004 年 11 月

24)久保田 耐、横沢紀子、横田伸一、藤井暢弘、田代眞人、加藤 篤：ムンプスウイルスによる STAT1 分解とは異なる経路を介した宿主 IFN 情報伝達阻害　第 52 会日本ウイルス学会総会、横浜、2004 年 11 月

25)村木優子、真鍋貞夫、福家 巧、石川豊数、加藤　篤、田代眞人、山西弘一、高橋理明：ムンプスウイルスの神経病原性評価法としてのマーモセット接種試験の妥当性について　第 52 会日本ウイルス学会総会、横浜、2004 年 11 月

26)坂口剛正、菅原文博、島津幸枝、加藤 篤、井上 誠、永井美之、吉田哲也：センダイウイルス C 蛋白質は宿主因子 AIP1 と相互作用してウイルス出芽を促進する　第 52 会日本ウイルス学会総会、横浜、2004 年 11 月

27)立川(川名)愛、細谷紀彰、加藤 篤、塩田達雄、永井美之、岩本愛吉：エピトープ欠乏 b2 ミクログロブリンと TAP 阻害タンパク質を用いた HIV-1 特異的 CD8 陽性 T 細胞への効率的な抗原提示法の開発　第 52 会日本ウイルス学会総会、横浜、2004 年 11 月

28)木所 稔, 田代眞人 , 志田壽利：遺伝的安定性に優れた高度弱毒天然痘ワクチン株の開発　第 52 回日本ウイルス学会総会、横浜、2004 年 11 月

29)北畠正大、安井文彦、井上真吾、森田公一、鮫島由紀恵、村井 深、水野喬介、木所 稔、志田壽利、橋本真一、松島綱治、小原道法：ワクシニアウイルス弱毒株 LC16m8 株を用いた SARS ワクチンの開発　第 52 回日本ウイルス学会総会、横浜、2004 年 11 月

30)砺波一夫、栗原由紀子、佐藤崇裕、天野朋和、油谷浩幸、加藤 篤、栗原裕基：Identification and functional analysis of Calpain6 as a molecule down stream to endothelin-1 signaling in branchial arch formation. 第 27 回日本分子生物学会年会、神戸、2004 年 12 月

31)北畠正大、安井文彦、井上真吾、森田公一、鮫島由紀恵、村井 深、水野喬介、木所 稔、志田壽利、橋本真一、松島綱治、小原道法：SARS 遺伝子組換えワクシニアウイルスによるワクチン効果の検討　第 34 回日本免疫学会、札幌、2004 年 12 月

32)中垣慶子、中垣和英、田口文広：マウス肝炎ウイルス（MHV-JHM）の大脳分離細胞を用いた受容体発現細胞および第一標的細胞の同定　第 8 回日本神経ウイルス研究会、2004 年 6 月

33)松山州徳、石井孝司、森川茂、田代眞人、田口文広: SARS-CoV S 蛋白のプロテアーゼによる解裂と膜融合活性　第５２回ウイルス学会総会, 横浜、2004 年 11 月

34)前島雅美、福士秀悦、松山州徳、中垣慶子、森川茂、

田代眞人、田口文広: SARS-CoV スパイク（S）蛋白の細胞融合活性に関する研究：解裂 S 蛋白による解析　第５２回ウイルス学会総会，横浜、2004 年 11 月
35)田口文広、松山州徳: マウス肝炎ウイルスの受容体非依存性感染に関する研究：spinoculation 法を用いた解析　第５２回ウイルス学会総会，横浜、2004 年 11 月
36)中垣慶子、中垣和英、田口文広: マウス肝炎ウイルスの神経系細胞ににおける第一標的細胞と感染様式　第 52 回ウイルス学会総会，横浜、2004 年 11 月
37)石井孝司，横田恭子，竹森利忠，長谷川秀樹，水谷哲也，森川茂，田口文広，田代眞人、吉崎佐矢香，鈴木哲朗，宮村達夫：高度弱毒化ワクシニアウイルス株 Dis の SARS 生ワクチンとしての応用　第 52 回ウイルス学会総会，横浜、2004 年 11 月
38)西條政幸、福士秀悦, 荻野利夫、田口文広, 水谷哲也, 松山州徳，倉根一郎，田代眞人，森川茂：SARS コロナウイルスの組み換え核蛋白を抗原とした ELISA 法の開発と評価　第 52 回ウイルス学会総会，横浜、2004 年 11 月
39)竹内薫、宮嶋直子、竹田誠、永田典代、網　康至、門田伸一、ザミラ　サーネオアズ、永田恭介：麻疹ウイルスＣタンパクの in vitro あるいは in vivo における機能　第 52 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2004 年 11 月

4.細菌第一部

部長　渡辺治雄

概　要

今年度の研究としても、昨年度と同様に細菌第一部の各室が担当する細菌（腸管出血性大腸菌、サルモネラ、赤痢菌、ビブリオ等の腸内細菌、レジオネラ、レンサ球菌、ブドウ球菌、レプトスピラ、ボレリア、髄膜炎菌、セラチア、口腔内細菌、結核菌等）の検査法の開発、分子疫学的手法の確立とその応用、薬剤耐性の疫学・耐性機序の解明、病原性因子の発現制御、菌と宿主との相互作用および感染の過程の分子機構の解明を目指した研究を行った。その中で特記すべき点は、①一般的に菌が細胞内に侵入すると宿主細胞に変化が生じるが、赤痢菌の場合、菌が侵入した宿主細胞の形態を維持させ、菌の増殖・細胞間伝播を促進させる方向に働く新しい遺伝子 *ospE2* があることを発見した、②レジオネラの増殖に関与する宿主遺伝子として *Lgn1* が見つかっていたが、それとは異なる肺組織内でのレジオネラの増殖に関与する新しい宿主遺伝子の存在を発見した、③腸管出血性大腸菌のゲノムの不安定性に菌内に存在するバクテリオファージ間でのゲノムの逆位が関与することを新しく見出した、ことがあげられる。これらの発見を、大学院生が自ら行ったことに頼もしさを感じる。若いときによい仕事を行った経験は自信となりその後の研究生活に影響を及ぼす。頑張ってもらいたいものである。

研究費としては、厚生労働省科学研究費新興・再興研究事業費（パルスネット、人畜共通感染症，薬剤耐性機序、バイオテロ対策に関する研究等を担当)、厚生労働省科学研究費食品安全確保研究事業費、国際医療協力事業費、文科省科研費，および広域食中毒対策事業費等を得た。

部の人事として、16 年 4 月 1 日付けで、渡辺治雄が副所長となり､細菌第一部を兼務することとなった｡また、森田昌知が第二室研究員として採用された。17 年 3 月 31 日付けで、田村和満、芳賀伸治が定年退職した。

業　績

調査・研究

Ⅰ. 腸管出血性大腸菌（志賀毒素産生性大腸菌）に関する研究

（1）平成 16 年度における腸管出血性大腸菌（EHEC）の血清型分布に関する研究

平成 16 年度に疫学的解析のために、国立感染症研究所に送付された菌株は総数 2975 株でその内 O157:H7 および O157:H-は 2227 株、それ以外の大腸菌血清型別の依頼株は 748 株であった｡O157 以外の血清型は 21 種類に型別された。その中でも、O26:H11,O26:H-、O111:H-が優勢を占めていた｡（田村和満、寺嶋淳、伊豫田淳、渡辺治雄）

(2)腸管出血性大腸菌 O157 のファージ型別による解析

2004 年に送付された腸管出血性大腸菌 O157 のうち、133 株についてファージ型別を実施した。主なファージ型（PT）は、PT14 が 19%、PT1 が 12%、PT4 が 10%、PT33 が 9%であった。一昨年 22%を占め、最も多く検出された PT33 は 4 位に後退した。（泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄）

（3）腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2004 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 2102 株および O26, O111 等を含むその他の血清型 752 株、また 2003 年以前に分離された腸管出血性大腸菌 270 株に対して、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）を用いて、患者由来株、食品由来株、環境由来株等について解析を行った｡2004 年分離の O157 については、1032 種類の PFGE パターンが観察され、多様なクローンの存在が継続していることが示唆された。一方、少なくとも 3 つ以上の異なる都道府県から分離された同一 PFGE パターンが 29 種類あり、このうち、5 以上の都道府県から分離された O157 には 7 種類の泳動パ

ターンがあった。広域に及ぶ同一 PFGE タイプの O157 による事例が発生していることから、今後の事例発生の早期探知による拡大予防の必要性とともに原因究明に向けた対策が重要であることが示唆された。(寺嶋　淳、斉藤康憲、鈴木玲子、今村詔子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄)

(4) PFGE の標準化とその解析結果利用のネットワーク化に関する研究

2004 年より米国疾病管理センター(CDC)の方法に準拠した新プロトコールによる PFGE 解析を行い、データベース構築を継続した。PFGE パターンのサブタイピングは、PFGE 解析ソフトによるデンドログラムに基づいて行い、解析結果の一部は、PDF の書類として、厚生労働行政総合情報システム(WISH)上の個別システム「PulseNet Japan」でほぼ１ヶ月おきにデータを更新した。また、よりアクセスが容易である Internet を利用した解析結果の公開手段について、感染研のホームページ利用を想定し検討を始めた。(寺嶋　淳、斉藤康憲、鈴木玲子、今村詔子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄)

(5) LEE 遺伝子群の発現制御に関する研究

ア) ATP 依存型プロテアーゼ ClpXP 複合体による LEE 遺伝子群の正の発現制御

LEE 遺伝子群の発現を上昇させる活性を持つマルチコピークローンとして、ATP 依存型プロテアーゼの一つである ClpX/ClpP をコードする DNA 断片が単離された。そこで *clpXP* の欠失変異体を構築したところ、LEE にコードされる Type III 依存型分泌蛋白質の発現が顕著に低下することが判明した。ClpXP の LEE 発現制御における作用点を同定する目的で、LEE の転写制御遺伝子である *pchA* と *ler* の転写活性を測定したところ、*clpXP* 欠失変異によってそれぞれの発現量が顕著に減少することが判明した。 LEE の発現階層性において *pchA* は *ler* の上位に位置することから、ClpXP の効果は少なくとも *pchA* の転写制御を介して行われるものと考えられる。(伊豫田淳、渡辺治雄)

イ) 定常期シグマ因子 RpoS による LEE 遺伝子群の負の発現制御

ClpXP は定常期シグマ因子として知られる RpoS の分解に関与し、定常期における遺伝子発現制御を行っていることが明らかとなっている。そこで、RpoS によって LEE の発現が制御されている可能性について解析する目的で、*clpXP* と *rpoS* の三重欠損株を構築した。その結果、(ア)で見られた *clpXP* 欠失による LEE 発現の低下が部分的に抑圧された。*rpoS* を運ぶプラスミドを野生株に導入したところ、LEE 発現の顕著な低下が見られた。従って、RpoS はその作用機構は現在のところ不明なものの、LEE の発現を負に制御することが示唆された。(伊豫田淳、渡辺治雄)

ウ) 負の制御遺伝子 *grlR* の活性制御による LEE 発現の脱抑制機構

他の研究グループの成果から、LEE にコードされる GrlR は LEE 発現の負の制御因子として機能するものと考えられている。O157 Sakai 株で *grlR* の欠失変異株を作製し、LEE 発現への効果を調べた結果、*grlR* 変異下では、LEE の発現が誘導されない富栄養条件下においてもその発現が構成的になることが判明した。*grlR* と *clpXP* の三重欠損株を構築したところ、(ア)で見られた *clpXP* 欠失による LEE 発現の低下がほぼ完全に抑圧された。そこで、*grlR*-FLAG 融合遺伝子を染色体上で構築し、GrlR の細胞内における存在量を定量化する系を構築したところ、GrlR は対数増殖期後期(LEE の発現が誘導される増殖期)で顕著に減少するが、*clpXP* 欠損下では増殖期に関わらず構成的に存在した。以上の結果は ClpXP が GrlR の活性制御を介して LEE の発現制御を行っていることを示唆するものである。(伊豫田淳、渡辺治雄)

(6) LEE 非保有型志賀毒素産生性大腸菌(LEE-negative STEC: LN-STEC)の病原性遺伝子に関する研究

LN-STEC の一群は培養細胞(HEp-2)へ鎖状に結合する(Chain-like adhesion: CLA)ことが我々の研究で明らかとなっている。CLA に必須な接着遺伝子を同定する目的で、CLA を示す STEC O91 の一株について Tn*5-kan* を用いたランダム突然変異を行い、CLA を示

さなくなった（培養細胞への接着性を失った）変異株をいくつか単離した。Tn*5-kan* の挿入部位を同定したところ、大腸菌の immunogloblin 結合蛋白質（EibACDEF）と相同性を示す蛋白質をコードする新規遺伝子にマップされた。この遺伝子の完全欠失体を構築したところ、Tn*5-kan* 変異株同様 HEp-2 細胞への接着性を示さないことが確認された。さらに、この遺伝子を運ぶプラスミドを欠失株に導入したところ、CLA の表現型を相補することが確認された。以上の結果から、この *eib* 様遺伝子は CLA の表現型を担う新規の接着因子をコードすることが示された。（陸彦［流動研究員］、伊豫田淳、佐藤裕美、佐藤人美、渡辺治雄）

（7）EHEC に溶原化しているバクテリオファージに関する研究

ア）*stx2* を運ぶラムダ型ファージの感染における O 抗原の役割について

stx2 を運ぶラムダ型ファージの大腸菌宿主域を研究する過程において、ファージの感染率が上昇した大腸菌 O157 の突然変異株を単離した。この突然変異体の特徴付けを行ったところ、O 抗原を欠損した株であることが判明した。そこで、Stx ファージを持たない O157 株を用いて、O157 抗原合成遺伝子の一つである *rfbE* を欠損させた変異株を新たに作製した。*stx2A::cat* 融合遺伝子を運ぶファージによる感染率を解析したところ、野生型 O157 株と比較して溶原株の出現数が顕著に増大していた。さらに、*rfbE* を運ぶプラスミドを用いて相補実験を行ったところ、O 抗原の合成およびファージの溶原化率が野生株レベルまで戻った。以上の結果から、O 側鎖はファージ感染において重要な役割を担っていることが示唆された。（井口純［協力研究員］、伊豫田淳、大澤朗［神戸大・自然科学研究科］、渡辺治雄）

イ）ファージゲノム間で起こる逆位 DNA による O157 ゲノムの多様性に関する研究

EHEC O157 のゲノム上には 18 個のファージ DNA および数個のファージ様 DNA が存在する。試験管内で継代培養を繰り返した結果、PFGE パターンに変化が見られたいくつかの株を用いて、その原因となる変異について解析した。その結果、*stx2* 遺伝子をもつ 933W ファージの欠落、Insertion Sequence を介した欠失に加え、その多くは複製軸にほぼ対称に溶原化している二つのファージ間での逆位 DNA により起こることが判明した。逆位は 7 つのファージを介した 5 つの組み合わせでみられ、その大きさは 250 kbp から 1.4 Mbp と多様であった。以上の結果から、ゲノム上に存在するファージ DNA 間で起こる逆位が O157 ゲノムの多様化に貢献していることが示唆された。（井口純［協力研究員］、伊豫田淳、大澤朗［神戸大・自然科学研究科］、寺嶋淳、渡辺治雄）

Ⅱ．サルモネラに関する研究

（1）日本国内で分離されたチフス菌,パラチフスＡ菌のファージ型別法による疫学的解析

2004 年に国内で分離され地方衛生研究所･保健所から送付されたチフス菌株、パラチフス A 菌株についてファージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 58 株、パラチフス A 菌 66 株で、例年と比較してパラチフス A 菌の分離数が増加した。ファージ型別試験で主に検出されたファージ型はチフス菌では、E9,E1,B1,D2 であった。パラチフス A 菌では、1,4,6、2 型であった。（廣瀬健二、田村和満、高井信子、渡辺治雄）

（2）日本国内で分離されたチフス菌、パラチフスＡ菌の各種抗菌薬に対する感受性試験

2004 年に日本で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌のニューキノロン剤及び第３世代セフェム系抗菌剤などに対するＭＩＣを測定しチフス菌、パラチフスＡ菌の感受性を検討した。薬剤は、ニューキノロン系薬剤６薬剤, 第３世代セフェム系薬剤３薬剤、その他に従来の治療薬等合計１８剤を検討した。検査した株のうちニューキノロン低感受性菌はチフス菌で約 55%と昨年に比較してやや減少した。パラチフスＡ菌では昨年と同程度の約 76%であった。（廣瀬健二、田村和満、高井信子、渡辺治雄）

（3）ニューキノロン低感受性菌の迅速スクリーニング法の開発に関する研究

ニューキノロン低感受性チフス菌･パラチフスＡ菌を迅速にスクリーニングするためにリアルタイム PCR 法を用いた方法を開発した。この方法では、キノロン耐性

決定領域の塩基配列を決定することなく、突然変異の入った場所がわかるため、菌株が耐性、低感受性、感受性かの推定もできる。(廣瀬健二、伊藤健一郎 (感染症情報センター)、森田昌知、渡辺治雄)

(4) 平成 16 年度におけるサルモネラ血清型分布に関する研究

平成 16 年度にサルモネラセンターに血清型別以来のあった株は 13 株でそれらは 8 種類の血清型に分けられた。優勢を占めた血清型は例年通り *S.*Enteritidis, *S.*Typhimurium であった。(田村和満、泉谷秀昌)

(5) *Salmonella* Enteritidis のファージ型別による解析

2004 年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 602 株 (うち、2004 年分離株は 364 株) に対し、ファージ型別を行った。このうち集団事例由来株に関する解析結果は以下の通りである。解析された 2004 年の集団事例 43 件のファージ型(PT)の内訳としては、PT1 が 11 件 (26%)、PT4 が 10 件 (23%)、PT21 が 7 件 (16%)、その他 15 件であった。昨年まで増加傾向にあった PT47 は 3 件で 7%を占めるにとどまった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(6) *Salmonella* Typhimurium のファージ型別による解析

2004 年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株 75 株について、ファージ型別を行った (患者、環境、動物由来を含む)。近年欧米を中心に注目されているファージ型、DT104 およびその関連株はこのうち 47 株であった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(7) *Salmonella* Enteritidis 薬剤感受性試験

上記ファージ型別に供した 2004 年に発生した 43 件の集団事例に関する株について薬剤感受性試験を行った。試験した薬剤全てに感受性のものが 32 件、SM 単剤耐性のものが 10 件と大勢を占めた。これ以外に SM＋TC 耐性が 1 件検出された。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(8) ESBL 産生性 *S.* Enteritidis 株の解析

2003 年 7 月に分離された CTX 耐性 *S.* Enteritidis 株について解析を行った。本菌株は CTX に耐性であり、且つ本耐性はクラブラン酸によって阻害され、いわゆる ESBL 産生株であることが示唆された。耐性遺伝子を PCR で検索した結果、CTX-M 型 β ラクタマーゼ遺伝子が検出され、塩基配列解析の結果、blaCTX-M-14 を有することが明らかとなった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、廣瀬健二、田村和満、渡辺治雄、東出正人 (江東微研))

(9) フルオロキノロン高度耐性 *Salmonella* Typhimurium 株の解析

2004 年に送付されたフルオロキノロン高度耐性 *Salmonella* Typhimurium 株 (n=5) について、薬剤耐性パターン、ファージ型別、耐性遺伝子の塩基配列などによる解析を行った。薬剤感受性試験をディスク (KB) 法で行うと、ABPC, CP, SM, TC, ST (サルファ剤およびトリメトプリム), GM, NA および CPFX に耐性を示すもの (n=4)、ならびに、ABPC, CP, SM, TC, ST (サルファ剤およびトリメトプリム), NA および CPFX に耐性を示すもの (n=1) の 2 種類が存在した。ファージ型別に関しては、すべて DT193 と同定された。キノロン耐性に関与しているとされている *gyrA* および *parC* 遺伝子のキノロン耐性決定領域に関しては、いずれも同様の変異が同定された (GyrA:83 番目のセリンがフェニルアラニンに、87 番目のアスパラギン酸がアスパラギンに、ParC:80 番目のセリンがアルギニンに置換)。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(10) サルモネラ侵入性遺伝子群の発現制御についての研究

ア) *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium の細胞侵入性遺伝子群発現の統括的 activator である *hilA* 自体の発現制御

昨年度報告したように、1, 2-propanediol が *hilA* 発現抑制効果を有すること、低濃度の 1, 2-propanediol、150mM における抑制効果は、1, 2-propanediol からのサルモネラ自身の持つ Pdu Enzymes による代謝産物である propionate によるものであること、これに対して、高濃度、300mM における抑制効果は、propionate の産生

によらないものであることをつきとめた。これら２つの抑制経路、それぞれについて、その具体的メカニズム解析のため、300mM 1, 2-propanediol での *hilA* 発現抑制が解除される変異株、及び、30mM propionate（すなわち、低濃度 1, 2-propanediol によるものを mimic している）での *hilA* 発現抑制が解除される変異株を Tn*10* random insertion によってスクリーニングすることを試みた。（中山周一、渡辺治雄）

イ）高濃度 1, 2-propanediol による抑制を解除する mutant について

このような mutant として、ゲノム上、４つの loci に Tn*10* が挿入された変異株をスクリーニングした。そのうち、complementation test により、遺伝子の機能が確認できたものは、*hilE* 遺伝子、１つだけであった。*hilE* は、*hilA* の negative regulator として、すでに報告がある。これに一致して、*hilE* mutant では、1, 2-propanediol を含まない、通常の培地中でも *hilA* 発現は大きく上昇していた。この表現型に加えて、*hilE* mutant は、300mM 1, 2-propanediol での *hilA* 発現抑制をほぼ完全に失っていること、これに対して、30mM propionate による *hilA* 発現抑制は、若干、悪化するものの、依然、保持していた。これらの結果より、*hilE* は、propionate 産生に非依存的な、1, 2-propanediol による *hilA* 発現抑制に必須な negative regulator であることが示されると同時に、1, 2-propanediol による *hilA* 発現抑制が、propionate 産生に依存的なものと、非依存的なものとに、遺伝学的に明確に分離できることが確認された。*hilE* が、1, 2-propanediol による *hilA* 発現抑制に必須であり、propionate による抑制には必須でないことから、*hilE* 自体の発現、または HilE 産物の activity が、1, 2-propanediol 存在下で特異的に上昇する可能性が考えられる。現在この仮説を検証中である。（中山周一、渡辺治雄）

ウ）propionate による抑制を解除する mutant について

propionate による抑制が悪化する mutant として、ゲノム上、１つの locus、*yieP* 遺伝子に Tn*10* が挿入された変異株を同定した。propionate による抑制を完全に失う変異株は、得られなかった。*yieP* 遺伝子を multicopy plasmid に cloning し、大量発現株を作製したところ、特に、propionate 存在下での *hilA* 発現が大きく低下した。これらの結果から、*yieP* は propionate による *hilA* 発現抑制に関与するが、必ずしも必須ではなく、これと独立な抑制経路が併存していることが示唆された。今後、*yieP* mutant を出発材料とした secondary mutagenesis によって、この抑制を完全に失う変異株を再スクリーニングし、そのような経路を同定することを計画している。*yieP* は、ゲノム解析の結果、存在が判明した ORF に過ぎないが、予想されるアミノ酸配列から、AraC Type の転写因子と考えられる。このことから、YieP 産物は propionate、またはその代謝産物を Co-factor とし、特定の DNA 配列に結合することでターゲット遺伝子の発現制御を行う、という作用機序が考えやすい。今後、*yieP* については、直接の Co-factor の同定、結合する DNA 配列、直接のターゲット遺伝子の特定、が課題である。（中山周一、渡辺治雄）

Ⅲ. ビブリオに関する研究

（1）平成 １６年度に同定、血清型別などを依頼された *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株

平成 １６年度に同定、血清型別、生物型、遺伝子型別および病原因子の検索の依頼を受けた *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株は 198 株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus*、*V. fluvialis*、*V. vulnificus* および *V. parahaemolyticus* が含まれ、38.4%(76)は国外（米国-13、インド-63）から依頼された。国内株は *V. chole*rae non-O1, non-O139 が主で、血清型別依頼菌株の大部分は患者由来株であった。（荒川英二、田村和満；沖津忠行、鈴木理恵子（神奈川衛研））

（2）*Vibrio vulnificus* の抗 O 免疫血清の作成

V. vulnificus の血清型として既報の O1～O7 について抗血清を作成するため、血清型参照株の加熱死菌体を抗原として日本白色種ウサギに投与した。得られた抗血清について、全ての参照株に対して凝集反応を試みた。その結果、特異的な反応を示し、血清型別に利用可能であった。凝集反応力価を考慮して適宜生理食塩水で希釈し、凝集反応試験用血清とした。（森田昌知、田村和満、荒川英二、泉谷秀昌、渡辺治雄）

（3）*V. vulnificus* の O 血清型別

V. vulnificus 感染症の患者より分離された 14 株、沿岸海水、魚介類等の環境由来の 103 株について血清型別を試みた。患者由来株については、O1～O7 のいずれかの血清型しか認められなかった。その内訳は、O4a が最も多く 4 株、次いで O1 が 3 株であった。環境由来株についても、26 株の O4a が最も多く、O1 が 18 株と続いた。しかしながら、型別不能であった株が 21 株存在した。（森田昌知、田村和満、荒川英二、廣瀬健二、渡辺治雄）

（4）*V. vulnificus* の患者株と環境株の遺伝型の比較

V. vulnificus は汽水域などの環境中からも多数分離される菌である。また、分離された菌株のほとんどが、ヒトに対する病原因子と考えられる cytolysin-hemolysin を保持している。患者由来株と環境由来株のゲノム構造を解析すべく、パルスフィールド電気泳動(PFGE)法を用いて、それぞれのバンドパターン(RFLP)に類似性がないかを解析した。患者由来株、計 27 株の半数は血清型 O4 で占められており、病原性株が特定の血清型に偏る傾向は *V. vulnificus* においても存在するのかもしれない。しかし、血清型 O4 の PFGE-RFLP パターンが同一あるいは極めてよく似た株は同一患者の別集落の株以外には認められなかった。また、環境由来株にも患者由来株と PFGE-RFLP パターンが同一あるいは極めてよく似た株は認められなかった。血清型の異なる菌株についてはその PFGE-RFLP パターンも異なっていた。（荒川英二）

Ⅳ. 赤痢菌に関する研究

（1）日本国内で分離された赤痢菌の同定

2004 年 4 月から 2005 年 3 月に日本で分離され国立感染症研究所細菌第一部に送付された赤痢菌の同定・血清型別検査を行った。送付された菌株は３８株であった。これらの生化学性状を検査し血清型を決定した。また、大腸菌と赤痢菌の鑑別の依頼は、３件で、これらには生化学性状試験に加え遺伝子検査を行い、大腸菌と鑑別した。（廣瀬健二、田村和満、寺嶋淳、泉谷秀昌、高井信子、渡辺治雄）

（2）赤痢菌病原遺伝子の発現調節機構の解析

赤痢菌の病原性に必須な TypeIII 分泌装置 を構成する Mxi-Spa,Ipa 蛋白は病原性プラスミドにコードされており、プラスミド上のアクチベーターである VirF 及び InvE を介して転写が活性化される。当研究は *mxi* 遺伝子の転写が低下する Tn*10* 変異体を分離し、二成分制御系 CpxRA のセンサーをコードする *cpxA* 遺伝子を同定した。この変異体では InvE の mRNA は正常な一方、蛋白の発現が低下しており、解析の結果 *cpxA* 変異体では翻訳レベルで蛋白発現が低下していることが示された。また *mxi*遺伝子群のプロモーターの調節機構の解析に流動研究員の寺岡秀興が加わり解析を開始した。（三戸部治郎　寺岡秀興　渡辺治雄）

（3）赤痢菌の細胞内侵入後の細胞骨格の維持機構に関する研究

赤痢菌は細胞内に侵入するが、侵入部位にアクチンをはじめとする細胞骨格に関する分子が集積し、ファゴサイトーシス様機構で細胞質内に入り込む。侵入後は、菌は細胞質内を動きながら増殖し、隣接細胞に伝播を繰り返す。赤痢菌の病原性プラスミド上の遺伝子 *ospE2* が変異を起こすと、菌が侵入した宿主細胞の細胞骨格の異常、つまりアクチン線維の分断が起こり、細胞の形態が rounding-up した。*ospE2* が正常な菌においては、細胞がプレートとコンタクトする部位に FAK,talin 等の細胞骨格因子が集積しているのに対し、*ospE2* 変異株においてはそれらの分子の集積が見られなくなっていた。また、隣接細胞への伝播の低下も起こっていた。*OspE2* は赤痢菌が侵入した細胞の形態維持に関与していることが考えられる。（三浦雅史（協力研究員）、寺嶋淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、渡辺治雄）

Ⅴ．レンサ球菌に関する研究

（1）日本における 2003 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2003 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌の菌株総数は、2697 株であり、すべての株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、T4 (572/2697, 21.2%)、T12 (547/2697, 20.3%)、T1 (355/2697, 13.2%)、T3 (200/2697, 7.4%)、T28 (199/2697,

7.4%)であった。T4、T12、T1 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。T3 型は、2000 年から増加傾向にある。(2000, 0.4%; 2001, 1.1%; 2002, 5.6%; 2003, 7.4%)。T28 型の分離比率は、2000 年以降ほとんど一定である(2000, 7.0%; 2001, 7.3%; 2002, 7.1%; 2003, 7.4%)。昨年、分離頻度の高かった T25、TB3264 型は、2003 年減少した。T6 は昨年に引き続き増加傾向にある。T9 型は、昨年に引き続きの減少傾向にある。(池辺忠義、渡辺治雄、平澤恭子 (福島衛研)、鈴木理恵子 (神奈川衛研)、遠藤美代子 (東京都健康安全研究センター)、田中大祐 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、冨田正章 (山口環境保健研究センター)、緒方喜久代 (大分衛生環境研究センター)、The Working Group for Group A Streptococci in Japan)

(2) 日本における劇症型 A 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の *emm* 型別

2003 年、16 症例報告があり、そのうち 12 症例が劇症型溶血性レンサ球菌感染症の診断基準を満たしていた。T1 分離株 7 例は、*emm* 遺伝子はすべて *emm1* と相同性を示し、M 血清型別でもすべて M1 型であった。2003 年、T3 型が 1 例で分離され、*emm3.1* (M3)であった。T12 (NIH248), T22 (NIH236), TB3264(NIH238)分離株の *emm* の塩基配列は、それぞれ、*emm12* (M12), *emm22.2* (M22), *emm89*(M 型別不能)であった。T 型別不能であった分離株 (NIH245)の *emm* 遺伝子の塩基配列は、*stg485* (M 型別不能)であった。(池辺忠義、渡辺治雄、平澤恭子 (福島衛研)、鈴木理恵子 (神奈川衛研)、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター)、田中大祐(富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、冨田正章 (山口環境保健研究センター)、緒方喜久代 (大分衛生環境研究センター)、The Working Group for Group A Streptococci in Japan)

(3) 日本における劇症型 G 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の *emm* 型別

2003 年、劇症型 G 群レンサ球菌感染症は 1 例の報告があった。2002 年に引き続き、この分離株の *emm* 遺伝子型を行った結果、*stc36* と 100%一致した。(池辺忠義、渡辺治雄、平澤恭子 (福島衛研)、鈴木理恵子 (神奈川衛研)、遠藤美代子 (東京都健康安全研究センター)、田中大祐 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、冨田正章 (山口環境保健研究センター)、緒方喜久代 (大分衛生環境研究センター)、The Working Group for Streptococci in Japan)

(4) 日本における劇症型 B 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の血清型別

2003 年、劇症型 B 群レンサ球菌感染症は 2 例の報告があった。これらの株の血清型は、それぞれ、V 型(NIH227)、Ib 型(NIH239)であった。(池辺忠義、常　彬、渡辺治雄、平澤恭子 (福島衛研)、鈴木理恵子 (神奈川衛研)、遠藤美代子 (東京都健康安全研究センター)、田中大祐 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、冨田正章 (山口環境保健研究センター)、緒方喜久代 (大分衛生環境研究センター)、The Working Group for Streptococci in Japan)

(5) 日本における *emm49* 型 *Streptococcus pyogenes* による劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症起因菌について

2000 年から 2003 年において、1999 年以前に劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症起因菌として分離されなかった *emm49* 型 *Streptococcus pyogenes* による劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症が 5 例(2000 年 1 例、2002 年 3 例、2003 年 1 例)発生した。これらの株について、制限酵素 *Sma*I 処理によるパルスフィールド電気泳動 (PFGE) を行ったところ、NIH200, NIH211, NIH230 については PFGE のパターンに違いが見られなかった。一方、その他の株の PFGE パターンはこれらのパターンと異なっていた。また、これらの分離株が特異的に保有している毒素遺伝子を見出せなかった。(池辺忠義、渡辺治雄、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター))

Ⅵ. レジオネラに関する研究

(1) *Legionella pneumophila* のヒト肺胞上皮 II 型細胞への侵入様式における IV 型分泌装置 (Icm/Dot) の役割の研究

Legionella pneumophila 野生株の 2 株 (80-045 および JR32) と、その Icm/Dot 変異株の、ヒト肺胞上皮 II

型細胞(A549)への侵入率および侵入様式の差を調べた。野生株の侵入率と比較すると、変異株の侵入率は感染早期に低く、感染後期には高くなることが観察された。この結果から、野生株と変異株の侵入様式は異なり、Icm/Dot の変異によって *L. pneumophila* の細胞への侵入様式が変化することが示唆された。さらに、侵入阻害剤による阻害実験では、野生株は Icm/Dot-dependent molecule の媒介により細胞に侵入するが、Icm/Dot 変異株は α_2 macroglobulin レセプター媒介性 microfilament-dependent pathway によって細胞内に侵入することが明らかとなった。(常　彬、前川純子、倉　文明、渡辺治雄)

(2) *Legionella pneumophila* の接着因子 LaiA のレセプターの探索

Legionella pneumophila はレジオネラ肺炎を引き起す細胞内寄生菌である。我々はレジオネラのヒト肺胞上皮 II 型細胞への接着および侵入に関わる遺伝子 laiA を同定した。この接着因子の肺胞上皮細胞のレセプターについて調べている。(常　彬、前川純子、倉　文明、渡辺治雄)

(3) *Legionella dumoffii* の産生する蛍光物質についての遺伝学的解析

ア) レジオルリン合成酵素系の遺伝学的探索

我々が同定した新規蛍光物質であるレジオルリンは、その構造からポリケチド化合物であると考えられた。ポリケチド化合物は放線菌などが合成する二次代謝産物で、放線菌においてはⅠ型ポリケチド合成酵素によりマクロライド環をもつポリケチドが合成され、II 型ポリケチド合成酵素により芳香環をもつポリケチドが合成されることが知られている。トランスポゾンミュータジェネシスにより、レジオルリンを産生しない株を複数得たところ、いずれもⅠ型ポリケチド合成酵素と相同性のある領域に挿入変異が生じていた。したがって、レジオルリンは芳香環を有するイソクマリン化合物であるにもかかわらず、I 型ポリケチド合成酵素系により合成されていると考えられた。(前川純子、早川洋一(東理大・薬)、倉　文明、常　彬、渡辺治雄)

イ) レジオルリン合成系の制御についての遺伝学的解析

トランスポゾンミュータジェネシスによりレジオルリンの産生量が数分の一に減少している変異株を解析したところ、サルモネラの病原因子を制御する二成分制御系の転写因子 *sirA* の ortholog に挿入変異が生じていた。その遺伝子をプラスミドにクローニングし、*L. dumoffii* に導入したところ、レジオルリンの産生量が増大した。レジオルリン合成遺伝子系を正に制御している本遺伝子を *falA* (fluorescence activator of *Legionella*)と名付けた。(前川純子、倉　文明、常　彬、渡辺治雄)

(4) *Legionella pneumophila* (*Lp*)感染におけるマウス系統差

種々の近交系マウス８種に *Lp* を鼻腔内投与し、4 日後の肺の生菌数を測定した。C57BL10 や AKR マウスは肺からすみやかに菌が排除されたが、B10.A/SgSnSlc マウスと CBA マウスでは肺からの菌の排除が遅れた。さらに、この B10.A/SgSnSlc マウスと C57BL/6 マウスと交配させ得られた F1 マウスおよび N1F1 マウスを解析した結果、菌の排除が遅れる現象が単一遺伝子座により制御されていた。*Lp* 80-045 株のみならず JR32 株をはじめ他の *Lp* SG1 の臨床由来株においても同様の現象が見られた。(小林静史、倉　文明、前川純子、山本直樹(東京医科歯科大院医歯学総合研究科)、渡辺治雄)

(5) 循環式浴槽水の *Legionella pneumophila* 血清群(SG)1

近年いくつかのレジオネラ症の集団感染事例を通じて、循環式浴槽の塩素消毒が進み、相対的にレジオネラ属菌の検出率は低下してきている。一方、その集団感染事例の起因菌となってきた *L. pneumophila* SG1 の年度別の推移はこれまで明らかでなかった。そこで、平成 13～14 年度の浴槽水のレジオネラ属菌株の種類を、市販の免疫血清で同定されていなかったレジオネラ属菌株を含め詳細に同定した。その結果、不明株として保存されていた浴槽水由来 48 株の 94%は *L. pneumophila* で、群別不能株と SG7 が多かった。平成 8 年～12 年度に比べ、平成 13 年度は *L. pneumophila* SG1 分離株の割合が増え、検体当りの *L. pneumophila* SG1 の陽性率も増加した。〔倉　文明、前川純子、常　彬；鈴木敦子、市瀬正之(東

京都予防医学協会検査研究センター)〕

（6）レジオネラの検査

ア）行政検査

レジオネラ症集団発生疑いの患者血清 5 検体、尿 5 検体、喀痰 2 検体及び浴槽水 2 検体、冷却塔水 2 検体の検査を行った。臨床検体からは喀痰培養陰性、血清抗体価陰性、尿中抗原陰性であった。浴槽水からは不検出だったが、冷却塔水から 690～2100 CFU/100 mL のレジオネラ属菌が検出された。喀痰培養、喀痰や尿中抗原からは、むしろ肺炎球菌感染が陽性であった。(前川純子、倉文明、和田昭仁)

イ）その他の検査

温泉旅行後に肺炎をきたした患者の BAL　1検体及び血清 2 検体の検査を行ったが、レジオネラの DNA 陰性で血清抗体価の上昇は見られなかった。(倉　文明、前川純子、和田昭仁；横田恭子（国立国際医療センター・エイズ治療研究開発センター))

Ⅶ. 髄膜炎菌に関する研究

(1)髄膜炎菌識別マーカー、γ-glutamylaminopeptidase 遺伝子(*ggt*)の淋菌ホモログ（*ggh*）に関する解析

髄膜炎菌の近縁菌である淋菌には GGT 活性は見出されておらず、その遺伝子も存在しないものと推定されていたが、淋菌染色体上に髄膜炎菌 *ggt* 遺伝子と 90%以上の相同性を保持する偽遺伝子(gonococcal *ggt* homologue;*ggh*)として例外なく存在していることを見出した。さらに淋菌と髄膜炎菌の *ggt* 遺伝子とその周辺遺伝子の遺伝子配列の相互比較した結果、*ggt* 遺伝子を含む周辺遺伝子の配列順序が髄膜炎菌と淋菌で 100%同一であることが見出された。また、淋菌 *ggh* 遺伝子のプロモーター領域の塩基配列も髄膜炎菌 *ggt* 遺伝子と 100%同一で実際に転写活性を保持しており、転写活性を保持した原核生物の偽遺伝子として初めて原核生物で初めて同定された。生物進化的観点から *ggt* 遺伝子と周辺遺伝子を含む DNA 領域が髄膜炎菌と淋菌に取り込まれた後、進化上で淋菌の *ggt* ホモログは構造遺伝子内に変異を蓄積して不活化される一方で髄膜炎菌の *ggt* 遺伝子は機能を維持されてきた可能性が推測された。(高橋英之、渡辺治雄)

（2）本年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の分子疫学的解析

2004 年 1 年間に感染研に収集された、患者 16 名、健常者 1 名から分離された髄膜炎菌 17 株の分子疫学的解析を行なった。その結果、ST-23 が 6 株、ST-687 が 3 株、ST-3506 が 2 株、ST-198 が 2 株、ST-2162、ST-3709、ST-7、ST-823 が 1 株ずつであった。昨年度までの解析結果と合わせて考察しても日本国内には ST-23 が最も多く分布している結果が推測された。また、ST-3506、ST-3709 といった日本固有の遺伝子型も新たに検出されており、日本国内には未同定の遺伝子型の髄膜炎菌株が未だ潜在している可能性も示唆された。さらに、ST-7 は中国より帰国した患者より検出され、かつて中国で流行を起こった遺伝子型と一致したため、中国からの輸入感染例であることが強く示唆された。(高橋英之、渡辺治雄)

Ⅷ. エルシニア、ペスト菌に関する研究

（1）LAMP 法を用いたペスト菌の迅速診断法の確立

ペスト菌の検出方法としてはマッコンキー寒天培地等の腸内細菌選択培地を用いた培養検出が主たる方法となっている。しかし、自然発生以外にもバイオテロの可能性が示唆される場合も想定し、迅速で鋭敏な検出系の確立が求められていた。そこで、Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法を用いてペスト菌の迅速、簡便、そして鋭敏な迅速検出法の確立を試みた。プラスミノーゲンアクティベーター遺伝子(*pls*)をターゲートとし、プライマーを設計して検出を試みた結果、感染研で保管されているペスト菌 8 株に対して等しく陽性反応を示した。またペスト菌の類縁菌である、*Yersinia pseudotuberculosis*、*Yersinia enterocolitica* に対しては陰性反応を示し、ペスト菌特異的に陽性判定が出ることが確認された。さらに、ペスト菌の希釈溶液を用いた実験では理論上 1 菌体の反応液中でも陽性反応が認められ、LAMP 法の鋭敏性が確認された。今後はプラスミド性の *pla* 遺伝子ではなく、他の染色体性の病原遺伝子をターゲットとした Taqman PCR 法による迅速診断系を確立していく予定である。(高橋英之、渡辺治雄)

（2）ニューキノロン耐性仮性結核菌と PCR clamping

法を用いたニューキノロン耐性ペスト菌の迅速検出法の開発

PNA と呼ばれる、DNA 類似の構造をもつ非天然の化合物を用いた PCR clamping 法を用いて、バイオテロで使用される可能性が考えられるペスト菌のニューキノロン耐性ペスト菌の迅速検出系の確立を試みた。ペスト菌の類縁菌である仮性結核菌のニューキノロン耐性株を用いて検討した結果、ニューキノロン耐性ペストの DNA gyrase の遺伝子 *gyrA* の変異三種と同一の変異に対してはニューキノロン感受性のものと比較して完全に区別して検出された。更に小さいコロニーを形成した菌を100℃での処理によって破壊する操作のみで調製した粗DNA抽出液を用いた場合においても精製DNAを用いた時と同様の感度を示すことも確認され、より簡便に検出可能であることも確認された。この PCR clamping 法により、従来の培養法に要した 3 日間の検査時間を 3 時間に大幅に短縮することが可能となった。今後はさらに時間の短縮が可能な他の系を検討し、より迅速な診断系を確立していく予定である。(高橋英之、廣瀬健二、渡辺治雄)

Ⅸ. ブドウ球菌に関する研究

(1) 黄色ブドウ球菌のグリコペプタイド耐性に関する研究

実験室で得られたグリコペプタイド耐性菌に見つかった *tcaA* 変異が、臨床分離グリコペプタイド低感受性株にも存在するすることを明らかにした。また、この変異とは別の変異 *tcaR* もグリコペプタイドの感受性に変化をもたらすことを発見した。(和田昭仁 H. Maki, N. McCallum, M. Bischoff, B. Berger-Bächi [チューリヒ大])

Ⅹ. レプトスピラ、ボレリアに関する研究

(1) レプトスピラ leucine rich repeat タンパク質の解析

レプトスピラゲノム中には，タンパク質―タンパク質相互作用に関与する leucine rich repeat をもつ遺伝子が多数存在し，またそれらはシグナル配列を持っていることから，これら遺伝子産物の細胞接着への関与を調べるための実験を行った。LRR タンパク質の 1 つ LRR3342 を大腸菌で発現すると大腸菌の HeLa 細胞への接着が促進した。現在 3342 に対する抗血清を作製し，レプトスピラの細胞接着へ LRR3342 の関与を調査している。(小泉信夫，渡辺治雄)

(2) 各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

関東 3 県および静岡県の計 12 ヶ所で捕獲したドブネズミ 78 頭中 4 頭(2 ヶ所)からレプトスピラが分離され，*Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageni と同定された．アライグマから分離されたレプトスピラ 2 株について性状解析を行った結果，2 株とも *Leptospira interrogans* serovar Hebdomadis と同定され，血清型 Hebdomadis の遺伝的多様性が明らかになった。そのほか，イヌ(東京都)，ブタ(沖縄県)からのレプトスピラの分離を試みたが，結果はすべて陰性であった。 (小泉信夫，谷川力 (イカリ消毒技術研究所)，林栄治(東京医科歯科大学大学院)，今岡浩一 (獣医科学部)，水谷浩志 (東京都動物愛護相談センター)，長谷川徹 (東京都動物愛護相談センター)，新田芳樹 (沖縄家衛試)，廣瀬和彦 (明治製菓生物産業研究所))

(3) レプトスピラ症疑い検体の抗体価測定

レプトスピラ症疑いの 22 検体について顕微鏡下凝集試験により抗体価の測定を行い，このうち 7 検体が抗体価陽性であった。小泉信夫，渡辺治雄

(4) ライム病ボレリアの病原性解析

ライム病は全身性の慢性感染を引き起こす細菌感染症である。全身性感染を引き起こすメカニズム解明のため、遺伝子欠損変異株の表現形質を調べ、特定の領域と全身移行性の相関を一部明らかにした。本領域(Lp28-3)の欠損により、感染後の組織集積性は保たれているが、感染部位からの血中移行性に差がある事、即ち Lp28-3 領域には感染部位より全身へ移行する過程を促進する因子がコードされている可能性が示唆された。(川端寛樹、渡邉治雄)

(5) ライム病ボレリアの実態調査

沖縄県内で捕獲された野鼠に吸着しているミナミネズ

ミマダニから高率にライム病ボレリアが分離された。41個体のミナミネズミマダニを捕獲、うち3個体からボレリアが分離された。また同地域で捕獲された野鼠からも高率にボレリアが分離されている(7/63, 11.1%)。本ボレリアは台湾、タイ、韓国、中国で分離された *Borrelia valaisiana* に近縁なボレリアであることが遺伝学的解析で明らかになった。(川端寛樹、角坂照貴(愛知医科大学)、藤田博己(大原研究所)、新田芳樹(沖縄県畜産試験場)他)

(6) 紅斑熱群リケッチアの実態調査

沖縄県で捕獲された野鼠、およびミナミネズミマダニよりリケッチアを分離、Multi-Locus Sequencing Typing法、抗血清に対する反応性により紅斑熱群リケッチア *Rickettsia honei* もしくは本種に近縁な *Rickettsia* sp.と同定した。本リケッチアに対する捕獲野鼠抗体陽性率はドブネズミ(17/20, 85.0%)、クマネズミ(4/6, 66.7%)、ジャコウネズミ(1/10, 10.0%)であった。本リケッチアは吸血後、脱皮したミナミネズミマダニからも分離された事から、ミナミネズミマダニを主な媒介種とする可能性が示唆された。本リケッチアは、国内で分離された *Rickettsia* 属細菌6種(*R.japonica, R.helvetica*, *Rickettsia* AT-type, *Rickettsia* IO-type, *Rickettsia* LON-type, *R.canadensis*)に続き7種目となる。(川端寛樹、角坂照貴(愛知医科大学)、藤田博己(大原研究所)、新田芳樹(沖縄県畜産試験場)他)

(7) ボレリア、リケッチア、エーリキアなどの節足動物媒介性感染症の実態調査

国内でのマダニ媒介性感染症起因菌の実態調査のため、*Ixodes* 属ダニ、*Haemaphysalis* 属ダニ、*Carios* 属ダニ、*Amblyomma* 属ダニ計419個体を野外より採取、国内および近隣諸国で見出されているボレリア、エーリキア、アナプラズマ、リケッチア各病原体について、国内浸潤状況を調べた。北海道では、ヤマトマダニ(陽性率；59.4%)、シェルツェマダニ(7.3%)から、青森県でも同じくヤマトマダニ(52.4%)、シェルツェマダニ(33.3%)から、山梨県ではヤマトマダニ(50.0%)からそれぞれボレリアDNAが検出されている。なお、試験を行ったHaemaphysalis属10種103個体からは、ボレリアDNAは検出されなかった。紅斑熱群リケッチアDNAは北海道、青森県、福島県、山梨県、兵庫県、鹿児島県、及び沖縄県で採取された、Haemaphysalis属及びAmblyomma属のダニからそれぞれ検出された。北海道、青森県、及び福島県では、ヤマトチマダニ(各々100.0%、28.6%、33.3%)から、兵庫県ではフタトゲチマダニ(95.7%)から、鹿児島県ではオオトゲチマダニ(33.3%)、イエンチマダニ(100.0%)、ヤマアラシチマダニ(50.0%)から、沖縄県ではカメキララマダニ(100.0%)からリケッチアDNAが検出されている。エーリキアDNAは青森県、山梨県で採取されたヤマトマダニ(それぞれ14.3%、20.0%)から検出されている。一方、現在までアナプラズマは検出されていない。(川端寛樹、渡邉治雄、安藤秀二(ウイルス一部)、岸本寿男(ウイルス一部)、高野愛(日本大学)、藤田博己(大原研究所)他)

(8) ボレリア、レプトスピラ、エルシニアなどの動物由来感染症の実態調査

動物由来細菌感染症について、国内野鼠の病原体保有状況調査を行っている。平成16年度捕獲頭数は、北海道：28、青森：41、山形：14, 福島：2, 長野：52, 福井：10, 兵庫：3, 島根：96(内、隠岐島：15)、徳島：6, 鹿児島：61(内、屋久島：9、トカラ列島中之島：45), 沖縄西表島：2、計315頭である。レプトスピラ：捕獲野鼠315頭中4頭(分離陽性率=1.3%)で病原性レプトスピラが分離された。分離種flaB遺伝子塩基配列決定により長野分離3株は *Leptospira interrogans* と同定された。島根分離株は未同定である。分離陽性個体はいずれもアカネズミであった。ライム病ボレリア：徳島、鹿児島で捕獲された野鼠より病原体分離を試み、捕獲野鼠1頭耳組織より *Borrelia japonica* が分離された。鹿児島県種子島捕獲野鼠より *B.tanukii* が分離されている。この他、リケッチア属、フランシセラ属、エーリキア属、エルシニア属細菌について検出を試みている。この他、共同研究者である丸山らは、捕獲野鼠の内試験に供した25頭中14頭から *Bartonella* 属細菌を分離した。本バルトネラ属細菌はこれまで見出されているネコひっかき病、塹壕熱起因菌とは異なっていた。(川端寛樹、高橋英之、小泉信夫、渡邉治雄、藤田博己(大原研究所)、高田伸弘(福井大学)、本田俊郎(出水保健所)、御供田睦代(鹿児島

県環境保健センター)、丸山総一（日本大学）他多数）

ＸＩ．セラチアに関する研究

（1）セラチア病原性因子の探索

尿路感染症の起因菌である、*Serratia marcescens* は尿路感染症や集団院内感染の原因菌であるが、その感染経路解明に関する研究は、国内外を問わずあまり行なわれていない。

現在セラチアでは、二つのゲノムプロジェクトが進行している。この２株のゲノム比較解析により、ゲノム間には多数の variation があることがわかった。セラチアの病原性因子として、現在、線毛の形成、溶血毒産生(ヘモリジン)、タンパク質分解酵素等が知られている。しかし、株間におけるこれらの活性の多様性については、知られていない。そこで、これらの活性を定量化する系を構築し､臨床分離株(27 株)とその他の株(39 株)における、細胞溶解活性と、溶血活性を調べた。その結果、両活性とも多くの多様性が観られた。この多様性と、株間との関係を明らかにするために､現在､MLST(分子系統解析)による解析を行っている。（志牟田　健、渡辺治雄）

ＸⅡ．口腔内細菌に関する研究

（1）*Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成能に関与する遺伝子の検討

平成１５年度に行った横浜市在住の親子（３歳児と母親）の口腔より単離され、PFGE パターンの異なった１７種類の *S. mutans* のバイオフィルム形成能を流路系の実験方法（フローセルシステム）にて検討した。その結果、FSC-3 のようなバイオフィルム形成能の高い株と FSC-4 のようなバイオフィルム形成能の低い株を見つけることができた。この２菌種を用いて、バイオフィルム形成時の遺伝子発現パターンを調べるために､16 時間培養後の RNA サンプルを用いたマイクロアレイを行った。その結果、FSC-3 おいて FSC-4 よりも発現量が８倍以上増加した遺伝子（bacitracin transport ATP-binding protein *glrA*, putative immunity protein B*Lp*L-like, 他）や減少した遺伝子（PTS system IIA, B, C and D, Na+ driven multidrug efflux pump, 他）を明らかにした。これらの遺伝子はバイオフィルムの増加や減少に関わる遺伝子と考えられ、現在ミュータント株を作製してこれらの遺伝子の機能を明らかにすることを検討中である。(茂木瑞穂、米沢英雄、渡辺治雄、泉福英信)

（2）*Streptococcus gordonii* 菌体表層蛋白質(SspB)のミミックペプチドの菌体付着抑制効果

口腔バイオフィルム形成には、他の口腔細菌とともに Streptococci の歯表面への付着が重要な役割を果たしている。なかでも *Streptococcus gordonii* は歯表面への初期付着能が高い細菌として知られている。平成１５ 年度から引き続き、*S. gordonii* 菌体表層蛋白質(SspB)の付着領域から合成した 390-T400K-402 ペプチド（400 番目のアミノ酸 T が K に置換したミミックペプチド）が、唾液成分の結合したハイドロキシアパタイト(sHA)への *S. gordonii*、*S. mutans* や *Streptococcus mitis* の結合にどのように影響するか検討を行った。その結果、SspB 390-T400K-402 ペプチドは、*S. gordonii* と *S. mutans* の sHA への結合を約 50%阻害した。しかし、*S. mitis* の結合には影響しなかった。このペプチドは、oral streptocopcci の歯表面への付着を制御するために有用であると考えられた。（泉福英信、奥田健太郎、中尾龍馬、渡辺治雄）

（3）*S. gordonii* SspB ペプチドの唾液アグルチニンへの結合におけるリジン置換の影響

S. gordonii の菌体表層蛋白質(SspB)の SspB(390-T400K-402)ペプチドは、唾液アグルチニン（gp-340/DMBT1）のペプチド（SRCRP2）と強く結合する。この結合には、リジン置換による陽電荷表出が影響していることが考えられている。このペプチドをさらにリジン置換し、結合量が上昇するか検討を行った。MOE Chemical Computing Graphics を使用してリジン置換により表層にαヘリックス構造上陽電荷を一列に表出する６つのペプチドを合成した。ペプチドと SRCRP2 ペプチドとの結合は、BIAcore バイオセンサーを用いて解析した。２か所をリジンにて置換した SspB(390-A393K-T400K-402) は、１か所置換の SspB(390-T400K-402)ペプチドよりも結合が約４倍高くなった。他のペプチドでは変化がなかった。リジン置換とその位置に依存した陽電荷の付与は、SspB ペプチドの唾液アグルチニンへの結合に影響を与えることが明ら

かとなった。（木庭秀彦、中尾龍馬、泉福英信）

（4）Oral streptococci の菌種菌株間におけるバイオフィルム形成能の検討

本研究ではStreptococciの5菌種5菌株(*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*)を用いて、バイオフィルム形成能の違いについて検討を行った。唾液コートしたフローセルに菌を接種し、その後TSB　w/o dextrose+0.25%sucrose の流動下において１６時間培養し、LIVE/DEAD® BacLightTM にて染色後、コンフォーカルレーザー顕微鏡により形態の観察を行った。*S. mutans* はドーム状、*S. sobrinus* は卵状、*S. sanguinis* は珊瑚状のバイオフィルムを形成した。一方、*S. salivarius* と *S. gordonii* は、平べったく厚みのないバイオフィルムを形成した。このように、それぞれのStreptococci の中で菌種の違いでバイオフィルムの形態が違うことが明らかとなった。（田村昌平、茂木瑞穂、中尾龍馬、泉福英信）

（５）*Enterococcus faecalis* による *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成阻害効果

Enterococcus faecalis(EF)の超音波破砕抽出液（SE）は、濃度依存的に *S. mutans* のバイオフィルム形成を阻害することが明らかとなった。そこで阻害物質が何であるかを明らかにする目的で、SE を熱処理したものおよび飽和硫酸アンモニウムによる塩析により抽出したものを利用して、阻害効果を検討した。その結果、熱処理したものは阻害効果が消失し塩析抽出したものは SE と同様の阻害効果を有していた。これらからバイオフィルム形成阻害物質は、タンパク質である可能性が考えられた。現在、この物質の精製を行っている。（熊田昌幸、米沢英雄、中尾龍馬、泉福英信）

（6）歯周組織の状態と *S. mutans* の歯表面付着阻害抗体との関係

平成１５年度に引き続き、唾液 PAc(361-386)ペプチドに対する抗体が歯周検査における指標とどのように関係するか解析をおこない、歯周組織の状態とこの抗体との関係について検討を行った。新潟市在住 74 歳の高齢者 100 名を無作為に抽出し、調査対象とした。そのうちデータの得られた 87 名(男性 60 名)を分析対象者とした。さらに、2 年後（62 名）、３年後（６９名）の同じ被験者の結果も併せて検討を行った。抗体価の高いグループ（＞2^2）と低いグループ（＜2^2）に分け、１人あたりの歯石付着部位、最大歯周ポケットの深さ（PD）、最大付着歯肉の減少量（AL）において、グループ間の比較を行った。その結果、プロービング時の出血(BOP)や PD 値において低いグループと高いグループに差が認められなかったが、AL 値（4 mm 以上：低: 38.2±27.7%, 高；20.4±19.7%、6mm 以上: 低; 11.6±16.6%, 高; 2.4±4.6%)においては 5%危険率で有意差が認められた。また、２年後３年後も同様に差が認められ、この唾液抗体を検査することは、歯周状態の予知に利用できる可能性が示唆された。（泉福英信、多田章夫（千葉市健康企画課)、宮崎秀夫（新潟大学））

（7）歯周病原性口腔バイオフィルム由来ＬＰＳの迅速診断法を用いた口腔の健康と全身状態との関係

本研究は口腔バイオフィルム内病原因子である LPS を迅速診断するシステムを開発し、LPS 量の測定、歯周病の進行症状、全身の健康状態との関連性を明らかにすることを目的として研究を行った。LPS の定量は、エンドスペシーES24S セットを用いて行った。歯周ポケットが平均 3mm 以上の被験者において、剥がされたバイオフィルム内 LPS 濃度と出血率が歯周ポケット 3mm 未満の被験者よりも高い傾向となった。よってこの方法は口腔バイオフィルムの歯周病に対するリスク因子である LPS を測定するために有用な方法であると同時に平均 3mm 以上のポケットの深さと LPS の量と出血の程度になんらかの関連があることが明らかとなった。このような研究は、歯周病のリスク診断につながり口腔保健を推進するにあたり有用な情報を提供する。（泉福英信、早乙女裕彦）

（8）歯科医療における院内感染対策の現状について

平成 16 年度厚生科学研究班において、関東２県の歯科医師会に所属する歯科医師 4047 人に対し院内感染対策の意識および現状を把握する目的でアンケート調査を実施した。803 人から回答があり、その結果、院内感染対策の基本であるユニバーサルプレコーションを理解し

ている割合が約 10%と低く、また防護用メガネ、マスク、グローブの全てを着用して診療している割合がいずれも約 31%と低いことが明らかとなり、現状の歯科医療における院内感染に対する意識が低いことが考えられた。研修を受けたグループは受けないグループよりも院内感染対策の認識が高くなる傾向が認められ、情報発信の重要性が再確認された。(泉福英信、多田章夫 (千葉市健康企画課)、小森康雄 (東京医科大学))

(9) *Porphyromonas gingivails* 外膜タンパク Omp85 ホモログの歯周病進展への関わり

昨年度から引き続き、歯周病細菌 *P. gingivails* の Omp85 ホモログについて研究を行っている。Omp85 は全てのグラム陰性細菌に保存され、細菌外膜の構築において重要な役割を果たすと考えられている菌体外膜タンパクである。昨年度までは *P. gingivails* Omp85 ホモログ(PG0191)の 14 回膜の外膜貫通型という立体構造予測を元に、大腸菌由来組換え PG0191 タンパクを得て、PG0191 と交叉反応性を示すウサギポリクローナル抗体の作製した。ELISA および金コロイドによる免疫電顕観察により菌体表層における本分子の局在性を示した。この PG0191 は生命維持に必須の分子と考えられる為、今後は PG0191 の条件致死変異株の作製し、PG0191 の生物学的役割を明らかにして、歯周病の疾患進展への関与を検討する予定である。(中尾龍馬、田代陽介、野村暢彦(筑波大学)、泉福英信)

(10) *galE* 変異が引き起こす *Porphyromonas gingivails* のバイオフィルム過形成と LPS 改変

歯周病細菌が形成するバイオフィルムにおいては、*P. gingivails* の多糖生合成経路は重要な役割を担うと考えられる。本研究では、まず *Salmonella typhi* の多糖生合成に関連する *wecA*, *wbaP*, *galE*, および wzt シーケンスから BLAST にて、*P. gingivails* における各ホモログを同定した。それぞれの遺伝子につき、変異株を作製し、LPS プロファイルやバイオフィルム形成への影響などを検討した。各変異株はどれも野生株と同様の増殖曲線を描いたが、培地にガラクトースを添加すると *galE* 変異株のみが増殖できなかった。*galE* 変異株では、一部の抗菌薬に対する感受性が上昇した。*wecA* 変異株と *galE* 変異株で、それぞれ LPS の O 多糖ラダーのシフトと O 多糖の著しい減少が観察された。また *galE* 変異株のバイオフィルム形成能は 2 倍以上増強した。*galE* 変異株における O 多糖の著明な減少とバイオフィルムの過形成より、*P. gingivails* バイオフィルムにおけるガラクトース代謝経路の重要性が示唆された。(中尾龍馬、泉福英信)

(11) *Pseudomonas aeruginosa* における Omp85 homolog の解析

環境常在菌である *Pseudomonas aeruginosa* は、免疫力の低下している宿主に対して急性感染症を引き起こす日和見感染の原因菌として知られている。近年多くのグラム陰性菌で homolog の存在が報告されている Omp85 は、*Neisseria menigitidis* において研究が盛んに行われている。*N. menigitidis* における Omp85 は生育に必須な膜タンパクであり、また様々な Outer Membrane Protein (OMP) の集合に関連していることが明らかとなっている。そこで *P. aeruginosa* における Omp85 homolog の機能解析及び病原性への関連性の検討を目的とし、研究を行ってきた。これまでに *P. aeruginosa* PAO1 における *omp85* 遺伝子欠損株を作製し、Omp85 は生育に必須であること、また Omp85 欠損状態で OMP の量が低下することを明らかにした。今年度は Omp85 を精製し Omp85 に対するポリクローナル抗体作製を行った。今後は Omp85 における OMP 集合機構の詳細を解析していく予定である。(田代陽介、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦(筑波大学))

(12) 免疫不全マウスにおけるヒト免疫システムの構築

近年、SCID マウスなどの免疫不全マウスを用いて、マウスにヒトの免疫システムを再構築することができるようになってきている。しかしながら、再構築できるヒトの免疫システムは完全なものではないことが知られている。1 次免疫応答を常に誘導できるヒトの免疫システムを再構築することを最終目的として、NOD/SCID β2 マイクログロブリンノックアウトマウス (NOD/SCID β2m KO マウス) にヒト造血幹細胞を移植する実験を行っている。これまでの研究で、臍帯血あるいは脾臓のリンパ球を NOD/SCID β2m KO マウスの腹腔に注射すると、ヒトの免疫系 (T および B 細胞) を構築できる

ことを観察している。しかしながら、臍帯血や脾臓の入手は容易でないことから、抹消血リンパ球の移植を検討した。CD8 陽性 T 細胞を除去した抹消血リンパ球を移植すると、ヒト免疫系が構築できることがあった。しかしながら、CD8 陽性 T 細胞を除去してあるにもかかわらず、GVH と思われる反応によって、NOD/SCID β2m KO マウスが移植後数週間で死んでしまう例が多く、１次免疫応答を解析できる実験系として確立することはできていない。GVH を抑制する新たな方法論の開発が必要と思われる。（千葉丈（東京理科大学)、中尾龍馬、泉福英信）

ⅩⅢ. 結核菌に関する研究

（1）結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

昨年度に続き、2 次抗結核薬である Capreomycin (CPM)、Cycloserine (CS)、Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)、Emviomycin (EVM) について ATP 法による薬剤感受性試験の有用性を検討した。ATCC 標準結核菌株を用いて再現性を確認後、臨床分離結核菌 55 株を用いて ATP 法の信頼性を調べた。ATP 法と寒天比率法との判定結果の一致率は、CPM 96.4%、CS 96.4%、TH 89.1%,PAS 94.1%、VM 98.2%と高く、二次抗結核薬についても、ATP 法は、迅速で正確な結核菌の薬剤感受性試験であることを確認した。(山崎利雄；山下研也、岡沢　豊（極東製薬工業))

（2）新しい結核のワクチン開発に関する研究

BCG-Tokyo 株に結核菌由来 Ag85a の分泌シグナルを付加した抗原遺伝子を、ベクターに組み込んだプラスミッドをもつ rBCG をモルモットに皮下接種し、結核菌 H37Rv 株 10～20cfu/匹を噴霧感染して結核菌防御能を調べた。rBCG を 10^4cfu/匹に接種した場合には、PBS 群に比べて臓器の還元培養の結果から、明らかに結核菌防御能が見られた。また、rBCG(pMV261-SM)の方が、rBCG (pMV306-SM)より強い結核菌防御能であった。（山崎利雄、芳賀伸治；宮本友司、稲垣勝也、牧野正彦（病原微生物部))

（3）飼いイヌの臓器由来の結核菌の RFLP 分析

昨年度、飼い主が結核患者であり、安楽死の処置がとられたイヌの肺、気管リンパ節、肝臓より結核菌を分離した。犬の各臓器由来の結核菌と飼い主から分離された結核菌の RFLP パターンは、完全に一致した。また、スポリゴタイピング法でも同一パターンを示し、北京ファミリーの結核菌であり、*M. bovis* や *M. bovis* BCG では無いことも確認された。イヌの結核症は非常に稀であり、RFLP 分析の結果、飼い主から感染したものであろうと推察された。(山崎利雄、芳賀伸治、渡邊治雄、神山恒夫（獣医科学)、高橋光良（結核研究所）宇根有美（麻布獣医科大学))

（4）リコンビナント BCG-HIV ワクチンの安全性と挿入した *gag* 遺伝子の *in vivo* における安定性

後天性免疫不全症候群(AIDS)の原因ウイルスである HIV 遺伝子の一部(whole *gag* region)を BCG に組み込んだ rBCG-HIV ワクチンをモルモットに静脈内投与し、その安全性と挿入した *gag* 遺伝子の *in vivo* における安定性の解析を行った。rBCG は BCG Tokyo と比較して脾臓からの還元培養、皮膚 DTH 反応、血清中 MPB70 抗体の検出のそれぞれでやや低い成績となった。脾臓組織の侵襲性については rBCG の方が低かった。また rBCG に挿入した外来遺伝子は 90%で残存が確認された。rBCG は BCG Tokyo に比べて生体への侵襲性が低いことから、免疫力が低下した HIV 感染者に対して適用が期待できる。また外来遺伝子が *in vivo* においても長期間維持されていることが証明され、rBCG-HIV ワクチンの *in vivo* 投与の有効性が示唆された。(芳賀伸治、井関博(日本大学生物資源科学部獣医学科獣医臨床病理学研究室)、松尾和浩(科学技術振興事業団)、本多三男(エイズ研究センター))

（5）BCG 東京株ワクチンにおける RD16 領域の異なりについて

BCG 東京株ワクチンにおいて 401bｐのバンドのみを示す株(以降Ⅱ型)を調整し、これをモルモットに静脈内投与して安全性と血中の抗体価を投与後 30 週まで観察した。以前の実験で市販 BCG は 95%以上が 379bp の RD16 領域を保有する株(以降Ⅰ型)であることがわかっていたため、市販 BCG の静脈内投与による実験結果をⅠ型の投与による結果と仮定して比較を行った。Ⅱ型は

Ⅰ型と比較して脾臓からの還元培養、皮膚 DTH 反応、血清中 MPB70 抗体の検出のそれぞれでやや低い成績となった。脾臓組織の侵襲性についてもⅡ型の方が低かった。(芳賀伸治、井関博(日本大学生物資源科学部獣医学科獣医臨床病理学研究室)、山崎利雄、山本三郎(細菌第二部))

(6) ELISPOT 法による BCG 接種モルモットにおける IFN-γ産生細胞の同定

BCG Tokyo 株生菌(0.5mg)を皮下接種したモルモット及び、BCG Tokyo 死菌(0.5mg)を FIA に懸濁して前足下に接種したモルモットに対して、接種 9 週目に、ツベルクリン皮膚反応と末梢血細胞の PPD 刺激による Guinea Pig IFN-γ ELISPOT アッセイを行った。ツベルクリン皮膚反応の発赤径は生菌 BCG 接種(約 13mm), 死菌 BCG 接種(約 16mm)と、両者にほとんど差は認められなかった。一方、末梢血細の Guinea Pig IFN-γ ELISPOT アッセイでは、生菌 BCG 接種(106 個細胞あたり約 1200 スポット), 死菌 BCG 接種(106 個細胞あたり約 100 スポット)が検出された。この結果から、モルモットでは生菌 BCG により、死菌 BCG と比較してより多くの PPD 刺激特異的 IFN-□産生細胞が誘導されることが明らかになった。更に、BCG Tokyo 生菌(30mg)を皮下接種 16 週目に、鼠経部リンパ節から得たリンパ球画分から MACS system によりネガティブセレクションを行い、CD4 除去画分、CD8 除去画分、CD4 および CD8 除去画分に PPD 刺激による Guinea Pig IFN-□ELISPOT アッセイを行った。その結果、リンパ球全体と CD8 除去画分ではスポットが検出されたが、CD4 除去画分、CD4 および CD8 除去画分からはスポットが検出されなかった。従って、PPD 刺激による Guinea Pig IFN-γELISPOT は CD4 陽性細胞と推定された。更に、結核菌の感染実験のデータから、CD4 陽性の IFN-γ産生細胞がモルモットの結核防御において中心的役割を果たしている可能性が示唆された。(山崎剛、山本三郎＊、芳賀伸治、本多三男＊＊ (＊細菌二部、＊＊エイズ研究センター)

XIV. その他

【特許出願】

特願 2004-201503　提出日平成 16 年 7 月 8 日

発明者：倉　文明、前川純子、渡邊治雄、小林静史、高橋朋子

発明の名称：マクロファージのレジオネラ・ニュモフィラ感受性を支配する遺伝子の導入マウス

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

１．欧文論文

1) Ikebe, T., Murayama, S., Saito, K., Yamai, S., Suzuki, R., Isobe, J., Tanaka, D., Katsukawa, C., Tamaru, A., Katayama, A., Fujinaga, Y., Hoashi, K., Watanabe, H., and the Working Group for Streptococci in Japan: Surveillance of severe invasive group G streptococci infections and molecular typing of the isolates in Japan. Epidemiol Infect. 132: 145-149, 2004.

2) Ikebe, T., Endo, M., Ueda, Y., Okada, K., Suzuki, R., Minami, T., Tanaka, H., Nakanishi, N., Tomita, M., Nishie, H., Ishii, N., Sasaki, E., Miura, Y., Yamamura, T., and Watanabe H.: The genetic properties of *Streptococcus pyogenes emm*49 genotype strains recently emerged among severe invasive infections in Japan. Jap J Infect Dis. 57: 187-188, 2004.

3) Morita, M., Ikebe, T., and Watanabe H.: Consideration of the cysteine protease activity for the serological M typing of clinical *Streptococcus pyogenes* isolates. Miclobiol Immunol. 48: 779-782, 2004.

4) Amemura-Maekawa J, Hayakawa Y, Sugie H, Moribayashi A, Kura F, Chang B, Wada A, Watanabe H. Legioliulin, a new isocoumarin compound responsible for blue-white autofluorescence in *Legionella* (*Fluoribacter*) *dumoffii* under long-wavelength UV light. Biochem. Biophys. Res. Commun. 323:954-959. 2004.

5) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N., and Koyama, H.: In vivo role of myeloperoxidase for the host defense. Jpn J Infect Dis 57:S15, 2004.

6) Hideyuki Takahashi, Kenji Hirose and Haruo Watanabe: Necessity of meningococcal γ-glutamyl aminopeptidase for *Neissaria meningitidis* growth in rat cerebrospinal fluid (CSF) and CSF-like medium. Journal of Bacteriology

186:253-257, 2004.

7)Hideyuki Takahashi and Haruo Watanabe: Post-translational processing of *Neissaria meningitidis* γ-glutamyl aminopeptidase and its association with inner membrane facing to the cytoplssmic space. FEMS Microbiol Lett. 234:27-35, 2004

8) Hideyuki Takahashi, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Surang Dejsirilert, Leelaowadee Saengsuk, Shiro Yamai and Haruo Watanabe: Examination of reliability of meningococcal γ-glutamyl aminopeptidase that is an identification marker for *Neissaria meningitidis*. Microbiol. Immunol. 48:485-487, 2004

9) Hideyuki Takahashi, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Hiroshi Tanaka, Hiroo Inouye, Shiro Yamai and Haruo Watanabe: Characterization of *Neissaria meningitidis* isolates collected from 1974 to 2003 in Japan by multilocus sequence typing. J. Med. Microbiol. 53:657-662, 2004.

10) Toma, C., Espinosa, E. M., Song, T., Miliwebsky, E., Chinen, I., Iyoda, S., Iwanaga, M., and Rivas, M.: Distribution of putative adhesins in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of different seropathotypes. J Clin Microbiol. 42: 4937-4946, 2004.

11) Iyoda, S., and Watanabe, H.: Positive effects of multiple *pch* genes on expression of the locus of enterocyte effacement genes and adherence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 : H7 to HEp-2 cells. Microbiology. 150: 2357-571, 2004.

12) Nguyen, B.M., Phung, D.C., Nakasone, N., Toma C., Higa, N., Iyoda, S., and Iwanaga M.: Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in Vietnam. Tropical Medicine and Health 32: 339-341, 2004.

13) Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S., Tamura, K., Watanabe, H. Evolving from PFGE network as PulseNet Japan to participation in PulseNet Asia Pacific. PulseNet News Special Edition, 2004

14) Shima, K., Terajima, J., Sato, T., Nishimura, K., Tamura, K., Watanabe, H., Takeda, Y., and Yamasaki, S. Development of a PCR-restriction fragment length polymorphism assay for the epidemiological analysis of shiga toxin-producing *Escherichia coli*. Journal of Clinical Microbiology; 42, 5205–5213, 2004

15) Okura M, Osawa R, Iguchi A, Takagi M, Arakawa E, Terajima J, Watanabe H. PCR-based identification of pandemic group *Vibrio parahaemolyticus* with a novel group-specific primer pair. Microbiol Immunol. 2004;48(10):787-90.

16) Chang, B., Amemura-Maekawa, Kura, F., J., Kawamura, I., and Watanabe, H.: Expression of IL-6 and TNF-α in human alveolar epithelial cells is induced by invading, but not by adhering, *Legionella pneumophila*. Microb Pathog.37:295-302, 2004.

17) Matsumoto N, Salam MA, Watanabe H, Amagasa T and Senpuku H. Role of gene *E2f1* in susceptibility to bacterial adherence of oral streptococci to tooth surfaces in mice. Oral Microbiology and Immunology 19: 270-276. 2004.

18) Senpuku H, Tada A, Yamaga T, Hanada N, amd Miyazaki H Relationship between volatile sulfur compounds concentration and oral bacteria species detection in the elderly. International Dental Journal.54: 149-153.2004.

19) Tsuha Y, Hanada N, Asano T, Abei T, Yamaguchi S, Salam MA, Nakao R, Takeuchi H, Kurosaki N and Senpuku H. Role of peptide antigen for in duction of inhibitory antibodies to *Streptococcus mutans* in human oral. Clinical Experimental Immunology 137: 393-401. 2004.

20) Kitasako Y, Senpuku H, Kawashima M, Foxton RM, Hanada N and Tagami J, Growth-inhibitory effect of antibacterial self-etching primer on *mutans* Streptococci obtained from arrested caries lesions. Journal of Esthetic and Restorative Dent. 2004 16: 176-184. 2004.

21) Salam MA, Matin K, Matsumoto N, Tsuha Y, Hanada N and Senpuku H. *E2f1* mutation induces early onset of diabetes and sjogren's syndrome in non-obese diabetic mice. Journal of Immunology 173:4908-4918. 2004.

22) Hamada T, Kawashima M, Watanabe H , Tagami J, and Senpuku H. Molecular interaction of surface protein peptides of *Streptococcus gordonii* with human salivary components. Infection and Immunity 72: 4819-4826. 2004.

23) Esaki, H., A. Morioka, A. Kojima, K. Ishihara, T. Asai, Y. Tamura, H. Izumiya, J. Terajima, H. Watanabe, and T. Takahashi. Epidemiological characterization of *Salmonella*

Typhimurium DT104 prevalent among food-producing animals in the Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring program (1999-2001). Microbiol Immunol 48:553-6, 2004

24) Matsui, T., S. Suzuki, H. Takahashi, T. Ohyama, J. Kobayashi, H. Izumiya, H. Watanabe, F. Kasuga, H. Kijima, K. Shibata, and N. Okabe. *Salmonella* Enteritidis outbreak associated with a school-lunch dessert: cross-contamination and a long incubation period, Japan, 2001. Epidemiol Infect 132:873-9, 2004

25) McCallum, N., Bischoff, M., Maki, H., Wada, A., and Berger-Bächi, B.: TcaR, a putative MarR-like regulator of *sarS* expression. J. Bacteriol. 186:2966–2972, 2004.

26) Maki, H., McCallum, N., Bischoff, M., Wada, A., and Berger-Bächi, B.: *tcaA* inactivation; a step to vancomycin intermediate resistance in *Staphylococus aureus* (VISA) clinical isolates. Antimicrob. Agents Chemother. 48:1953–1959, 2004.

27) Masuzawa, T., Hashimoto, N., Kudeken, M., Kadosaka, T., Nakamura, M., Kawabata, H., Koizumi, N., and Imai, Y.: New genomospecies related to *Borrelia valaisiana*, isolated from mammals in Okinawa archipelago, Japan. J Med Microbiol. 53:421-426, 2004.

28) Koizumi, N., and Watanabe, H.: Leptospiral immunoglobulin-like proteins elicit protective immunity. Vaccine 22:1545-1552, 2004.

29) Kawabata H, Norris SJ, Watanabe H.: BBE02 disruption mutants of *Borrelia burgdorferi* B31 have a highly transformable, infectious phenotype. Infection and Immunity. 72(12): 7147-7154, 2004.

30) Güner ES, Watanabe M, Hashimoto N, Kadosaka T, Kawamura Y, Ezaki T, Kawabata H, Imai Y, Kaneda K, Masuzawa T: *Borrelia turcica* sp. nov., isolated from hard tick, *Hyalomma aegyptium* in Turkey. International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology. 54(5): 1649-1952, 2004.

31 ） Terajima,J., Tamura,k., Horose,K., Izumiya,H., Miyahara,M., Konuma,H., and Watanabe,H. A multi-prefectural outbreak of *Shigella sonnei* infections associated with eating oysters in Japan. Microbiol. Immunol. 48: 49-52. 2004.

32) Izumiya,H., Terajima,J., Tamura,K., and Watanabe,H. Drug resistances in non-typhoidal *salmonella*e in Japan. Res. Adv. In Infectious Diseases. 2: 121. 2004.

33) Talukder,K.A., Khajanchi,B.K., Islam.M.A., Dutta,D.K., Islam,Z., Safa,A., Khan,G.Y., Alam,K., Hossain,M.A., Malla,S., Niyogi,S.K., Rahman,H., Watanabe,H., Nair,G.B., Sack,D.A. Genetic relatedness of ciprofloxacin resistant *Shigella dysenteriae* type 1 strains isolated in south Asia. J. Antimicrob. Chemother. 54; 730-734. 2004.

34) Mitobe J., Arakawa E., Watanabe H.: A sensor of the two-component system CpxA affects expression of typeIII secretion system through post-transcriptional process of InvE. J.Bacteriol. 187, 107-113, 2005

35) Furuta Y, Ohtani F, Aizawa H, Fukuda S, Kawabata H, Bergström T.: Varicella-zoster virus reactivation is an important cause of acute peripheral facial paralysis in children. The Pediatric Infectious Disease Journal. 24: 97-101, 2005.

36) Adachi, T., Sagara, H., Hirose, K., Watanabe, H. High-level fluoroquinolone resistance in a clinical isolates of *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A and its association with mutatons in *gyrA* and *parC*. Emerging Infectious Diseases 11:172-174. 2005.

37) Hirose, K., Terajima, J., Izumiya, H., Tamura, K., Arakawa, E., Takai, N., Watanabe, H. Antimicrobial susceptibility of *Shigella sonnei* isolates in Japan and molecular analysis of *S. sonnei* isolates with reduced susceptibility to fluoroquinolones. Antimicrob. Agents Chemother. 49:1203-1205, 2005.

38) Hirose, K., Itoh, K., Watanabe, H. *Salmonella* spp. Encyclopedia of Medical Genomics and Proteomics. p1186-1190. Maurizio Podda ed. Marcel Dekker, NY. 2005.

39) Oharaseki T, Kameoka Y, Kura F, Persad AS, Suzuki K, Naoe S. Susceptibility loci to coronary arteritis in animal model of Kawasaki disease induced with *Candida albicans* -derived substances. Microbiol Immunol. 49:181-189, 2005.

40) Kudaka, J., Asato, R., Itokazu, K., Nakamura, M., Taira, K., Kuniyosi, H., Kinjo, Y., Terajima, J., Watanabe, H., Kobayashi, J., Swaminathan, B., Braden, CR., and Dunn, JR.

Escherichia coli O157:H7 infections associated with ground beef from a U.S. military installation -- Okinawa, Japan, February 2004. Morbid. Mortal. Weelky Rep. 54, 40-42, 2005

2. 和文発表

1) 牧野正彦、鈴木幸一、福富康夫、山下康子、前田百美、宮本友司、向井徹、中田登、甲斐雅規、山崎利雄、儀同政一、松岡正典：ハンセン病基礎研究のトピックス. 日本ハンセン病学会雑誌 74：3～22、2005.

2) 山崎利雄：結核患者であった飼い主から感染した犬の結核の一例報告. BAMS16：6～9、2005.

3) 廣瀬健二,渡辺治雄. 薬剤感受性試験. 食品衛生検査指針 微生物編. p87-95,日本食品衛生協会. 2004.

4) 廣瀬健二,渡辺治雄. 腸チフス、パラチフス. 食品衛生検査指針 微生物編 p315-325, 日本食品衛生協会.2004.

5) 廣瀬健二, 渡辺治雄.腸チフスワクチン. ワクチンの辞典.p230-239, 朝倉書店.2004.

6) 廣瀬健二,渡辺治雄. 腸チフス・パラチフス. 感染症の辞典。p158-160,朝倉書店.2004.

7) 廣瀬健二,渡辺治雄. サルモネラ感染症と反応性関節炎. 最新医.60 巻 2 号。p36(202) -39(205). 最新医学社.2005.

8) 廣瀬健二,渡辺治雄. キノロン薬 実践抗生物質・抗菌薬療法ガイド.縮刷版.p170-176, Medical Practice 編集委員会編. 文光堂.2005.

9) 池辺忠義、多田有希、登坂直規、岡部信彦、渡辺治雄、平澤恭子、田中大祐、鈴木理恵子、勝川千尋、河原隆二、冨田正章、緒方喜久代、遠藤美代子、奥野ルミ。2004 年に分離された劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株について。病原微生物検出情報、25, 254, 2004.

10) 池辺忠義、渡辺治雄、平澤恭子、田中大祐、鈴木理恵子、勝川千尋、河原隆二、冨田正章、緒方喜久代、遠藤美代子、奥野ルミ。劇症型／重症溶血性レンサ球菌感染症患者由来株の薬剤感受性と耐性株の遺伝子型の解析。病原微生物検出情報、25, 254-255, 2004.

11) 勝川千尋、河原隆二、田丸亜貴、田中大祐、遠藤美代子、奥野ルミ、池辺忠義。A 群抗原を保有する *Streptococcus* dysgalactiae subsp. equisimilis。病原微生物検出情報、25, 257-258, 2004.

12) 池辺忠義。劇症型溶血性レンサ球菌感染症。感染症の事典、83-84, 2004.

13) 池辺忠義、渡辺治雄。劇症型溶血性レンサ球菌感染症。新興再興感染症-SARS の教訓-、181-183, 2004.

14) 倉 文明：今ふえているレジオネラ症-その正体と予防対策, 食と健康, 48: 54-63, 2004.

15) 倉 文明、前川純子、渡辺治雄。レジオネラ症。感染症の事典（国立感染症研究所学友会編)、265–266, 朝倉書店、東京、2004.

16) 高橋英之、渡辺治雄、ワクチン-その開発と将来展望、髄膜炎菌ワクチン、臨床検査 48、441-448、2004

17) 周藤 豊, 森 望美, 高橋英之, 渡邊治雄, 中島 健二、中国への海外旅行を契機に発症した髄膜炎～A 群髄膜炎菌性髄膜炎の一例～、Neuroinfection 神経感染症 Vol.9 No.2 2004, 9(2)

18) 高橋英之、渡邉治雄、髄膜炎菌とは、IASR、26 号、P.35-36、2005

19) 高橋英之、渡邉治雄、渡辺祐子、黒木俊郎、田中博、井上博雄、日本国内で分離された髄膜炎菌株の MLST 法を用いた分子疫学的解析、IASR、26 号、P.36-37、2005

20) 渡辺祐子、高橋英之、神奈川県での髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向、IASR、26 号、P.37-38、2005

21) 田中博、井上博雄、黒木俊郎、渡辺祐子、浅井良夫、山井志朗、益川邦彦、大谷勝実、須釜久美子、芹川俊彦、中嶋洋、砂原千寿子、帆足喜久男、山口仁孝、久高潤、高橋英之、渡邉治雄、わが国の健康者における髄膜炎菌の保菌状況、IASR、26 号、P.38-40、2005

22) 伊豫田淳、渡辺治雄。腸管出血性大腸菌の病原性の分子機序。化学療法の領域、20, 59-64, 2004

23) 伊豫田淳、渡辺治雄。病原性大腸菌（下痢原性大腸菌)。食品衛生検査指針・微生物編（分担執筆)。第 2 章細菌。168-178, 2004

24) 高原賢守、伊豫田淳、浅田純子、水本洋、上松あゆ美、羽田敦子、渡辺治雄、田村和
満、秦大資。腸管出血性大腸菌 O177:HNM による溶血性尿毒症症候群の一例。日本小児
科学会雑誌、109, 54-57, 2004

25) 伊豫田淳、田村和満、渡辺治雄。市販血清では同定できない腸管出血性大腸菌の分離状況(2000 年～2003 年)。病原微生物検出情報、25, 141-143, 2004

26) 伊豫田淳、田村和満、渡辺治雄。大腸菌の新規O血清群（O174～O181）に関する情報。病原微生物検出情報、26, 70-71, 2005

27) 寺嶋　淳、泉谷秀昌、渡辺治雄。菌株レベルの同定：パルスフィールドゲル電気泳動法による菌株のサブタイピング。腸内細菌学雑誌、18, 117-122, 2004

28) 寺嶋　淳、渡辺治雄。腸管出血性大腸菌感染症の疫学～日本及び世界における現状。化学療法の領域、20, 1295-1302, 2004

29) 泉福英信、要介護高齢者の口腔微生物叢の改善のための歯科保健医療データバンクの構築、８０２０財団法人８０２０推進財団会誌、1: 85-87, 2004.

30) 泉福英信、小森康雄、鈴木治仁、鈴木信治、内田きよみ、歯科における感染症の現状と対策、デンタルダイヤモンド、29: 34-49, 2004.

31) 泉福英信、SARS を正しく理解するために、東京都歯科医師会雑誌、52: 3-10, 2004.

32) 高田将成、佐藤勉、泉福英信、花田信弘、自立生活高齢者と要介護高齢者の口腔微生物叢の比較、口腔衛生学会誌、54: 178-188, 2004.

33) 武内博朗、阿部井寿人、泉福英信、花田信弘：う蝕の微生物学的リスク低減治療 Dental Drug Delivery System (3DS)による病原口腔細菌の制御；初期う蝕のマネージメント、p117-138、監修小松久憲、クインテッセンス出版、２００４.

34) 石畝史、布施田哲也、重屋志啓盛、京田芳人、 望月典郎、 泉谷秀昌、 渡辺治雄。 多剤耐性 *Salmonella* Newport の国内初報告例。 感染症学雑誌、78, 989-990, 2004.

35) 泉谷秀昌、 渡辺治雄。サルモネラ。 感染症発症動向、16, 2004.

36) 泉谷秀昌 サルモネラ食中毒。家庭医学大全科、2004.

37) 板垣道代、 白木豊、 山田万希子、 所光男、 泉谷秀昌、 渡辺治雄。2000 年 4 月から 2003 年 3 月に岐阜県において検出された *Salmonella* Enteritidis 株の PFGE 型とファージ型の組み合わせによる疫学解析。感染症学雑誌、78, 690-698, 2004.

38) 荒川英二　感染症の事典「細菌性赤痢」、101-102、2004

39) 荒川英二、島田俊雄　感染症の事典「腸炎ビブリオ感染症」、153-154、2004

40) 荒川英二、渡辺治雄　ワクチンの事典「コレラワクチン」、194-203、2004

41) 荒川英二、島田俊雄　食品衛生検査指針「6.腸炎ビブリオ及びその類縁菌」、201-235、2004

42) 荒川英二、島田俊雄　食品衛生検査指針「13-3.コレラ菌および *Vibrio cholerae* O139」、326-334、2004

43) 小泉信夫. レプトスピラ症. 感染症の事典, 267-268, 2004.

44) 小泉信夫，渡辺治雄．レプトスピラ症．日本医師会雑誌臨時増刊号，132:180-181, 2004

45) 小泉信夫, 渡辺治雄. ワイル病秋やみ混合ワクチン. ワクチンの事典，183－193, 2004

46) 増澤俊幸，金田一秀，角坂照貴，小泉信夫，川端寛樹，中村正治，平良勝也，今井康之．ライム病の存在が予期されなかった沖縄で見出されたライム病関連ボレリアの性状．獣医畜産新報，57: 662－664, 2004.

47) 中村正治, 平良勝也, 大野惇, 増澤俊幸, 角坂照貴, 川端寛樹，小泉信夫，藤田博巳．沖縄県におけるレプトスピラ保菌動物調査．日本獣医師会雑誌，57：321-325, 2004

48) 小泉信夫，渡辺治雄．日本におけるレプトスピラ感染症の現状．日本醫事新報，4175: 97-98, 2004.

49) 小泉信夫，渡辺治雄．鼠咬症．共通感染症ハンドブック，150－151, 2004.

50) 小泉信夫，渡辺治雄．ワイル病．化学療法の領域, 20: 220－223, 2004.

51) 小泉信夫，渡辺治雄．鼠咬症．子どもにうつる動物の病気，209－213, 2005

52) 川端寛樹：ライム病．感染症．家庭医学大全科．法研(株). pp 2718-2719, 2004.

53) 川端寛樹：回帰熱．感染症．家庭医学大全科．法研(株). pp 2719-2720, 2004.

54) 川端寛樹：レプトスピラ症（ワイル病）．感染症．家庭医学大全科．法研(株). pp 2772-2773, 2004.

55) 川端寛樹：ライム病．感染症の辞典．pp 251-253, 2004.

56) 川端寛樹：回帰熱．感染症の辞典．pp 40-41, 2004.

57) 渡辺治雄。ペスト。臨床と微生物。31: 31-35.　2004

II. 学会発表

1. 欧文発表

1) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N., and Koyama, H.: *In vivo* role of myeloperoxidase for the host defense. The 4th International Peroxidase Meeting. Kyoto, Japan. October 2004.

2) Iyoda, S., and Watanabe, H.: Multiple *pch* genes encode master regulators essential for the expression of LEE genes in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. 39th US-Japan Cho*ler*a and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. Kyoto, December, 2004.

3) Iguchi, A., Iyoda, S., Watanabe, H., and Osawa, R.: Loss of O side chain induces sensitivity of *Escherichia coli* to a Shiga toxin 2-converting bacteriophage. 39th US-Japan Cho*ler*a and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. Kyoto, December, 2004.

4) Toma, C., Espinosa, E. M., Song, T., Miliwebsky, E., Chinen, I., Iyoda, S., Nakasone, N., Rivas, M. and Iwanaga, M.: Adhesion of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* encoded outside the locus of enterocyte effacement. 39th US-Japan Cho*ler*a and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. Kyoto, December, 2004.

5) Nakao R, Watanabe H, and Senpuku H, Topological prediction and characterization of *omp85* homologue in *Porphyromonas gingivails*. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.

6) Tamura S, Motegi M, Kumada M, Yamazaki T, and Senpuku H, Quantification of the biofilm among the strains of oral streptococci. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.

7) Okuda K, Kumada M, Tamura S, Hanada N and Senpuku H, Effects of SspB-peptide for attachment of *Streptococcus mutans* to s-HA. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.

8) Tominaga A Komori Y, Nakajima J Chiba H, and Senpuku H, Roles of lactoferrin, lactoperoxidase and lysozyme for HIV-1 infection. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.

9) Kumada M, Tamura S, Kawata S, Yamamura H, Tagami J and Senpuku H, Biological effects of lactic acid bacteria to Streotococcus *mutans* biofilm. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.

10) Alam, M., Nakayama, S., and Watanabe, H. : Identification of gatD as a transcription modulator for virF gene expression in Shigella sonnei. 39th US-Japan Cho*ler*a and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. December, 2004. Kyoto.

11) Izumiya H. and Watanabe H.: Topics of *Salmonella* in Japan - characterization of drug
resistant *Salmonella* isolates. 2004 annual Enter-net workshop, Berlin, Germany, Jul. 2004.

12) Konishi N., Kai A., Shimojima Y., Obata H., Shibata M., Monma C., Fujikawa H., Yokoyama K., Kawamura M., Takahashi M., Yano K., Matsushita S., Yamada S., Morozumi S., Izumiya H., and Kudoh Y.: Antibiotic resistance of *Salmonella* recently isolated from human and foods in Tokyo. 39th Joint conference on Cho*ler*a and other bacterial enteric infections panel, Kyoto, Japan, Dec. 2004.

13) Sumio Shinoda, Tomoko Nakagawa, Nobuyuki Hirakawa, Shin-ichi Miyoshi, Eiji Arakawa, T. Ramamurthy Molecular epidemiological analysis of *Vibrio cholerae* strains isolated in India, US-Japan Cooperative Medical Science Program, 2004, Dec, Kyoto

14) Ro Osawa, Masatoshi Okura, Eiji Arakawa, Jun Terajima, Haruo Watanabe Identification of pademic group *Vibrio parahaemolyticus* specific DNA sequence by genomic subtraction, US-Japan Cooperative Medical Science Program, 2004, Dec, Kyoto

15) Maki, H., McCallum, N., Bis*cho*ff, M., Wada, A., and Berger-Bächi, B.: TcaA inactivation leading to reduced glycopeptide susceptibility found in clinical vancomycin intermediate-resistant Staphylococcus aureus (VISA). 11th International Congress on Infectious Diseases,Cancun,

Mexico, 2004.

16) Jiro Mitobe, Eiji Arakawa, and Haruo Watanabe:A Sensor of the Two-Component System CpxA Affects Expression of Type III Secretion System through Post-Transcriptional Process of InvE. 39th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infection Panel. Dec. 8-9, 2004 Kyoto Japan

2. 和文学会

1) 甲斐雅規、山崎利雄、藤田由希子、土井健史、矢野郁也、牧野正彦：らい菌由来糖脂質抗原の分離とその免疫原性の解析. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

2) 山崎利雄､芳賀伸治､佐藤直樹、 山下研也､岡沢 豊、三輪昭成、田村俊秀：結核菌の ATP 測定による多剤併用薬剤感受性試験法の検討. 第 79 回日本結核病学会総会、名古屋、2004 年 4 月.

3) 赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治：結核菌感染ヒトマクロファージにおける NRAMP1 の発現と MAP カイネースの活性化について. 第 79 回日本結核病学会総会､名古屋、2004 年 4 月.

4) 山崎利雄、佐藤直樹、 山下研也、岡沢 豊、三輪昭成､田村俊秀：結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法ー2 次抗結核についての検討. 第 74 回実験結核研究会、名古屋、2004 年 4 月.

5) 山崎利雄、松岡正典、儀同政一：生物発光法を用いたらい菌の薬剤感受性試験法. 第 77 回日本ハンセン病学会、大宮、2004 年 5 月.

6) 山崎利雄、三輪昭成：結核菌の ATP 測定による 2 次抗結核薬を用いた迅速薬剤感受性試験法の検討. 第 31 回 結核・非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2004 年 6 月.

7) 山崎利雄、佐藤直樹、 山下研也、岡沢 豊、三輪昭成：結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法ー2 次抗結核についての検討. 第 51 回日本臨床検査医学会総会、東京、2004 年 9 月.

8) 内藤晴道､横田和也､尾崎佐記､柑本敦子､宇根有美、芳賀伸治、山崎利雄、鹿住裕子、高橋光良：人型結核菌による犬の結核症の 1 例. 第 138 回日本獣医学会学術集会、札幌、2004 年 9 月.

9) 宇根有美､金本英之､内藤晴道､芳賀伸治､山崎利雄、高橋光良：犬の人型結核症の 1 例. 第 138 回日本獣医学会学術集会、札幌、2004 年 9 月.

10) 山崎利雄、芳賀伸治、鹿住祐子、高橋光良：人犬感染が疑われた結核症の一例. 第 146 回日本結核病学会関東支部会、千葉、2004 年 11 月.

11) 山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江 、鹿住祐子、高橋光良 、宇根有実 、内藤晴道：飼い主が感染源と思われた犬の結核例. 第 32 回 結核・非定型抗酸菌治療研究会、東京、2004 年 12 月.

12) 赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治：ヒトマクロファージの結核菌の増殖抑制機構. 平成 16 年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、京都、2005 年 3 月.

13) 山本三郎、芳賀伸治、山崎利雄、山崎剛、関昌明、本田育郎、池田のり子：RD16BCG の DTH 誘導能および抗結核活性. 平成 16 年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、京都、2005 年 3 月

14) 廣瀬健二. 薬剤耐性菌の今-腸管系病原菌を中心として チフス菌・パラチフス A 菌.
第 8 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム 東京 200 年

15) 伊藤健一郎、山下和予、吉川昌江、野地元子、齊藤剛仁、岡部信彦、寺嶋淳、廣瀬健二、渡邊治雄. 赤痢菌同定の問題点：アンケート調査結果. 衛生微生物協議会、埼玉、2004

16) 廣瀬健二 渡辺治雄. 日本国内におけるチフス菌・パラチフスＡ菌の分離状況. 薬剤耐性菌研究会 群馬、2004 年

17) 伊藤健一郎、廣瀬健二、岡部信彦. わが国における赤痢菌の誤同定についての緊急アンケート調査、2003 年. 日本臨床微生物学会総会、京都、2005 年.

18) 廣瀬健二、渡辺治雄、相楽裕子. 日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌の薬剤感受性の傾向. 感染性腸炎研究会総会、東京、2005 年

19) 相楽裕子 廣瀬健二 渡辺治雄. 腸チフスパラチフスの治療に関する調査 2000 から 2003 年. 感染性腸炎研究会総会、東京、2005 年

20) 池辺忠義、鈴木理恵子、磯部順子、田中大祐、冨田正章、緒方喜久代、遠藤美代子、奥野ルミ、渡辺治雄. 劇症型／重症溶血性レンサ球菌感染症分離株の薬剤感受性と非感受性株の遺伝子型の解析. 第 77 回日本細菌学

会総会，大阪，2004 年.

21) 池辺忠義、渡辺治雄．劇症型／重症溶血性レンサ球菌感染症起因株の薬剤感受性と *emm* 型．2004 年レンサ球菌感染症研究会，東京，2004 年.

22) 前川純子，倉　文明，常　彬，渡辺治雄．*Legionella dumoffii* の産生する新規蛍光物質の同定．第 77 回日本細菌学会総会，大阪，2004 年.

23) 村井美代，前川純子，渡辺治雄．黄色ブドウ球菌の臨床分離株にみられるフィブロネクチン結合タンパク遺伝子の多型．第 77 回日本細菌学会総会，大阪，2004 年.

24) 小林静史、倉　文明、前川純子、高橋朋子、渡辺治雄：*Legionella pneumophila* 感染における *Lgn1* 遺伝子の機能についてコンジェニックマウスを用いた解析，第 77 回日本細菌学会総会，大阪、2004 年 4 月。

25) 倉　文明、前川純子、八木田健司、遠藤卓郎、池野まり子、辻　英高、田口真澄、小林一寛、渡辺治雄：客船に関連したレジオネラ症の集団発生における感染源の分子疫学，第 78 回日本感染症学会総会，東京、2004 年 4 月。

26) 荒谷康昭，倉　文明，渡辺治雄，高野幸枝，鈴木和男，小山秀機：ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスの生体防御能，ミニシンポジウム講演，第 26 回日本フリーラジカル学会学術集会，山形、2004 年 6 月。

27) 関山敦生、上田晴康、倉　文明、柏村信一郎、武田雅俊、岡村春樹：拘束ストレスによる血中 IL-18 レベルの上昇，第６９回日本インターフェロン・サイトカイン学会，三沢、2004 年 7 月。

28) 関山敦生、上田晴康、倉　文明、柏村信一郎、武田雅俊、岡村春樹：ストレス負荷による血中サイトカインレベル上昇機構の検討，日本過酸化脂質・フリーラジカル学会 / 第 28 回大会、京都、2004 年 10 月。

29) 倉　文明：レジオネラ症　菌の性状・疫学・検査法、平成 16 年度特定研修新興再興感染症技術研修（国立保健医療科学院）、東京、2004 年 11 月。

30) 倉　文明：レジオネラ症-その正体と予防対策-、レジオネラ症防止対策講習会（郡山市保健所生活衛生課主催）、郡山、2005 年 2 月。

31) 高橋英之、黒木俊郎、渡辺祐子、渡辺治雄.1974-2003 年における国内で分離された髄膜炎菌株の MLST 法を用いた分子疫学的解析、、第 77 回日本細菌学会　2004 年 4 月、大阪市

32) 周藤 豊，森 望美，高橋英之，渡邊治雄，中島 健二．中国への海外旅行を契機に発症した髄膜炎～A 群髄膜炎菌性髄膜炎の一例～、第 9 回日本神経感染症学会　2004 年 10 月、弘前市

33) 細川直登、矢内充、上原由紀、荒島康友、吉田省造、伊藤暢厚、野田彰浩、山口順子、和泉徹、矢越美智子、下口和雄、高橋英之、渡邉治雄．endotoxin 吸着療法を行い救命し得た *Neissaria meningitidis* 電撃性紫斑病の一例、第 53 回日本感染症学会東日本地方総会及び第 51 回日本化学療法学会東日本支部総会、2004 年 10 月、新潟市

34) 高原賢守、浅田純子、水本洋、飯田みどり、上松あゆ美、羽田敦子、秦大資、伊豫田淳、田村和満．軽症下痢翌日発症の腸管出血性大腸菌 O177 による溶血性尿毒症性症候群の 1 例．第 17 回近畿小児科学会，大阪，2004

35) 伊豫田淳、渡辺治雄．腸管出血性大腸菌に多コピー存在する *perC* 遺伝子による LEE 遺伝子群の発現制御機構．日本細菌学会第 77 回総会，大阪，2004

36) 寺嶋　淳：細菌性食中毒における分子生物学的識別。JICA 臨床検査技術研修講義、2004 年 11 月、東京

37) 寺嶋　淳、泉谷秀昌、伊豫田　淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄：2003 年における O157:H7 を中心とした EHEC の動向について。第 77 回日本細菌学会総会、2004 年 4 月、大阪

38) 井口　純、大澤　朗、寺嶋　淳、渡辺治雄：腸管出血性大腸菌 O157 に溶原化する Stx2 ファージ DNA の入れ替わり現象。第 77 回日本細菌学会総会、2004 年 4 月、大阪

39) 小椋義俊、黒川　顕、大西　真、中山啓介、寺嶋　淳、渡辺治雄、林　哲也：Whole Genome PCR Scanning とマイクロアレイを用いた EHEC ゲノムの比較解析。第 77 回日本細菌学会総会、2004 年 4 月、大阪

40) 大岡唯祐、大西　真、寺嶋　淳、小椋義俊、中山啓介、渡辺治雄、林　哲也マルチプレックス PCR を用いた迅速な O157 菌株識別システムの開発。第 77 回日本細菌学会総会、2004 年 4 月、大阪

41) 大倉正稔、大澤　朗、井口　純、荒川英二、寺嶋　淳、渡辺治雄：新興型腸炎ビブリオ同定用 PCR 法の開発。第 77 回日本細菌学会総会、2004 年 4 月、大阪

42) 常　彬、倉　文明、前川純子、渡辺治雄。レジオネラ感染のヒト肺胞上皮 II 型細胞に対するサイトカインの発現・分泌への誘導作用。 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年

43) 泉福英信、中尾龍馬、渡辺治雄、唾液分泌低下遺伝子組み換えマウスを用いた oral streptococci による歯面付着の検討、第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年、4 月.

44) 川田真裕、嶋川真木、大野裕史、山村秀樹、花田信弘、渡辺治雄、泉福英信、*Streptococcus mutans* の初期付着およびバイオフィルム形成に及ぼす乳酸菌の影響、消化器プロバイオティクスシンポジウム'04, 東京、2004 年、 4 月。

45) 泉福英信、多田章夫、津覇雄三、葭原明弘、宮崎秀夫、歯周疾患における *S. mutans* の歯表面付着阻害抗体の意義、第 53 回口腔衛生学会総会、盛岡、2004 年、9 月.

46) 泉福英信、第 20 回日本歯科医学会総会、シンポジウム 10 高齢者に対する口腔ケア、口腔ケアによる口腔微生物叢の変化、2004 年 10 月。

47) 泉福英信、日本農芸化学会関東支部若手シンポジウム、「Cell-Cell Communication と複合系」、分子生物学的手法による口腔バイオフィルム系の解析と制御、2004 年 11 月 1 日

48) 武内博朗、早川浩生、奥田健太郎、野村義明、泉福英信、花田信弘、3DS と化学療法の併用による歯周病関連菌の除菌、第 53 回口腔衛生学会総会、盛岡、2004 年、9 月.

49) 早乙女裕彦、山崎統資、加藤友久、植松宏、泉福英信、吸引装置付き歯ブラシの歯垢カンジダへの効果、第 53 回口腔衛生学会総会、盛岡、2004 年、9 月.

50) 茂木瑞穂、高木裕三、花田信弘、泉福英信、*Streptococcus mutans* 臨床分離株を用いたバイフィルム形成評価法の確立、第 46 回日本歯科基礎医学会、広島、2004 年 9 月.

51) 熊田昌幸、田村昌平、田上順次、泉福英信、乳酸菌による *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成阻害の評価、第 46 回日本歯科基礎医学会、広島、2004 年、9 月.

52) 田村昌平、茂木瑞穂、山崎統資、泉福英信、Oral streptococci の菌種菌株間のバイオフィルム形成能の検討、第 46 回日本歯科基礎医学会、広島、2004 年、9 月.

53) 奥田健太郎、花田信弘、泉福英信、*Streptococcus gordonii* 由来 PAc 類似領域ペプチド: SspB 390-402, 400 (K) の特性、第 46 回日本歯科基礎医学会、広島、2004 年、9 月.

54) Senpuku H. Human Th1 and Th2 cell responses to oral streptococci in humanized NOD/SCID mice: 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会、札幌、2004 年 12 月.

55) 中山周一、久代 明、田中 隆一郎、渡辺 治雄：サルモネラのグリセロールデヒドロゲナーゼとその基質／産物が *hilA* 遺伝子発現に及ぼす影響について。第 77 回日本細菌学会総会、2004 年、4 月、大阪。

56) 久代明、中山周一：病原遺伝子の発現と環境因子との関わり、第１３回腸内フローラシンポジウム、「腸内フローラと感染・免疫」、2004 年、10 月、東京。

57) 長田真理子、佐多辰、谷川力、加藤行男、壁谷英則、丸山総一、泉谷秀昌、渡邉治雄、黒木俊郎. クマネズミから分離された *Salmonella* Typhimurium の毒力の比較。第 137 回日本獣医学会学術集会、神奈川県、2004。

58) 泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄. 2002 年における *Salmonella* Enteritidis のファージ型別および薬剤耐性の傾向。第 77 回日本細菌学会総会、大阪府、2004 年。

59) 泉谷秀昌、寺嶋淳、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄. 最近の腸管出血性大腸菌感染症の発生動向について。衛生微生物技術協議会第 25 回研究会、埼玉県、2004 年。

60) 泉谷秀昌. サルモネラの薬剤耐性について。平成 16 年度希少感染症診断技術研修会、東京都、2005 年。

61) 田口真澄、勢戸和子、神吉政史、塚本定三、泉谷秀昌、渡辺治雄. 多剤耐性 *Salmonella enterica* serovar Typhimurium definitive phage type 104 による大規模食中毒事例。第 44 回感染性腸炎研究会総会、東京都、200 年。

62) 大倉正稔, 大澤朗, 荒川英二, 寺嶋淳, 渡邊治雄 ゲノムサブトラクション法による新興型腸炎ビブリオ特異的遺伝子の検索, 第 38 回腸炎ビブリオシンポジウム, 2004, 11 月, 岡山

63) 山崎貢、松本昌門、秦真美、松井博範、榮賢司、鈴

木康元、岩出義人、荒川英二、伊藤健一郎、宮崎豊. 腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒素類似毒素(TDH-related hemolysin:TRH)陽性株の分布及び TRH 遺伝子の塩基配列解析について、第 78 回日本感染症学会総会、2004、4 月、東京

64) 和田昭仁 黄色ブドウ球菌 PBP のイミペネムに対する反応性 第 2 回薬剤耐性菌研究会, 群馬、2004 年.

65) 小泉信夫, 渡辺治雄. レプトスピラ感染防御抗原 Lig タンパク質の解析. 日本細菌学会総会, 大阪, 2004 年.

66) 小泉信夫, 大部宏子, 谷川力, 牧野敬, 林栄治, 渡辺治雄. ドブネズミおよびアライグマ分離レプトスピラの性状解析.. レプトスピラシンポジウム, 大阪, 2004 年.

67) 内田正紀, 小泉信夫, Okatani Alexandre Tomomitu, 加藤行男, 渡辺治雄. アライグマにおけるレプトスピラの保有状況と分離株の性状解析. 日本獣医学会学術集会, 北海道, 2004 年.

68) 三戸部治郎　渡辺治雄：二成分制御系センサーCpxA を介した赤痢菌病原遺伝子の転写後調節。日本細菌学会総会、東京　2005 年

69) 丸山総一, 井上快, 山田直樹, 壁谷英則, 見上彪, 佐藤雪太, 川森文彦, 大橋典男, 増沢俊幸, 角坂照貴, 高田伸弘, 藤田博己, 小泉信夫, 川端寛樹. 日本の野鼠に分布する *Bartonella* 属菌と同定法の開発. 日本獣医学会学術集会. 2005 年 3 月.

70) 川合さなえ, 山中新也, 藤沢智美, 清島真理子, 川端寛樹. 遊走性紅斑を呈したライム病の 1 例. 日本皮膚学会東海地方会. 2004 年 12 月.

71) 川端寛樹. 野生齧歯類とレプトスピラ症. 学術フロンティア「人獣共通感染症のサーベイランスと制御」シンポジウム. 2004 年 11 月.

72) 川端寛樹. ダニと鳥の感染症：ダニに起因する感染症. 日本鳥学会 2004 年度大会. 2004 年 9 月.

73) 川端寛樹. 細菌・ウイルスが引き起こす人獣共通感染症. 山階鳥類研究所セミナー. 2004 年 7 月.

74) 川端寛樹,藤田博己,榊原省司,増澤俊幸,鶴見みや古, 渡邉治雄: 奄美諸島における回帰熱,レプトスピラ調査. 第 12 回 SADI（ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー）. 2004 年 6 月.

75) 増澤俊幸,渡邉むつみ,Ece S. Guner,角坂照貴,河村好章,江崎孝行,川端寛樹,今井康之,金田一秀. 回帰熱ボレリアとライム病ボレリアの中間に位置する新種 Borrelia turcica の性状. 第 41 回レプトスピラシンポジウム.2004 年 4 月.

76) 川端寛樹,渡邉治雄. 制限修飾遺伝子破壊株による形質導入とその感染性. 第 41 回レプトスピラシンポジウム.2004 年 4 月.

77) 榊原省司,増沢俊幸,川端寛樹. gyrB 解析によるレプトスピラ血清型推定法の開発.第 41 回レプトスピラシンポジウム.2004 年 4 月.

78) 川端寛樹,榊原省司,今井康之,増澤俊幸,藤田博己,渡邉治雄. 奄美諸島におけるレプトスピラの浸潤.第 41 回レプトスピラシンポジウム.2004 年 4 月.

79) 増澤俊幸,渡邉むつみ,河村好章,川端寛樹,今井康之, 金田一秀,江崎孝行：回帰熱ボレリアとも,ライム病ボレリアとも異なる新規なボレリア Borrelia turcica sp. nov. . 日本細菌学会総会（大阪）. 2004 年 4 月.

80) 山崎　剛, 山本三郎, 芳賀伸治, 本多三男結核防御免疫におけるモルモット IFN-γ及び CD4 double positive T 細胞の意義, 第 73 回実験結核研究会総会, 2004, 4 月, 名古屋

5.細菌第二部

部長　荒川宜親

概　要

細菌第二部は、第一室(旧抗生物質製剤室)、第二室(旧、安全性研究部無菌性制御室)、第三室(旧細菌製剤第三室)、第四室（旧細菌製剤第一室)、第五室（旧安全性研究部生物統計室、旧細菌製剤第二室)の５つの室から構成され、抗生物質製剤、DPT ワクチン、抗毒素製剤、BCG 製剤、精製ツベルクリンなどの力価試験などの品質管理業務（国家検定、国家検査、一斉監視指導収去検査、特別審査、依頼検査など）ならびにそれに必要な標準品の製造などを担当している。また、ウイルスワクチンを含む生物学的製剤の無菌試験、エンドトキシン試験などに従事し、同時に、生物学的製剤の試験結果の解析、評価などに関し生物統計学的側面からの支援を行ってきた。さらに、これらの生物学的製剤等の試験・検査、品質の向上に関わる各種の研究業務に従事した。さらに、日本薬局方の無菌試験法、エンドトキシン試験法などの改定に専門的な視点から協力と支援を行った。一方、国際協力の面では、WHO、JICA、国立国際医療センターの各種海外プロジェクトに協力し、同時に研修生等の受入れや技術研修などの支援を行った。特に、WHO の“Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products”として、

(1) Standardization and making recommendations on the calibration of test methods for the quality control of biological products and other related activities. (2) Standardization and calibration of reference preparations for the quality control of biological products. (3) Training in methods to be used for the quality control of biological products. (4) Collaboration and consultation with other national and international standard setting organizations.などを行った。

平成 14 年度より細菌第二部へ組織再編された後は、細菌学、細菌感染症学の研究部として細菌の病原性（薬剤耐性を含む)、細菌感染症の病態、細菌感染症の診断・予防・治療など広範にわたる研究が推進されている。また、生物学的製剤の品質管理技術の向上を目指して、種々検討や研究が行われた。

品質管理業務及び研究実績の詳細については各製剤担当室毎に後述するが、部として取り組んだ主要な業務や代表的な研究課題などを以下に示す。

１．厚生労働省による「院内感染対策サーベイランス事業」への専門的な視点からの支援

２．特定疾患の IgA 腎症などの特定疾患と微生物感染症との関連性についての研究

３.アジア諸国における細菌ワクチン製剤の品質管理の向上に関する国際協力および共同研究

４.海外、主としてアジア地域における感染症の診断、予防などに関する技術支援。

５．国内の医療施設で分離された薬剤耐性菌の遺伝子型別などの詳細な解析に関する技術支援

その他、ジフテリア菌、百日咳菌、破傷風菌、*Helicobacter pylori*、*Bartonella quintana*、*Haemophilus influenzae* などの病原細菌の分離･同定、病原性や病原因子、検査法、疫学などにかかわる様々な研究が実施された。

研究業務としては、厚生科学研究費補助金による各種の研究事業に協力し、さらに、新興・再興感染症研究事業、医薬安全総合研究事業、ﾋｭｰﾏﾝｻｲｴﾝｽ財団国際研究グラント事業など各種の研究事業による研究に参加した。また、文部科学研究費補助金による様々な研究等が実施された。

常勤職員の異動としては、平成１７年３月３１日付けで小澤良之主任研究官が退職した。細菌第二部に客員研究員として木ノ本雅通、石田説而、協力研究員として黒川博史、川村久美子、黒川博史、小島 禎、土井洋平、八木哲也、山口佳宏、瀬戸幸路、坂本 崇、川端敏之、山本

十糸子、陳 平紆、大石和恵、高塚尚和、井上雅可、沼田昇、流動研究員として石川暁志、木村幸司、和知野純一、研究生として、本間　操、山田友紀、畑中公基、加藤宗博　脇本寛子、松永和代らが在籍し、細菌感染症に関する様々な研究を行った。臨時職員（事務補助、研究補助）として、瀬川晶子、甲斐久美子、横川滋子、南條友子、粕谷裕子、吉村由美子、増田まり子、久保田眞由美、長岡芳昭、岡宮洋子、井口由美子、豊生幸子、豊泉裕美、片岡紀代（村山分室庶務課在籍）らが在籍し、事務補助、研究補助等に従事した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．抗生物質に対する耐性菌に関する研究

１．メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の検出と国内で初めて分離された新型 IMP-19, 20 型メタロ-β-ラクタマーゼの遺伝子解析

メタロ-β-ラクタマーゼは、カルバペネム系薬を含むほとんどすべての抗生物質を加水分解する強力な酵素であるため、臨床的に問題となっている。我が国では、IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌が圧倒的に多いことが明らかとなっているが、臨床分離株から我が国で初めて IMP-19 型および IMP-20 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生株を検出した。さらに遺伝子解析を行った結果、これらはクラス型インテグロン構造に担われており、同時にアミノグリコシド耐性遺伝子も保有しており、多剤耐性菌として問題になると考えられる。[柴田尚宏、横川滋子、荒川宜親]

２．CTX-M 型β-ラクタマーゼ遺伝子タイピングの解析

検査依頼のあった臨床分離グラム陰性桿菌を用い、ディスク拡散法でβ-ラクタマーゼ産生を推定し、PCR 法により遺伝子タイピングを試みてきた。その結果、CTX-M-1 型、CTX-M-2 型さらに CTX-M-9 型の３つのグループに分かれることが明らかとなったがさらに解析を進め、シークエンス解析から CTX-M-2 型、CTX-M-3 型、CTX-M-9 型、CTX-M-14 型が多く存在することを明らかとした。これらの菌は、院内感染も引き起こす可能性もあり、臨床上注意を要すると考えられた。[柴田尚宏、鈴木里和、横川滋子、荒川宜親]

３．CTX-M 型βラクタマーゼ産生大腸菌 O25 の広域伝播に関する解析

全国の医療機関より送付された CTX-M-型βラクタマーゼ産生大腸菌のなかで血清型 O25, O86 のものが多く、地理的に隔離していても遺伝子型（PFGE）が類似している事を明らかにした。さらに血清型 O86 が散発的であるのに対し、血清型 O25 が集団発生といった形をとりやすいこと傾向も明らかになってきた。同一株による耐性菌の広域伝播がわが国においても発生している可能性があり、また伝播性に関しても菌による特性が存在する可能性があり、現在菌株および関連情報の収集および分子疫学的調査を進めている。また、大腸菌の O 抗原と ESBL 産生との間の関連についての検討も行っている。[鈴木里和、柴田尚宏]

４．アミノグリコシド高度耐性を示す臨床分離株の解析

臨床分離されたアミノグリコシドに高度耐性を示す腸内細菌について 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有の有無を確認した。方法はアルベカシン含有ディスクを用いて阻止円の形成が認められない菌に対して既存の 16S rRNA メチラーゼを multiplex PCR 法で確認した。その結果、一医療施設から分離された大腸菌が *rmtB* 陽性と判定された。[山根一和、甲斐久美子、荒川宜親]

５．16S rRNA メチラーゼ産生菌の保有状況の全国調査

2004 年 9～10 月の 2 ヶ月間に全国の 169 施設で分離された 87,626 株について 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有状況を調べた。その結果、アミカシンの MIC 値が 32μg/ml 以上の 481 株についてアルベカシン含有ディスクを用いたスクリーニングを行った後に 16S rRNA メチラーゼの有無を PCR 法によって調べたところ、27 株が PCR 陽性と判定された。その内訳は RmtA 陽性株が緑膿菌 17 株、ArmA 陽性株は合計 9 株で、その内訳は *Acinetobacter baumannii* 4 株、大腸菌 2 株、*K. pneumoniae* 1 株、*Enterobacter aerogenes* 1 株、*E. cloacae* 1 株であった。RmtB 陽性株は最も少なく、大腸菌の 1 株のみであった。対象となった 169 施設のうち 1 株でも 16S rRNA メチラーゼ産生菌が分離された施設は 16 施設（9.5%）であった。さらに複数の同一菌種が分

離された施設は 4 施設あり、うち 3 施設ではパルスフィールド電気泳動法によって同一の菌株に由来する菌が複数認められた。これは 16S rRNA メチラーゼ産生菌の院内伝播による院内感染を疑わせ、院内感染の原因になりうる事を示している。[山根一和、甲斐久美子、和知野純一、鈴木里和、柴田尚宏、加藤はる、横川滋子、吉村由美子、荒川宜親]

6．リネゾリド耐性腸球菌の耐性機序の解析

バンコマイシン耐性腸球菌の治療薬として用いられるリネゾリドは日本では耐性菌の出現は確認されていなかったが、リネゾリドを長期投与された患者から分離された *Enterococcus faecium* は感受性検査でリネゾリド耐性を示した。耐性のメカニズムは従来から報告されている 23S rRNA 遺伝子の 2576 番目の塩基が G→T に変異したためであった。この患者からはリネゾリド感性菌も分離されており PFGE の結果同一の菌株由来であることが判明した。感性菌と耐性菌を共存させリネゾリド非存在下で培養すると 5 回の継代培養で感性菌のみとなった。また感性菌と比較して耐性菌の増殖曲線は感性菌よりも対数増殖期の入るタイミングが遅いことが分かった。[山根一和、甲斐久美子、荒川宜親]

7．血液から分離されたグラム陽性菌の菌名同定

患者血液から分離されたグラム陽性球菌を 16S rRNA 遺伝子の塩基配列によって菌名同定した。その結果、このグラム陽性菌は *Tsukamurella* 属に属することが判明した。[山根一和、荒川宜親]

8．バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）に関する研究

（1） VRE の PCR による van gene 検出あるいは菌種同定について、洛和会音羽病院、洛和会丸太町病院、さいたま市保健所（食鳥由来株）、東京医科大学病院、東京女子医大第二病院、浜田医療センター、熊本市環境総合研究所、NTT 東日本関東病院、東京都済生会中央病院、呉医療センター、金沢医科大学付属病院から、解析依頼のあった菌株について研究ベースにて解析を行った。[加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、近田俊文、荒川宜親]

（2） VRE の PCR による van gene 検出あるいは菌種同定について、山口県、熊本県、山梨県からの解析依頼のあった菌株を行政検査として行った。[加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、近田俊文、荒川宜親]

（3）VRE が糞便検体から分離された症例（山口県）について、糞便検体からの *Clostridium difficile* の分離を行った。[加藤はる]

Ⅱ．抗菌薬関連下痢症に関する研究

1．*Clostridium difficile* における *slpA* シークエンスタイピングの確立と応用

C. difficile の新しいタイピング法として、細胞表面タンパクのひとつである slpA をコードする遺伝子のシークエンスを行う方法を検討し、他の方法によるタイピング結果と比較した。特に、日本の複数の病院で流行株となっている PCR ribotype smz 株について検討し、type smz 間では多様性に乏しいことを発見した。糞便検体から抽出した DNA からの直接タイピングにも応用を試みたところ、培養ができないにもかかわらず *C. difficile* のタイピングが可能であった検体を認めた。[加藤はる、横山敏之（久美愛病院）、加藤秀章（豊川市民病院）]

2．抗菌薬関連下痢症／腸炎の原因菌の究明

臨床的に抗菌薬関連下痢症／腸炎と診断された症例の糞便検体について、糞便検体中の、細胞毒素、*C. difficile* の toxin A、および *Clostridium perfringens* の enterotoxin の検出を行い、*C. difficile*、*C. perfringens* 及び *Bacteroides fragilis* の分離培養を行った。分離菌株における毒素遺伝子の検出に加え、糞便検体から DNA を抽出し、毒素遺伝子の検出を行った。[加藤はる、横山敏之（久美愛病院）、加藤秀章（豊川市民病院）]

3．院内感染が疑われた複数の *Clostridium difficile* 関連下痢症／腸炎症例および再発症例から分離された菌株の解析と比較

解析依頼があり、研究ベースにて *C. difficile* 分離菌株の毒素産生性とタイピングを行った。[加藤はる、吉村由美子、中村敦（名古屋市立大学附属病院）]

4．非典型的な経過あるいは重篤な症状を認めた *Clostridium difficile* 関連下痢症の細菌学的診断

解析依頼があり、研究ベースで糞便検体中の毒素、細

菌の分離等を行った。[加藤はる、吉村由美子、竹内英樹、小野聡（防衛医科大学校）、赤城一郎（日本大学）]

Ⅲ．マイコプラズマに関する研究

１．特定疾患の成立あるいは病状悪化への細菌、マイコプラズマ感染の関与についての検討

IgA 腎症患者における腎障害の原因は、糖鎖付加異常による異常 IgA の産生増加および腎への沈着によるものと考えられている。異常 IgA 産生の場として扁桃が疑われることから、扁桃に感染する細菌種を 16S rRNA 遺伝子増幅法により同定した。IgA 腎症患者の扁桃からは、クリセオバクテリウム属の細菌の遺伝子が主要に増幅された。マイコプラズマの遺伝子も特異プライマーで増幅された。血中抗体価を調べたところ、抗クリセオバクテリウム（一種）ならびに抗 *M. pneumoniae*-IgA 抗体価が患者群で有意に高く、IgA 腎症患者における高 IgA 血症の成立に扁桃感染細菌に対する特異的 IgA の関与が示唆された。[佐々木裕子[1]、松田和洋[2]、永田典代[3]、見理剛[1]、堀田　修[4]、宮崎真理子[4]、佐々木次雄[1]、荒川宜親[1]、１：細菌第二部、２：国立ガンセンター研究所、薬効試験部、３：感染病理部、４：仙台社会保険病院、内科・腎臓]

２．プロテオーム解析を用いた *Mycoplasma penetrans* の新規抗原ならびに感染因子の探索

症例報告（健常人への重篤な呼吸器疾患）はあるものの疫学実態に不明な点の多い *M. penetrans* の新規診断法開発ならびに、ヒト細胞への感染機構、細胞障害因子を明らかにする目的で、抗原蛋白、ヒト細胞への付着器官関連蛋白の解析を行っている。昨年度同定した主要抗原 PDH の細胞外発現が、ビオチン化蛋白の解析から示唆された。付着器官関連蛋白群については、Triton-X100 不溶画分（triton-shell 画分。細胞壁を欠くマイコプラズマでは、細胞骨格蛋白と相互作用する付着蛋白群を含む）の解析で約 60 個が同定された。細気管支細胞等との相互作用に関わる菌側蛋白の解析には、分析感度等の検討課題を残した。[佐々木裕子[1]、新開-大内　史子[2]、山河芳男[2]、川上隆雄[3]、見理　剛[1]、堀野敦子[1]、佐々木次雄[1]、１：細菌第二部、２：細胞化学部、３：東京医科大学、臨床プロテオームセンター]

３．*Mycoplasma penetrans* の部位特異的組み換え酵素 MipR について

M. penetrans は細胞膜表面の膜リポタンパク質の発現プロファイルを頻繁に変化させる能力を持ち、宿主の免疫を回避していると考えられている。膜リポタンパク質の発現プロファイルの変化はプロモーター領域の DNA 逆位によって起こるが、我々は昨年この DNA 逆位に関与する組み換え酵素 MipR（Recombinase for Multiple Invertible Promoter）を同定した。MipR は *M. penetrans* の MYPE2900 遺伝子の産物であった。本年度は大腸菌でこの酵素を発現させて活性を調べた。膜リポタンパク質のプロモーター領域をプラスミドに組み込み、大腸菌に形質転換しても配列に逆位は起こらなかったが、この大腸菌に、UGA コドンを UGG に改変した MYPE2900 を組み込んだプラスミドを形質転換するとプロモーター領域の逆位が観察された。大腸菌内で DNA 逆位反応を再現できる系を確立するとともに、MipR が単独で DNA 組み換えを行う酵素であることを証明した。[堀野敦子、見理　剛、佐々木裕子、佐々木次雄]

４．マイコプラズマ肺炎患者血清の菌型特異的な血球吸着阻害活性

マイコプラズマ肺炎患者血清の *M. pneumoniae* に対する血球吸着（HA）阻害活性を調べると、HA 阻害活性を有する血清 22 検体のうち 21 検体は、I 型か II 型のどちらかの *M. pneumoniae* に対して優先的な阻害を示した。この菌型優先的な HA 阻害活性は、患者に感染した *M. pneumoniae* の菌型に対応していた。*M. pneumoniae* の感染時には、血清中に菌型特異的な接着阻害抗体が産生されると考えられ、これは臨床において I 型菌と II 型菌が交互に出現する現象の主な要因になりうると思われる。これらの患者血清を I 型菌と II 型菌の間で異なっている P1 接着タンパク質断片と反応性させると、血清中には菌型特異的な抗 P1 抗体が存在していることもわかった。この抗 P1 抗体が菌型特異的な接着阻害抗体である可能性が高いと考えられた。[見理剛、　佐々木次雄、　山崎　勉（埼玉医科大学）]

５．*M. pneumoniae* の滑走運動性（gliding motility）に

関する研究

顕微鏡下で *M. pneumoniae* の滑走運動を観察するための最適な条件を検討し、抗 P1 モノクローナル抗体が滑走運動に及ぼす影響を調べた。滑走運動している *M. pneumoniae* は、抗 P1 モノクローナル抗体の添加によって徐々に速度が低下し、ガラス表面から解離した。一方、滑走運動していない *M. pneumoniae* は、ガラス表面から解離しなかった。この挙動から *M. pneumoniae* の滑走運動には、P1 タンパク質の動的な変化（接着と解離を含むサイクル）が関与していることが示唆された。［見理　剛、　瀬戸真太郎（明海大学)、　宮田真人（大阪市立大学)］

6 .マクロライド耐性マイコプラズマ感染症に関する研究

2000 年以降､マクロライド耐性マイコプラズマがわが国において分離されるようになった。マイコプラズマはマクロライドで治療される事がほとんどである一方で、臨床現場において薬剤感受性検査は実施されていない。そのためマクロライド耐性マイコプラズマ感染症をマクロライドで治療した場合、感性菌にくらべどのような影響が生じるかを検討した。その結果耐性菌感染症の場合は感性菌に比べ有熱期間が２，３日延長し効果が劣っている一方で、重症例などはなく、基礎疾患を有する患者などのときのみ薬剤変更を検討するのが妥当ではないかと結論付けられた。［鈴木里和、見理剛、佐々木次雄］

Ⅳ．*Haemophilus influenzae* に関する研究

１．ベトナムで髄液から分離された *Haemophilus influenzae* type b (Hib)の諸性状に関する研究。

ハノイにある国立小児病院で細菌性髄膜炎患者の髄液から分離した Hib 79 株について解析したところ、バイオタイプⅡ型が 68.3%、次いでⅠ型が 22.8%であった。４５株（57%）がβラクタマーゼ産生アンピシリン耐性（BLPAR）で、TEM-1 型が 44 株、ROB-1 型が１株であった。Hib 感染患者並びに同居７家族から分離した Hib の SmaI で処理した PFGE パターンは､各家族内では全く同じで、同居者が感染源になっている可能性を示唆するデータが得られた。［蒲池一成、久保田眞由美、新谷三春、荒川宜親、佐々木次雄］

２．キノロン感受性臨床分離 *H. influenzae* 株からのキノロン低感受性株の in vitro 誘導及び GyrA　QRDR のアミノ酸配列の変異

Isogenic なキノロン感受性株とキノロン低感受性株間で増殖速度等諸性状を比較するためにキノロン感受性の臨床分離 *H. influenzae* 8 株を 1×MIC のレボフロキサシンを含む Haemophilus Test Medium で 1 夜培養し、MIC の上昇した株を選択した。異なる親株由来の 4 株に対する 5 種類のキノロン薬の MIC は親株に対するものより、薬剤により 2～16 倍高くなっていた。更にこれら 4 株の DNA gyrase（GyrA, GyrB）, DNA topoisomerase IV（ParC, ParE）の QRDR のアミノ酸配列を各親株と比較したところ、3 株において GyrA に 1 箇所ずつそれぞれ変異が生じていた（S84→L, D88→N, D88→V)。キノロンの MIC 上昇の最初の段階でこれら 2 箇所のアミノ酸変異が重要であることが確認された。今後 GyrA におけるアミノ酸変異の増殖への影響について調べる予定である。［川端敏之、新谷三春、佐々木次雄、荒川宜親］

Ⅴ．*Helicobacter pylori* の病原性に関する研究

１．*H. pylori* のアポトーシス誘導蛋白γ-glutamyl transpeptidase (GGT)の機能解析

H. pylori の GGT 遺伝子をクローニングし大腸菌で発現させ、リコンビナント蛋白を大量に精製する系を確立した。また *H. pylori* の GGT の酵素活性について生化学的解析を行い、アポトーシス誘導活性との関連について解析を行った。[柴山恵吾、荒川宜親、Peter J.F. Henderson (英国 Leeds 大学)]

２．臨床分離株の *H. pylori* の GGT の分子疫学解析

臨床分離株の *H. pylori* の GGT について、その発現量と疾患との関連性について疫学的解析を行った。[柴山恵吾、鈴木里和、荒川宜親]

３．*H. pylori* の GGT の発現機構の解析

H. pylori の GGT をコードする遺伝子について、promoter 部位を決定し、発現調節機構の解析を行った。[柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親]

４．*H. pylori* の培養に適する培地の検討

様々な培地、血清について *H. pylori* の増殖を調べ、菌の発育が良く、かつ安価な培地の検討を行った。[柴山恵吾、安藤貴文（名古屋大医)、長沢光章(防衛医大)、荒川宜親]

Ⅵ. ジフテリア

１．百日咳菌、ジフテリア菌、マイコプラズマ等の臨床分離菌の収集と分子疫学的解析に関する研究

ジフテリアの実験室内検査法の早期診断法の確立をめざし、現行 PCR 法、リアルタイム PCR 法および LAMP 法を比較検討した。その結果、当室が実施している現行の PCR 法はジフテリア菌 DNA 検出系として十分実用に耐える半面、LAMP 法は今回のプライマーセットを用いた限りでは実用的でなく、プライマーの設計を検討する。またリアルタイム PCR は感度、再現性ともに良好で、今後期待できる実験系であると考えられた。［岩城正昭、高橋元秀、小宮貴子、福田靖］

２．麻疹、ジフテリアおよび破傷風の実験室診断と疫学解析

カンボジアはポリオ根絶後、病原体診断のフォローアップとして検体が当所へ搬送され、検査を実施している。WHO WPRO の要請もあり、この輸送手段に便乗して、カンボジア内で発生したジフテリア、百日せきの疑患者から採取した材料を入手し検査を実施した。現在、両疾患の標準的検査法で数菌株が分離されており、現手法を現地検査システムに導入するための施策が今後の課題である。［高橋元秀、蒲地一成、豊泉裕美、堀内善信、岩城正昭、小宮貴子（感染研　細菌第二部)、遠田耕平（JICA EPI/ポリオ根絶計画）国際医療協力研究委託事業］

３．厚労科研、宮村班「混合ワクチンの品質確保に関する研究」のため、海外市販品の DTaP2 ロット、DTaP-IPV 3 ロット、DTaP-IPV-Hib 1 ロット、DTaP-IPV-HepB 1 ロット合計 7 ロットのジフテリアトキソイド力価測定を、国内生物学的製剤基準の試験法に準拠して実施した。7 ロットの力価は、国内製剤の平均値 119 U/ml とほぼ同様の値であった。［小宮貴子、岩城正昭、福田靖、高橋元秀 ］

４．ジフテリア菌 20kDa antigen の細胞表面における分布

プロリンに富む特異な反復配列を有するジフテリア菌蛋白抗原 20 kDa antigen ("1-1 ORF2"蛋白質)の局在を、同蛋白質に対する抗体（前年度年報参照）を用いた蛍光抗体法により共焦点レーザー顕微鏡で観察した。20kDa antigen は菌体表面に一様に分布し、特定の部位への局在は認められなかった。［岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

５．マウスを用いたジフテリア菌感染実験系の検討

マウスはジフテリア菌の主要病原因子であるジフテリア毒素に非感受性である。このことを利用して、毒素以外のジフテリア菌病原因子を探索・解析するために、マウスを用いたジフテリア菌の感染実験を試みた。マウス背部皮内に 10^6cfu のジフテリア菌を投与したところ 3 日後に最大で投与量の約 2 倍の生菌が回収され、菌は投与 13 日後まで回収された。また、あらかじめジフテリア菌死菌でマウスを免疫しておくことにより回収菌数は低下した。この実験系は新規病原因子の探索・解析に有用であると期待される。［岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

Ⅶ. 破傷風

１．麻疹、ジフテリアおよび破傷風の実験室診断と疫学解析

パキスタンの 44 名の新生児破傷風患者の便から 2 株の破傷風菌を分離した。患者の聞き取り調査で、患者の治療記録、リスト及び便に記載された氏名の 3 者を照合した結果、一部不一致のものがあり、今後本試験に際しては現地と協議が必要である。［高橋元秀、福田靖、岩城正昭、小宮貴子：感染研　細菌第二部、Dr.Iftikhar Ahmed, CIDH, Peshawar、櫻田紳策、　［国際医療協力研究委託事業)］

２．破傷風毒素構造遺伝子の塩基配列の比較

破傷風菌は菌株により毒力が大きく異なっている。そこで、これらの毒力の違いを解明するために、25 株の破傷風菌の毒素構造遺伝子における A フラグメントの活性中心部位を含む領域と C フラグメントのレセプター結合

部位を含む領域の塩基配列と推定アミノ酸配列を株間で比較した。その結果、毒素の活性中心部位ではアミノ酸の変化はみられなかったが、レセプター結合部位では１菌株にのみアミノ酸の置換（H→R）がみられた。しかし、この株の毒力は他の株の毒力と大きく異なっていなかった。他の領域についても、塩基（アミノ酸）配列の決定を進めている。［福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、高橋 元秀］

３.ヘモフィルス･インフルエンザ B 型菌ワクチン（Hib）に含まれる破傷風トキソイド（T-td）の免疫原性の検討

Hib はキャリアー蛋白として T-td を含んでおり、DTaP との混合使用時の T-td の力価への影響が懸念されている。そこで海外で混合使用されている DTaP-IPV と Hib の T-td の力価をマウス法で定量した。DTaP-IPV と Hib の T-td の力価は 853 U/mL と 328 U/mL であったが、これらを混合した場合の力価は 3,091 U/mL と DTaP-IPV に比較して 3.6 倍高かった。Hib 単独の T-td の力価は国内 DTaP と比較しても高く、また、混合により DTaP-IPV の力価の増強も認められた。［福田靖、小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀］

Ⅷ. ボツリヌス

１．ボツリヌス神経毒素の品質の管理方法と抗体の検出法の開発

毒素連続投与後に効果が得られない原因には、抗毒素抗体の誘導が考えられる。現在、治療中の 3 患者の血清中の抗毒素量をマウス皮下注射法で試みた。3 患者中１名は測定限界以下の<0.003 単位以下であったが、他 2 名では、それぞれ 0.01 単位および 0.006 単位前後が確認された。また、毒素をウサギ、モルモットおよびラットに各々5, 2.5, 1.25,0.63 マウス $ipLD_{50}$ の 4 用量を筋肉内注射して経時的に複合筋活動電位を測定した結果、毒素用量と反応の強さが相関することを確認した。今後、ヒトへの連続注射による抗体産生のモデル動物の確立を目指す。［高橋元秀、石田説而　（HS 総合研究事業）］

Ⅸ. 全般、抗毒素

１．フロキュラシオン検出系の改良

トキソイドの抗原量(Lf)測定に広く用いられているフロキュラシオン法は、微視的な抗原抗体複合体の生成を指標とする測定法である。検出には肉眼による観察が用いられているが、より客観的な検出方法の開発による測定精度の向上が望まれる。我々はレーザー粒径測定型血小板凝集計（興和(株)製）を応用し、径 9μm 以上の抗原抗体複合体の検出を試みたところ肉眼観察よりも早く複合体を検出することができ、測定結果からは肉眼測定とよく一致する抗原量が得られた。また、統計学的な解析により、肉眼測定よりも少ない測定回数で十分高精度の測定結果が得られることが示唆された。肉眼測定の代替法となりうる可能性が期待される。［岩城正昭、堀内善信、小宮貴子、福田靖、高橋元秀 ］

２．ボツリヌス毒素に対するヒト化（型）抗体の作出

「マウス抗毒素モノクローナル抗体のヒト化」及び「免疫ヒトリンパ球からヒト型中和抗体作製」の２法に集中して有効な抗体を作製し、両方法ともに中和能を有する数種の抗体が得られている。また、ジフテリア毒素に対するヒト中和抗体のエピトープの主要なものは、細胞結合活性のある GTB に存在するが、酵素活性のある GTA にも中和エピトープが存在することが証明された。しかし､モノクローンで十分な中和能が得られていないため、ボツリヌス、ジフテリアともに、複数のモノクローナル抗体を組み合わせることによって、現行のウマ抗毒素製剤に代替しうる有効で、安全なヒト抗体の調製を計る。［高橋元秀、佐々木次雄、岩城正昭：感染研、野崎周英：（財）化血研、向本雅郁：大阪府立大学、黒澤良和：藤田保健衛生大学、千葉　丈：東京理科大［医薬品等医療技術リスク評価研究事業］］

Ⅹ．BCG・ツベルクリン及び結核免疫に関する研究

１．rBCG ワクチン免疫モルモットの抗結核免疫長期持続性

α抗原ファミリーを過剰発現する rBCG で免疫したモルモットの結核菌噴霧感染 5 週後の初期結核防御能は、親株 BCG に比べ高く、さらに Ag85A,Ag85B および MPB51 の３種類の抗原を同時発現させた rBCG-BA51 は、それぞれ単独の抗原を発現する rBCG よりもさらに強い抗結核防御効果が認められた。一方、それら rBCG の免疫の長期持続性を調べるため rBCG 10^3 個を接種し

たモルモットに結核菌 H37Rv を噴霧感染装置内で気道感染させ、各群間の体重変化、生存日数を 130 週以上にわたり比較したところ、rBCG-Ag85A はベクターコントロールの rBCG-pNN2 とほぼ同様の生存日数であったが、他の rBCG-Ag85B、rBCG-BA51、rBCG-MPB51 はいずれもコントロールより生存日数が短いことが認められた。〔Brandt,L., Lasco,T., Izzo,A.,Orme,I.(CSU), Yamamoto,T., McMurray,D.N.(TAMU),大原直也、山田毅(長崎大歯)、山本三郎〕

２．肉芽腫形成における MyD88 の機能解析

結核菌感染において肉芽腫形成は病態の進展、免疫の成立に重要である。MyD88$^{-/-}$マウス（KO）と MyD88$^{+/+}$マウス(Wild)の尾静脈にザイモサン A（0.1 mg）を投与した後、経時的に肝臓を採取し、組織学的並びに SYBR-Green 法による Real-time PCR 法を用いた解析を行った。1mm^2 あたりの肉芽腫数は、極期で差はほとんど認められなかったが、KO ではザイモサン投与 3 日後に、Wild では 5 日後にピークが認められた。平均面積は KO においてやや小さい傾向が認められた。mRNA の発現は、TNF-γや MCP-1 の発現は KO で減弱していたが、IFN-γや iNOS の発現は KO で増強していた。また、TLR2 の発現に殆ど差は認められなかったが、Dectin-1 は KO において強く発現していた。これらの結果から MyD88 が欠損していても Dectin-1 を介する MyD88 非依存性の経路が炎症性サイトカインを誘導するため、KO と Wild の肉芽腫の形成に大きな差が認められなかったと考えられる。〔高塚尚和（福井大医)、山本三郎〕

３．BCG の RD16 クローンに関する研究

（1）遅延型アレルギー誘導能

BCG Tokyo 株において RD16 領域の PCR 産物が 379bp または 401bp であるクローン株 BCG-I と BCG-II について、モルモットに対する遅延型アレルギー誘導能を検討した。それぞれの BCG クローン 0.1 mg または 0.0001 mg をモルモットに皮下免疫し、6 週後に PPD を皮内接種して 24 時間後の皮膚硬結を遅延型アレルギーとして測定したところ、0.1 mg の免疫ではいずれの BCG も遅延型アレルギー誘導能に差異はなかったが、0.0001 mg 接種では BCG-I に比べ BCG-II の誘導能は著しく減弱することが認められ、I 株と II 株の増殖能の差異が示唆された。[山本三郎、柴山恵吾、持田恵子；芳賀伸治、山崎利雄（細菌第一部）]

（2）RD16 クローンの定量法の確立

BCG Tokyo 株に含まれる 2 種類の亜株について、Real Time PCR によりそれぞれを定量する系を確立した。[柴山恵吾、持田恵子、山本三郎]

４．結核菌、その他の抗酸菌の病原性に関する研究

BCG、結核菌のγ-glutamyl transpeptidase (GGT)について、その病原性への関与について検討を行った。今後遺伝子のクローニング、蛋白の発現精製、機能解析を行う予定である。[柴山恵吾、石川暁志、荒川宜親]

５．モルモット脾臓および肺の BCG 増殖阻止因子に関する研究

BCG 免疫モルモットにおける BCG の増殖能を調べるため、モルモット足静脈内に BCG 生菌を接種し 1 週間後の脾臓および肺の生菌数を還元培養により求めた。臓器重量に対し、10 倍の水で希釈した懸濁液を培養した培地からは全く BCG のコロニーが認められなかったが、100 倍以上希釈した臓器懸濁液からは BCG が生育するという、通常の Dose-Response とは逆の結果が得られた。このことは、脾臓および肺臓器中に BCG のコロニー形成を阻害する因子が存在することを意味する。BCG 増殖阻止因子について、他の実験系を計画・検討中である。[持田恵子、荒川宜親]

６．BCG ワクチンの副反応についての報告

乳幼児に接種された BCG ワクチンによる重篤な副反応例（10 報)、膀胱癌患者の再発防止目的で膀胱内注入された BCG ワクチンによる副反応例（8 報)、臓器移植が原因で発症した結核症例（6 報）について文献を抄読し、今後の対策についての提言を行った。BCG は生ワクチンであるため、たとえ弱毒菌であっても免疫不全宿主においては菌増殖による敗血症を、逆に過敏反応を呈する宿主においては関節炎、間質性肺炎等の自己免疫反応を生じる場合があるので、十分なフォローアップが必要である。特に、膀胱癌治療に用いる BCG の菌量はワク

チンとは比較にならないほど多量であるために、過剰投与が原因と思われる副反応の出現率が高い。今後、安全な投与量や副反応が生じにくい製剤の開発に関する検討が必要である。[持田恵子、荒川宜親]

７．*Mycobacterium smegmatis* の細胞壁の性状に影響を与える遺伝子の探索

抗酸菌は強固な脂質細胞壁を有する。通常、*M. smegmatis* ATCC607 のコロニーは Rough 型であるが、今回、ランダム変異株を作製することにより、一部 Smooth 型が得られたので、それについて報告する。*M. smegmatis* ATCC607 のランダム変異株の作製には、パスツールより分与された、Tn5367 トランスポゾンを用いて行った。約 20,000 の変異株を得たが、そのうち 5 株が Smooth 型であった。そのうち 2 株についてトランスポゾンの挿入位置を決定し、相同検索により、*M. smegmatis* mc^2 155 株の MSMEG1042 および、MSMEG6056 であることが判明した。MSMEG6056 に関してベクタープラスミド pvv16 を用いて相補株、*M. smegmatis* ATCC607 Δ MSMEG6056/pvv16 MSMEG6056 を作製したところ、コロニーの性状が Rough 型に復帰した。現在この遺伝子を解析中である。[石川暁志、小澤良之、荒川宜親〕

８．北西太平洋ミンククジラ及び沿岸アザラシのブルセラ症・結核症に関する研究

われわれの太平洋ミンククジラ由来ブルセラ菌 DNA の解析より、これまでの知られているブルセラ菌とは配列の異なる遺伝子を有することが明らかにされた。ブルセラ菌 omp2 遺伝子は２つの sister gene、*omp2a*, *omp2b* から構成されており、昨年度は Neighbor-joining (NJ)法、ならびに Maximum parsimony (MP)法により系統解析を行った。今年度は、Maximum likelihood (ML)法による系統樹の構築を試み、NJ, MP 法と同様のパターンが得られた。さらに、*omp2* 遺伝子のより詳細な解析と既知のブルセラ菌との比較を行なった。その結果、ブルセラ菌のこの遺伝子はモザイク構造を有していることが明らかになった。最初の 174 塩基までは、すべてのブルセラ菌でよく保存されていたが、それに続く領域では、太平洋ミンククジラ由来ブルセラ菌の *omp2a*, *omp2b* では、特徴的な５つのモチーフ(M1-M5)が認められた。5' 側の２つのモチーフ（M1 と M2）は海棲哺乳類由来株にのみ見い出された。346 塩基以降の領域において、太平洋クジラ株の *omp2a* と *omp2b* は、*B. melitensis* 16M 株のそれぞれの遺伝子とほとんど同一であった。太平洋クジラ株と *B. melitensis* の２つの *omp2* 遺伝子の大きな差異はモチーフの存在であるが、これらの差異は、疎水性のパターンに大きな変化をもたらさず、太平洋クジラ株と *B. melitensis* では、*omp2* 遺伝子のコードするポーリン蛋白質の機能に大きな差はないと考えられる。一方、沿岸アザラシ４６頭についてそれらの血清中結核菌アラビノマンナンをマイコドット法により調べたが、いずれの検体も陰性であった。[大石和恵[1,2]、山本三郎[1]、後藤義孝[3]、坂東武治[4] ([1]：感染研, [2]：海洋研究開発機構, [3]：宮崎大農, [4]：鯨類研)]

XI. 百日咳菌に関する研究

１．百日咳抗原変異株のプロテオーム解析

世界的に百日咳菌の流行株はワクチン型から抗原変異型への入れ替えが生じている。そこで抗原変異株の出現を考察するため、変異株に特異的な蛋白質の同定を行った。プロテオミクスによる網羅的発現解析の結果、抗原変異株に７種の蛋白スポットの違いを見出し、パータクチン（Prn）を含む５種の蛋白質を同定した。シークエンス解析により Prn と hypothetical protein BP0500 に遺伝子の変異を確認し、BP0500 では終止コドン直下に点変異を認めた。一方、Prn の変異は既報のものと一致したが、抗原変異株の Prn 発現量はワクチン型よりも高いことが指摘された。[蒲地一成、佐々木裕子、堀内善信、荒川宜親〕

２．わが国の小児科担当医療従事者を対象とした百日咳菌の感染リスク評価

小児科担当医療従事者から乳幼児への百日咳菌の感染リスクを評価するために、小児科医療従事者（12 施設、49 名）を対象に百日咳抗体の保有調査を実施した。血清診断により１名に感染の可能性が強く疑われたが、百日咳菌を分離することはできなかった。また、百日咳患者と接触した医療従事者は 16 名（33%）存在したが、百日咳を発症した者はいなかった。本調査から、小児科医

療従事者が百日咳菌の保菌者となる可能性は低く、乳幼児に対する感染リスクは小さいものと評価できた。[都健康安全セ、秋田衛研、千葉衛研、三重保環研、福岡保環研、蒲地一成、豊泉裕美、堀内善信]

Ⅻ. 生物学的製剤の品質管理に関する研究

１．DPT ワクチンに関する研究

（１）DTaP ワクチン追加接種時の局所反応原性に対する動物モデルの評価

当研究室で開発した DTaP ワクチンあるいは DT トキソイド追加接種時の局所反応に対する初回 DTaP ワクチンの感作能評価動物実験モデルについて、細胞によるサイトカイン産生を指標とした感作機構解析を試みた。百日咳毒素の用量を変えてマウスに１ヶ月間隔で免疫し、２週後にジフテリアトキソイドを足蹠に投与する直前、投与後６、１２、２４時間後の動物の脾臓細胞を採取し、ジフテリアトキソイドによる炎症性サイトカインを測定した。その結果、百日咳毒素量による明確な相違はみられなかった。さらに詳細な検討が必要である。[山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信]

（２）IPV および DTaP-IPV の安全性評価

海外製市販 DTaP および DTaP-IPV 並びに国内の DTaP および DTaP-IPV 試作品について、生物学的製剤基準に基づく精製百日せきワクチン毒性試験とマウス、ウサギを用いた局所反応原性に関する比較・評価を行った。毒性試験法ではマウス白血球増加およびマウスヒスタミン増感試験では、いずれのワクチンも差はみられなかったが、マウス体重減少毒性の強いものがあった。エンドトキシン試験では海外の DTaP で、反応を強く阻害するワクチンがあった。また IPV は国産、海外を問わず DTaP の局所反応原性への影響は示さなかった。しかし国産と海外の DTaP では、接種局所での炎症反応の程度に顕著な差がみられ、新規ワクチンの評価の際に安全性評価の確立している既存の同種製剤との実験モデルを用いた比較が有効な方法であると考えられた。[片岡紀代、山本明彦、永田典代、落合雅樹、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、倉田　毅、堀内善信]

（３）海外製沈降精製 DPT ワクチン中のエンドトキシン量の評価法に関する研究

生物学的製剤基準が平成 16 年に改正され、DTaP ワクチンにエンドトキシン試験が適用されることになった。しかし海外製の DTaP ワクチンには添加したエンドトキシンのリムルス活性を強く阻害し、リムルス試験の適用が困難な製剤が認められた。そこで強い阻害作用を示す海外 DTaP ワクチン中のエンドトキシンを、LAL 試験により測定可能にするための前処理法の確立を試みた。[落合雅樹、片岡紀代、山本明彦、蒲地一成、豊泉裕美、堀内善信]

（４）参照百日せきワクチン（毒性試験用）の更新に関する検討

WHO ガイドラインをはじめヨーロッパ薬局方において、マウスヒスタミン増感試験の標準品として百日咳毒素が整備されたことから、国内参照品についても現行の全菌体ワクチンから精製百日咳毒素に置き換えが可能であるか基礎的な検討を行った。その結果、マウス白血球数増加試験及びマウスヒスタミン増感試験のいずれの試験においても、精製百日咳毒素は、現行毒性参照品に比較して試験回毎の変動が大きく、現在のところ次期毒性参照品としては全菌体ワクチンが適当であると考えられた。今後毒性参照品として精製百日咳毒素を用いるためには、試験の再現性を改善する検討が必要である。[落合雅樹、片岡紀代、山本明彦、蒲地一成、豊泉裕美、堀内善信]

２．その他のワクチンに関する研究

(1) インフルエンザｂ型菌(Hib)ワクチン中のエンドトキシンに関する研究

破傷風トキソイドをキャリアーとした Hib ワクチンを輸入し、混入エンドトキシンを評価した。リムルス試験の結果、ワクチン中の LAL 活性は、ロットにより約 1～200 EU/dose と幅広いばらつきを示した。その生物活性をヒト末梢血と相同のエンドトキシン反応性を有する 28SC 細胞を用いて評価した。その際活性を日本薬局方標準エンドトキシンと相対比較した。その結果、Hib ワクチンはリムルス試験同様、ヒト由来 28SC 細胞でも強い IL-6 産生誘導を示したが、その比活性は日本薬局方標準エンドトキシンに比べて弱い事が示唆された。[山本明

彦、落合雅樹、片岡紀代、蒲地一成、豊泉裕美、堀内善信］

(2) インフルエンザ HA ワクチンのマウス白血球数減少試験に関する研究

マウス白血球数減少活性と、ワクチン中の総蛋白量及びワクチン株の関係について 2004/05 シーズンインフルエンザワクチン原液（A/New Caledonia/20/99(H1N1), A/Wyoming/3/2003(H3N2), B/ Shnghai/361/2002）を用いて評価したところ、ワクチン中の総蛋白量に依存したマウス白血球数減少活性の増加が認められたが、ワクチン株の違いによる活性の差は認められなかった。［落合雅樹、山本明彦、蒲地一成、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信、板村繁之（ウイルス第三部)］

３．エンドトキシンに関する研究

(１)内毒素の in vitro 生物活性測定法の定量的評価

製剤のエンドトキシン汚染に関する安全性管理には、製剤によるエンドトキシン活性増強を考慮に入れる必要がある。アミノグリコシド系、ペニシリン系、カルバペネム系など抗生物質２１種について、ヒトモノサイト由来２８SC 細胞おける IL-６産生誘導を用いて評価した。臨床濃度に希釈した抗生物質とエンドトキシンの段階希釈を同時に細胞培養に加え、１８時間後に ELISA により培養上清の IL-６を定量した。その結果、これらの抗生物質のうちアミノグリコシド系抗生物質はエンドトキシンによる IL-6 産生増強を惹起することが明らかになった。［山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信］

（２)ファージディスプレイ法による LPS 結合ペプチド作成の試み

安全性の高い低分子 LPS 親和性ペプチドは、臨床や医薬品製造において有用性が高い。ランダム配列の１２アミノ酸からなるペプチドを発現する *E. coli* ファージライブラリーより、Lipid A 親和性ペプチド発現ファージを単離し、その DNA 配列よりペプチドを作成した。本年度は、５種類の環状ペプチドのうち１種類に、エンドトキシンの LAL 活性および 28SC 細胞での IL-6 誘導活性に対する明らかな中和能が認められた。しかし未だポリミキシン B の中和能に比べると弱いものであり、今後さらに強い活性の親和性ペプチドを検索する予定である。［山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、蒲地一成、鈴木政嗣、松本めぐみ、丹羽允(協力研究)、堀内善信］

（３）ウサギ末梢血を用いたエンドトキシン試験に関する研究

生物製剤には凝固性因子製剤のようにエンドトキシン試験適用の困難なものがあり、発熱試験に替わる in vitro 試験法の確立が望まれる。ウサギ末梢血でのプロスタグランジン E_2 産生誘導を利用した新規の in vitro エンドトキシン試験及びウサギ発熱試験について、ウサギの個体差による影響を比較・評価した。その結果、ウサギ個体毎のプロスタグランジン E_2 産生量と発熱反応は相関する傾向が認められた。ウサギ発熱試験ではこうしたウサギの個体差が直接影響してしまう。しかしウサギ末梢血を用いたエンドトキシン試験では、同一個体からの末梢血を用いた測定値により検体の活性を標準品に対する相対活性として算出するため、ウサギの反応性に関する個体差の影響を受けず、高精度の測定が可能であった。［落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、山本明彦、蒲地一成、堀内善信］

（４）日本薬局方エンドトキシン標準品力価検定に用いる試薬のバリデーションに関する研究

日本薬局方エンドトキシン標準品力価検定は、代表的な３種類のリムルス試薬による結果を用いて行われてきた。力価はすべての結果の加重平均値として標定される。従って用いる各試薬のエンドトキシン反応性、特に WHO 標準品と日本薬局方標準品に対する反応性が、常に変化しないことが重要である。今回１種類の試薬が、原料の採取場所を変更したことで、かつての試薬と反応性が異なっていることが判明した。そこで今後、同様の製造法の変更があった場合に、試薬性能の均質性を確認する方法を検討した。様々な種類の市販精製エンドトキシン標品に対する反応性を比較することで、完全に一致する場合、両試薬の結果は、傾き 1.0、切片がほぼ 0 に近似の関係式となる。この関係を利用して、高精度のバリデーション法を確立した。［片岡紀代、山本明彦、落合雅樹、豊泉裕美、蒲地一成、堀内善信］

レファレンス業務

Ⅰ．臨床分離株の遺伝子検査レファレンス

１．臨床分離株の耐性遺伝子に関する検査

全国の医療機関より薬剤耐性菌の PCR 法による、β-ラクタマーゼ遺伝子解析依頼を受けた。解析結果は、主に IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌や CTX-M 型-ラクタマーゼ産生菌であった。また、ディスク拡散法も同時に行い、検査室で簡便に行えるβ-ラクタマーゼ産生菌の推定法として報告した。[柴田尚宏、横川滋子、荒川宜親]

２．バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）に関する検査

VRE の遺伝子検査のためのレファレンス菌株譲渡と、PCR 方法および菌株保存等の指導を静岡県環境衛生科学研究所に対して行った。[加藤はる]

Ⅱ．会議出席等

１．第 25 回衛生微生物技術協議会研究会において、ジフテリア百日せきレファレンスセンター会議に出席した（さいたま市：平成 16 年 7 月 8-9 日）

２．WHO 共催の DIPNET 2004 meeting (ELWGD: European Laboratory Working Group on Diphtheria を全世界規模に拡張)に出席し、日本のジフテリアレファレンスラボとして登録された。[岩城正昭（コペンハーゲン、平成 16 年 6 月 16-18 日)]

サーベイランス業務

Ⅰ．院内感染対策に関する研究

１．院内感染サーベイランスに関する研究

200 床以下の中小規模病院を対象とした有効な院内感染対策サーベイランス手法の開発研究を実施している。2004 年度より協力医療機関の細菌検査室の情報を開発した手法に基づいて解析を実施し、その結果を医療機関に毎月還元している。これまで MRSA を中心とした院内感染疑い事例などを探知し、対策などに関して助言を行ってきた。[鈴木里和、山根一和]

２．多剤耐性 *Enterobacter cloacae* による院内感染事例の疫学調査

多剤耐性 *Enterobacter cloacae* による院内感染が発生した医療施設との共同研究をおこなった。事例は血液内科病棟で発生しており、疫学調査の結果病棟の大部屋に入院している患者に多く分離されていた。その原因として医療スタッフ、患者、患者家族の感染予防対策の不備が考えられた。[山根一和、鈴木里和、甲斐久美子、荒川宜親]

３．院内感染事例の疫学調査

医療機関で発生した院内感染事例について、その感染源、感染経路および対応策に関する調査、助言を行っている。本年度は広島県および岐阜県の医療機関より *Enterobacter cloacae*, *Bacillus* spp.による院内感染事例に関しての調査研究依頼があり、現地調査を含め情報の収集および解析を実施し、院内感染対策への助言を行った。[鈴木里和、山根一和]

４．院内感染事例の分子疫学

医療機関で院内感染が発生した際に、原因となる菌の遺伝子タイピング（PFGE）を実施し、感染源感染経路の解明に協力している。本年度実施した菌は主にバンコマイシン耐性腸球菌（VRE)、メチシリン耐性黄色ぶどう球菌（MRSA)、緑膿菌、大腸菌などである。[鈴木里和、山根一和、加藤はる、柴田尚宏]

Ⅱ．感染症流行予測事業

１．平成 15 年度の感染症流行予測事業でジフテリアの抗体保有調査が行われ、以下のように結果を総括した。2003 年 7～10 月の間に 8 都道府県で 1120 名を対象として、血清中のジフテリア抗毒素を培養細胞法で測定した（対象年齢を 50 歳以上まで拡大)。生後 3 ヶ月からの DTaP、11～12 歳での DT の接種により、広い範囲の年齢層に抗毒素価が認められた。年齢群別に見るとワクチン接種直後の 1～4 歳から 20～24 歳までの 60%以上、25～29 歳での落ち込みがあるものの 40～44 歳までは 40%以上が発症防御レベルの抗毒素価を有していた。その後 45～49 歳で 10%以下へと急激に落ち込み、以後、年齢が上がるにしたがって再び増加した。[小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀]

２．平成 15 年度の感染症流行予測事業で破傷風の抗体調査が行われ、以下のように結果を総括した。2003 年 7～10 月の間に 8 都道府県で 1448 名を対象として破傷風に対する抗毒素の保有状況を解析した結果、破傷風の発症防御レベル（0.01 IU/ml）以上の抗毒素陽性率は 0 歳では 80.6%であった。1 歳から 4 歳では陽性率は 92.5～98.7%に達し、24 歳までは 90%以上と高く維持されていた。その後、陽性率は低下し、30 代後半から急激に低下した。40 代及び 50 代前半の年齢層では平均 25%前後に推移し、50 代後半以降の年齢群では約 10%と極めて低値であった。以上の結果と、近年報告される破傷風患者は、多くが 40 歳以上の中高齢者であることを考え併せると、患者数の減少を期待するためには、30 代後半以降の成人への破傷風トキソイドを接種する方策が必要である。［福田靖、岩城正昭、高橋元秀］

品質管理に関する業務

Ⅰ．抗生物質医薬品の品質管理に関する研究

１．抗生物質医薬品標準品の日本薬局方微生物学的力価試験法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）収載の円筒平板法による微生物学的力価試験法（Bioassay）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。今年度中に 19 品目の評価が完了し新規ロット標準品の交付を開始した。［加藤はる、鈴木里和、南條友子、山根一和、柴田尚宏、粕谷裕子、近田俊文］

２．抗生物質医薬品標準品の日本薬局方液体クロマトグラム法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）収載の液体クロマトグラム法（HPLC）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。今年度中に 16 品目の評価が完了し新規ロット標準品の交付を開始した。更に、日局の吸光度法及びヨウ素滴定法での定量法の品質評価試験も各々１品目の評価が完了し新規ロット標準品の交付を開始した。［柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、加藤はる、南條友子、粕谷裕子、近田俊文］

３．抗生物質の微生物学的力価試験法の改良に関する研究

日局の一般試験法「抗生物質の微生物学的力価試験法」を実施する上で有用なデータ並びに改良点を提供することを目的に、試験菌液及び試験芽胞液の調製について、各試験菌（芽胞）液濃度の客観的な数値化を目指した予備的な検討を行った。更に、力価試験法の円筒平板法と穿孔平板法の比較について、抗生物質溶液濃度に対する阻止円直径との関係についての統計学的な検討も行った。その結果、日局試験法を今後改良あるいは改正する際に必要な試験菌株 7 種類並びに標準品 25 品目についての基礎データが得られた。本研究の一部は「平成 16 年度：日本薬局方の試験法に関する研究（日本公定書協会）」の研究事業費で行われた。［近田俊文、南條友子、加藤はる、鈴木里和、柴田尚宏、山根一和、粕谷裕子］

４．抗生物質の日本薬局方標準品の整備に関する業務研究

一昨年度から、日本薬局方抗生物質標準品のより良い整備を目的に、それら種々の整備システムの改良、改善を実施してきた。今年度までに第 14 改正日局抗生物質標準品（全 137 品目収載）は 104 品目が新ロットとして整備された。なお、日本薬局方抗生物質標準品の在庫とその準備状況についての諸情報は、厚生労働省審査管理課、製薬企業団体（東京医薬品工業協会、大阪医薬品協会、日本抗生物質学術協議会）にも順次提供した。［近田俊文、柴田尚宏、加藤はる、山根一和、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子］

５．収去検査による抗生物質医薬品の品質管理研究

平成 16 年度の医薬品等一斉監視指導での収去検査は、抗生物質医薬品の経口剤（ジョサマイシン：1 ロット、プロピオン酸ジョサマイシン：1 ロット）ついて力価試験、確認試験（IR 及び NMR 解析）を、注射剤（硫酸ネチルマイシン：3 ロット、セフトリアキソンナトリウム：10 ロット）について力価試験、確認試験（IR 及び NMR 解析）、エンドトキシン試験、無菌試験を行い検査結果を報告した。なお、収去製剤の全ての試験で「適合」と判定された。［近田俊文、加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子、第二室、第五室、血液・安全性研究部第三室］

６．特別審査による抗生物質医薬品の品質管理研究

前年度に受け付けた特別審査１件のドリペネム水和物（原薬、点滴用、皮内反応検査薬、標準品）について、製造承認申請書の品質管理試験法の精査後、申請された方法で確認試験（紫外吸収スペクトル、赤外紫外吸収スペクトル)、旋光度、純度試験（パラジウム、類縁物質Ⅰ、類縁物質Ⅱ)、水分、エンドトキシン、無菌試験、定量法、定量法（含量均一性試験）等を行った結果、総合的に「適合」と判定された。[近田俊文、山根一和、鈴木里和、柴田尚宏、加藤はる、南條友子、粕谷裕子、第二室、第五室、血液・安全性研究部第三室]

７．注射用シナシッドの品質管理研究

承認書の力価試験（比濁法）が第３者機関で再現されていない注射用シナシッド（キヌプリスチン/ダルホプリスチン）について、厚生労働省審査管理課、医薬品医療機器総合機構、感染研、アベンティスファーマ株式会社の関係担当者による打合せ会が行われ、これまでの経緯の説明と確認並びに今後の方針が決定された。感染研では、承認事項が一部変更された後に力価試験（比濁法）を実施し再度確認することになったが、その実地試験の前に、一部変更承認書並びに自家試験データ等の内容を詳細に検討することとなった。今年度は照会事項の提出とその回答のやり取りを行っている。[近田俊文、加藤はる、鈴木里和、柴田尚宏、山根一和、荒川宜親、倉田毅（所長)]

８．乾燥 BCG 製剤及び精製ツベルクリン製剤の品質管理

平成 16 年度に実施した BCG ワクチン 13 ロット及び膀胱内用 BCG(日本株)5 ロット計 18 ロットの定量培養による力価試験成績は 49.6 ± 13.5 x 10^6 CFU/mg(昨年は 41.2 ± 9.6 x 10^6 CFU/mg であった。膀胱内用 BCG（コンノート株）8 ロットの力価試験成績は 6.21 ± 1.86x10^6 CFU/mg(昨年は 6.2 ± 2.3 x 10^6 CFU/mg)であった。浮遊菌液 1 mg/ml の OD による菌量測定試験は 0.120 ± 0.015 (昨年は 0.120 ± 0.030)であった。精製ツベルクリンは一般診断用 20 ロット、強反応者用 1 ロット計 35 ロットについて力価試験を行った平均値は＋0.90 ± 3.12 (昨年は＋0.10 ± 3.24)であった。[山本三郎、持田恵子、柴山恵吾、小澤良之、井口由美子]

Ⅱ．国家検定、国家検査、収去検査、特別審査、依頼試験等の実績

１．国家検定の実績

(1) 生物学的製剤（無菌試験）

月	試験実施件数	判定		再試験	取下げ
		合格	不合格		
4	61	61	0	0	0
5	60	60	0	0	0
6	68	68	0	0	0
7	54	54	0	0	0
8	53	53	0	0	0
9	198	198	0	0	0
10	87	87	0	0	0
11	56	56	0	0	0
12	48	48	0	0	0
1	60	60	0	0	0
2	32	32	0	0	0
3	98	98	0	0	0
計	875	875	0	0	0

(2) マイコプラズマ否定試験（無菌試験）

月	試験実施件数	判定		再試験	取下げ
		合格	不合格		
4	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	1	1	0	0	0
8	1	1	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
計	3	3	0	0	0

(3)

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン（最終段階）	20 ロット
沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド	4 ロット
沈降破傷風トキソイド	9 ロット
沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用するジフテリアトキソイド原液	6 ロット
沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用する破傷風トキソイド原液	4 ロット
乾燥まむしウマ抗毒素	2 ロット
乾燥はぶウマ抗毒素	1 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン	

(4)

乾燥 BCG 製剤	40 ロット
内訳	
乾燥 BCG ワクチン（最終製品）	13 ロット
80mg	5 ロット
40mg	2 ロット
12mg	6 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用日本株（最終製品）	5 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用コンノート株	8 ロット
乾燥 BCG ワクチン（中間段階）	10 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用日本株（中間段階）	4 ロット
精製ツベルクリン	35 ロット
内訳	
一般診断用（5μg）	1 ロット
一般診断用（1μg）	2 ロット
一般診断用（一人用）	31 ロット
強反応者用	1 ロット
ウイルスワクチン（結核菌否定試験）	3 ロット
内訳	
乾燥弱毒生風しんワクチン	1 ロット
乾燥弱毒生麻しんワクチン	2 ロット
書類審査	
ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用 0.5 mg）	45 ロット

(5)

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン（小分け製品）	20 件
血液製剤のエンドトキシン試験	468 件
生物製剤エンドトキシン試験	7 件
インフルエンザワクチン　マウス白血球数減少試験	74 件
コレラワクチン　マウス体重減少試験	1 件

２．国家検査(行政検査)の実績

(1)ジフテリア関係（試験担当者：小宮貴子）

平成 16 年 6 月 23 日付け(行政検査番号第 47016 号)、札幌市保健所からジフテリア診断のため、患者の咽頭スワブ､喉頭白苔スワブ､喉頭拭い液塗沫羊血液寒天培地、ペア血清の検査依頼を受けた。検体からジフテリア菌及び毒素、毒素遺伝子は検出されず、ペア血清のジフテリア抗毒素価も全て検出レベル以下で、抗毒素価の上昇はみられなかった。

(2) 破傷風関係（試験担当者：福田靖）

①平成 16 年 4 月 7 日付けで福島県衛生研究所より、臨床分離菌の破傷風毒素産生試験の依頼を受けた。依頼菌の培養濾液についてマウスによる毒性確認試験を行なった結果、依頼菌が破傷風毒素を産生する事を確認した。

② 平成 16 年 9 月 8 日付けで佐賀県衛生薬業センターより、患者血清中の破傷風抗体と破傷風毒素の検出試験の依頼を受けた。検査の結果、血清中の破傷風（中和）抗体価は 0.12 単位／mL であった。血清中からは破傷風毒素を検出できなかった。

③ 平成 16 年 9 月 24 日付けで島根県浜田医療センターより、患者血清中の破傷風抗体の検出試験と患者組織からの破傷風菌の分離・同定試験の依頼を受けた。血清中からは破傷風抗体は検出できなかった。組織から分離された菌を培養した培養濾液についてマウスによる毒性確認試験を行なった結果、分離菌が破傷風毒素を産生する事を確認した。

④ 平成 17 年 1 月 27 日付けで､福山市福山保健所より、検体からの破傷風菌の分離・同定試験と患者血清中の破

傷風抗体と破傷風毒素の検出試験の依頼を受けた。分離菌はマウスによる毒性確認試験を行なった結果、依頼菌が破傷風毒素を産生しないことを確認した。血清中の破傷風抗体価を測定した結果、抗破傷風人免疫グロブリン製剤投与前では 0.01 単位／mL 未満であったが、投与後では 1.28 単位／mL であった。また免疫グロブリン製剤投与前の血清中からは破傷風毒素を検出する事ができなかった。（行政検査番号第 47080 号）

(3) ボツリヌス関係（試験担当者：高橋元秀）

平成 17 年 2 月に成田税関支署よりボツリヌス毒素(バイアル）の確認試験依頼があり、マウスによる腹腔内試験法により毒素を定量した結果、ほぼ表示のボツリヌス A 型毒素を含有していることを確認した。

３．収去検査の実績

(1) 抗生物質医薬品

経口剤（ジョサマイシン）	1 ロット
経口剤（プロピオン酸ジョサマイシン）	1 ロット
注射剤（硫酸ネチルマイシン）	3 ロット
注射剤（セフトリアキソンナトリウム）	10 ロット

(2) 抗生物質製剤（無菌試験）

月	試験実施件数	判定		再試験	取下げ
		適	不適		
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	2	2	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	13	13	0	0	0
計	15	15	0	0	0

(3)

抗生物質エンドトキシン試験	13 件

４．特別審査の実績

(1) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構の依頼で平成 16 年 7 月 9 日、専門家として生物学的製剤の認可承認に関する対面相談に出席した。［高橋元秀］

(2) 薬事・食品衛生審議会薬事分科会　動物用医薬品等部会　動物用生物学的製剤調査会の委員等して、年 3～4 回開催される調査会に出席した。［高橋元秀］

(3)生物製剤エンドトキシン試験	6 件

５．標準品、参照品等

(1) 交付実績

日本薬局方抗生物質標準品　76 品目	計 644 本
日本薬局方外医薬品規格第四部常用標準品　1 品目	計 2 本
抗生物質試験用菌株　1 品目	計 1 本

標準ジフテリアトキソイド	4 本
標準沈降ジフテリアトキソイド	18 本
参照沈降ジフテリアトキソイド（混合ワクチン用）	104 本
標準ジフテリア抗毒素	11 本
参照ジフテリア抗毒素（フロキュラシオン用）	27 本
ジフテリア試験毒素（ウサギ試験用）	2 本
ジフテリア試験毒素（モルモット用）	11 本
シック試験毒素（動物用）	10 本
ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）	5 本
標準破傷風トキソイド	7 本
標準沈降破傷風トキソイド	33 本
参照沈降破傷風トキソイド（混合ワクチン用）	47 本
標準破傷風抗毒素	2 本
標準抗破傷風人免疫グロブリン	2 本
参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）	13 本
破傷風試験毒素	17 本
標準はぶ抗毒素	3 本
はぶ試験毒素（出血Ⅰ）	5 本

はぶ試験毒素（出血Ⅱ）	5 本
標準まむし抗毒素	8 本
まむし試験毒素（出血）	5 本
まむし試験毒素（致死）	15 本
標準ボツリヌス A 型抗毒素	1 本
標準ガスえそ抗毒素 *Cl.perfringens* Type A	3 本
標準ガスえそ抗毒素 *Cl.septicum*	3 本
標準ガスえそ抗毒素 *Cl.oedematiens*	3 本
標準精製ツベルクリン	50 本
BCG Tokyo-172 株	24 本
標準百日せきワクチン	81 本
参照百日せきワクチン(毒性試験用)	134 本

(2) 分与

参照沈降ジフテリアトキソイド（混合ワクチン用）	
宮村班共同研究用　中国	2 本
参照沈降破傷風トキソイド（混合ワクチン用）	
宮村班共同研究用　中国	2 本

(3) 標準菌株等（分与）

Corynebacterium ulcerans(ジフテリア毒素産生性)	
大阪府立公衆衛生研究所	1 本

(4) 作成

参照用 BCG ワクチン(Tokyo 172-2)	2,000 本

6. 依頼試験等

(1) 平成 16 年 2 月 25 日付け（共同研究の目的)、国保旭中央病院からヒト血清 1 検体のジフテリア抗毒素価測定依頼を受けた。これは、平成 14 年に千葉県旭市で発生したジフテリア毒素産生 *Corynebacterium ulcerans* 感染症患者の血中ジフテリア抗毒素価変動を経時観察するためのもので、今までの結果をまとめると、平成 14 年 11 月 11 日 0.334 IU/ml、平成 14 年 12 月 2 日 1.89 IU/ml、平成 15 年 4 月 14 日 2.76 IU/ml、平成 15 年 12 月 24 日 1.18 IU/ml､今回の平成 16 年 2 月 25 日は 0.920 IU/ml であった。

(2) 平成 15 年 8 月 25 日付け（共同研究の目的)、栃木県県南食肉衛生検査所からヒト血清 9 検体のジフテリア抗毒素価測定依頼を受けた。

(3) 平成 16 年 8 月 16 日付けで久留米大学病院より、臨床分離菌の破傷風毒素産生試験の依頼を受けた。依頼菌の培養濾液についてマウスによる毒性確認試験を行なった結果、依頼菌が破傷風毒素を産生する事を確認した。（共同研究）

(4) 平成 16 年 9 月 3 日付けで茨城県衛生研究所より､依頼検体（血液寒天培地・GAM 寒天培地）からの破傷風菌の分離・同定試験の依頼を受けた。分離菌の培養濾液についてマウスによる毒性確認試験を行なった結果、分離菌が破傷風毒素を産生しない事を確認した。(共同研究)

(5) 平成 16 年 11 月 10 日付けで山梨県衛生公害研究所より、依頼検体（血液寒天培地）からの破傷風菌の分離・同定試験の依頼を受けた。検体から分離された菌についてマウスによる毒性確認試験を行なった結果、分離菌が破傷風毒素を産生する事を確認した。(共同研究)

国際協力関係業務

Ⅰ．研修業務

１．中国上海生物製品研究所　朱威所長ら 8 名の来所に際して、ジフテリア破傷風トキソイドの品質管理に関する講義をおこなった（村山庁舎：平成 16 年 4 月 22 日）［第 3 室］

２．JICA の依頼により、ワクチン品質管理技術コース参加研修生（海外４名）にジフテリア破傷風トキソイドの品質管理について講義した（村山庁舎：平成１６年１１月１日）［第３室］

３．JICA の依頼により、ワクチン品質管理技術コース参加研修生(海外４名)に無菌性保証について講義した。（村山庁舎：平成 16 年 11 月 1 日）［第 2 室］

Ⅱ．国際協力［第 5 室］

１．WHO 全菌百日せきワクチン基準見直しとガイドライン案作成への参加

２．WHO コラボレーティングセンター活動
３．WHO SEARO の標準品作成および試験技術協力ネットワーク確立のための会議(Bangkok)参加
４．台湾食品医薬品検験局(BFDA)ワークショップ参加
５．英国 NIBSC との品質管理における協力
６．欧州薬局方第１５委員会での助言
７．欧州薬局方百日せきワクチン力価試験法検討会議参加

研修業務

Ⅰ．*Clostridium difficile* 関連下痢症／腸炎の細菌学的診断の実技指導

１．細胞培養法による toxin B の検出および培養、タイピングの研修

細胞培養法による糞便検体中の *C. difficile* toxin B 検出を中心とした *C. difficile* の細菌学的検査の実技研修を行った。[加藤はる、吉村由美子、豊川真弘（大阪大学医学部附属病院)、福田砂織（天理よろづ病院)]

２．PCR による毒素遺伝子の検出を中心とした細菌学的検査の研修

PCR による *C. difficile* 毒素遺伝子の検出を中心とした *C. difficile* の細菌学的検査の実技研修を行った。[加藤はる、吉村由美子、加藤宗博（名古屋市立大学臨床機能内科)、矢野久子、脇本寛子（名古屋市大看護学部)]

３．平成 16 年度希少感染症診断技術研修会において、国内のガス壊疽の発生状況と問題点について講義した（戸山庁舎：平成 17 年 2 月 21 日）[第３室]

その他

Ⅰ．行政科学に対する対応、及び研究

１．日本薬局方に関する活動

（１）独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員として、日本薬局方の抗生物質委員会及び標準品委員会に参加し、第 14 改正日局の改正案並びに第 15 改正日局の収載案の審議に従事した。[近田俊文]

（２）生物試験法委員会と製薬用水委員会活動に参加した。生物試験法委員会では、非無菌医薬品試験法の国際調和作業や微生物迅速計測法の日局導入作業に従事した。製薬用水委員会では、医薬品各条に収載されている製薬用水の見直し、参考情報に新規導入される「製薬用水の品質管理」の作成作業に従事した。[佐々木次雄]

２．抗生物質医薬品の試験法についての対応

日本薬局方及び旧日本抗生物質医薬品基準に収載された抗生物質医薬品（標準品を含む）の試験法についての質問、相談に対して E-mail 等による書面での回答を行った。[近田俊文]

３．ISO/TC198 活動

WG9 (Aseptic processing of health care products)国際委員として、今年度は ISO13408-1（無菌操作法に関する一般要件）の見直し作業に従事した。また、これまで ISO/TC198 から出された医療機器の滅菌及び滅菌保証に関する各種 ISO 規格の解説書作成に従事した。[佐々木次雄]

４．無菌医薬品製造ガイドライン作成

厚労省監視指導・麻薬対策課からの要請により、国際規格である ISO13408 シリーズ、FDA 無菌ガイドラインや EU-GMP に相当する日本版無菌ガイドラインとして「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を作成した。また、本指針の英訳版及び教育用 Power Point の作成にも従事した。[佐々木次雄、佐々木裕子]

５．超ろ過法によって製された注射用水の品質に関する調査

日局では、超ろ過法による注射用水の製造を認めているが、欧米では認めていない。日本では数社が超ろ過法で製した水を注射剤の仕込み水として使用している。そこで、超ろ過法で製された注射用水の品質を調べ、日本で超ろ過法によって製された注射用水の品質に問題ないことを実証するための研究班活動に従事した。
[佐々木次雄、他外部研究班員]

Ⅱ．感染症についての対応

１．*Clostridium difficile* 感染症についての対応

C. difficile 感染症の検査診断や院内感染を中心に

E-mail や電話等による質問、相談に対して個別に回答した。〔加藤はる〕

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

1. 欧文発表

1) Wachino J., Doi Y., Yamane K., Shibata N., Yagi T., Kubota T. and Arakawa Y. : Molecular Characterization of a Cephamycin-Hydrolyzing and Inhibitor-Resistant Class A β-Lactamase, GES-4, Possessing a Single G170S Substitution in theΩ-Loop. Antimicrob. Agents Chemother. ; 48(8): 2905-2910 August 2004

2) Doi Y., Wachino J., Ishiguro M., Kurokawa H., Yamane K., Shibata N., Shibayama K., Yokoyama K., Kato H., Yagi T. and Arakawa Y. : Inhibitor-Sensitive AmpC β-Lactamase Variant Produced by an *Escherichia* coli Clinical Isolate Resistant to Oxyiminocephalosporins and Cephamycins. Antimicrobial Agents Chemother 48(7):2652-2658 July 2004.

3) Wachino J., Doi Y., Yamane K., Shibata N., Yagi T., Kubota T., Ito H. and Arakawa Y. : Nosocomial Spread of Ceftazidime-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains Producing a Novel Class A β-Lactamase, GES-3, in a Neonatal Intensive Care Unit in Japan. Antimicrobial Agents Chemother. 48(6): 1960-1967 June 2004

4) Doi Y., Wachino J., Yamane K., Shibata N., Yagi T., Shibayama K., Kato H. and Arakawa Y. : Spread of Novel Aminoglycoside Resistance Gene aac(6')-Iad among Acinetobacter Clinical Isolates in Japan. Antimicrobial Agents Chemother. ; 48(6): 2075-2080. June 2004

5) Arakawa Y., Ike Y. and Nagasawa M. : Where has vancomycin-heterogeneously resistant Staphylococcus aureus gone? The Lancet, Volume 363, Issue 9418, 24 April 2004

6) Kato H., Yokoyama T. and Arakawa Y. : Typing by sequencing the *slpA* gene of *Clostridium difficile* strains causing multiple outbreaks in Japan. J. Medical Microbiology. 54:167-171. 2005

7) Yamane K., Doi Y., Yokoyama K., Yagi T., Kurokawa H., Shibata N., Shibayama K., Kato H. and Arakawa Y. : Genetic environments of the rmtA gene in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Antimicrobial Agents Chemotherraphy, 48(6): 2069-2074, June 2004

8) Kanai K., Shibayama K., Suzuki S., Wachino J. and Arakawa Y. : Growth Competition of Macrolide-Resistant and –Susceptible *Helicobacter pylori* Strains. Microbiology and Immunology, 48(12): 977-980, 2004

9) Kodama A., Kamachi K., Horiuchi Y., Konda T. and Arakawa Y.: Antigenic divergence suggested by correlation between antigenic variation and pulsed-field gel electrophoresis profiles of *Bordetella pertussis* isolates in Japan. J. Clinical Microbiology, 42(12): 5453-5457, 2004

10) Matsuoka M. and Sasaki T. : Inactivation of macrolides by producers and pathogens. Current Drug Targets-Infectious Disorders, 2004; 4 (3): 217-240

11) Matsuoka M., Narita M., Okazaki N., Ohya H., Yamazaki T., Ouchi K., Suzuki I., Andoh T., Kenri T., Sasaki Y., Horino A., Shintani M., Arakawa Y. and Sasaki T. : Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan. Antimicrob. Agents Chemother. 2004; 48 (12): 4624-4630

12) Kenri T., Seto S., Horino A., Sasaki Y., Sasaki T., Miyata M. : Use of fluorescent-protein tagging to determine the subcellular localization of *Mycoplasma pneumoniae* proteins encoded by the cytadherence regulatory locus. J. Bacteriol. 2004, 186, 6944-55

13) Seto S., Kenri T., Tomiyama T., Miyata M. : Involvement of P1 adhesin in gliding motility of *Mycoplasma pneumoniae* as revealed by the inhibitory effects of antibody under optimized gliding conditions. J. Bacteriol. 2005, 187, 1875-1877.

14) Sasaki Y., Shinkai-Ouchi F., Yamakawa Y., Kenri T., Horino A. and Sasaki T. : Analysis of *Mycoplasma penetrans* by using proteomics: development of new ELISA system for diagnosis. Proceeding of the 1st AOM meeting and the 31st JSM meeting. 23-25

15) Horino A., Kenri T., Sasaki Y., Okamura N. and Sasaki T. : MipR catalysis the promoter inversions in P35 family lipoprotein genes of *M. penetrans.* Proceeding of the 1st AOM meeting and the 31st JSM meeting. 42-43

16) Kenri T., Seto S., Horino A., Sasaki Y., Sasaki T., and Miyata M. : Subcellular localization of *Mycoplasma*

pneumoniae proteins visualized by fluorescent protein tagging. Proceeding of the 1st AOM meeting and the 31st JSM meeting. 95-96

17) Kenri T., Okazaki N., Narita M. and Sasaki T. : Typing analysis of clinical isolates of *Mycoplasma pneumoniae* in Japan. Proceeding of the 1st AOM meeting and the 31st JSM meeting. 97-98

18）Isaka M., Komiya T., Takahashi M., Yasuda Y., Taniguchi T., Zhao Y., Matano K., Matsui H., Maeyama J., Morokuma K., Ohkuma K., Goto N. and Tochikubo K. : Recombinant cholera toxin B subunit (rCTB) as a mucosal adjuvant enhances inducyion of diphtheria and tetanus antitoxin antibodies in mice by intranasal administration with diphtheria-pertussis-tetanus(DPT) combination vaccine. Vaccine 22. 3061-3068, 2004

19) Coplu N., Esen B., Gozalan A., Miyamura K., Yoshida I., Kurtoglu D., Nuvide Ozturk Dogan, Afacan G., Unal A., Ishida S. and Takahashi M. : Tetanus Antibody Assay Combining In-House ELISA and Particle Agglutination Test and Its Serosurvey Application in a Province in Turkey. Japanese Journal of Infectious Diseases 57(3),97-102. 2004

20) Fukuda T., Iwaki M., Komiya T., Arakawa Y. and Takahashi M. : Attempt to curtail the observation period of mice in the tetanus vaccine potency tests. Japanese Journal of Infectious Diseases 57, 257-259, 2004

21) Ohishi K., Takishita K., Kawato M., Zenitani R., Bando T., Fujise Y., Goto Y., Yamamoto S. and Maruyama T. : Molecular evidence of new variant *Brucella* in North Pacific common minke whales. Microbes and Infection, 6 1199-1204, 2004.

22) Ohishi K., Takishita K., Kawato M., Zenitani R., Bando T., Fujise Y., Goto Y., Yamamoto S. and Maruyama T. : Molecular characterization of *Brucella* from North Pacific common minke whale. Bridges Across the Ocean, Proceedings of Oceans'04, pp. 499-504, 2004

23) Ohishi K., Takishita K., Kawato M., Zenitani R., Bando T., Fujise Y., Goto Y., Yamamoto S. and Maruyama T. : Chimeric structure of omp2 of *Brucella* from Pacific common minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*). Microbiology and Immunology 49, 7889-7893, 2005

24) Aoki K., Matsumoto S., Hirayama Y., Wada T., Ozeki Y., Niki M., Domenech P., Umemori K., Yamamoto S., Mineda A., Matsumoto M. and Kobayashi K. : Extracellular Mycobacterial DNA-binding Protein 1 Participates in *Mycobacterium*-Lung Epithelial Cell Interaction through Hyaluronic Acid. J. Biological Chemistry. 279(38): 39798-39806, 2004

25) Matsumoto S., Matsumoto M., Umemori K., Ozeki Y., Furugen M., Tatsuo T., Hirayama Y., Yamamoto, S. Yamada T., Kobayashi K. : DNA Augments Antigenicity of Mycobacterial DNA-Binding Protein 1 and Confers Protection against Mycobacterium tuberculosis Infection in Mice. J Immunol 175:441-449, 2005

26) Yamamoto A., Sakai T., Ochiai M., Kamachi K., Kataoka M., Toyoizumi H. and Horiuch Y. : Augmenting effect of antibiotics on endotoxin activity may cause a safety problem. Microbiol. Immunol. 48, 97-102, 2004.

27) Ochiai M., Kataoka M., Toyoizumi H., Yamamoto A., Kamachi K., Arakawa Y., Kurata T. and Horiuchi Y. : Endotoxin content in *Haemophilus influenzae* type b vaccine. Jpn. J. Infect. Dis., 57, 58-59, 2004

28) Kamachi K., Arakawa Y. : Expression of a C-terminally truncated form of pertussis toxin S1 subunit effectively induces protection against pertussis toxin following DNA-based immunization. Infection and Immunity, 72:4293-4296, 2004

2. 和文発表

1）佐藤洋子、加藤はる、小岩井健司、酒井力：がんセンターにおける toxin A 陰性 toxin B 陽性 *Clostridium difficile* による下痢症の院内集団発生. 日本感染症学雑誌, 78(4): 312-319, 2004

2）加藤はる：*Clostridium difficile* 関連下痢症 - 分子疫学と細菌学的検査. JARMAM, 14(2): 121-126, 2004

3）沼田昇、吉田菊喜、加藤はる、荒川宜親：環境中の *Clostridium difficile* 汚染の調査法の検討-菌の採取法と分離培地の比較. 日本環境感染学会雑誌, 19(4): 475-482, 2004

4）横山敏之, 加藤はる：*Clostridium difficile* 関連下痢症発症の危険因子と感染についての疫学的検討. 共済エ

グザミナー通信 15 号, 2004

5) 中村功、国広誠子、加藤はる：*Clostridium difficile* 菌血症の１例. 日本感染症学雑誌, 78(12):1026-1030, 2004.

6) 清水敬樹、甲嶋洋平、加藤はる、荒川宜親、横手龍、杉田学、三宅康史、清田和也：急激な経過をたどり究明し得なかった劇症型 *Clostridium perfringens* 感染症の１例. ICU と CCU, 29(1): 63-70, 2005

7) 鈴木里和、武澤純：ICU における感染管理. CCU と ICU. 28(9): 669-675, 2004

8) 丸山英行、谷本弘一、柴田尚宏、菅野治重、池康嘉、荒川宜親：長期血液透析患者より分離されたバンコマイシン高度耐性の VanD 型 *Enterococcus raffinosus*. 日本臨床微生物学雑誌, 14(2), 104-110, 2004

9) 佐々木次雄：第 14 改正日本薬局方非無菌医薬品の微生物学的品質特性とその要件、p.65-81、技術情報協会編、2004。

10) 佐々木次雄：第 14 改正日本薬局方無菌試験法、p.149-162、技術情報協会編、2004

11) 佐々木次雄：日本薬局方１５局へ向けての新しい考え方、PDA Journal of GMP and Validation in Japan, 6(1): 38-45, 2004.

12) 佐々木次雄：滅菌技術、パラメトリックリリースの動向を聞く、Pharm Tech Japan 20: 1999-2000, 2004

13) 佐々木次雄：製薬用水の国際調和、今後の展開について、Pharm Tech Japan 20: 2505-2510, 2004

14) 上寺祐之、重松宏、馬場善三、熊田直人、佐々木次雄、滅菌バリデーションのポイント、Infection Control 231-235, 2004

15) 佐々木次雄、那須正夫、坂根健、城野久美子、松原正利、田中憲志、梶原庸生、棚元憲一：製薬用水中の微生物評価培地“R2A 培地”に関する研究、医薬品研究、35 (12): 638-652, 2004

16) 佐々木次雄、久保田眞由美、成田光生、荒川宜親：マクロライド耐性マイコプラズマ感染症に関する研究、Jpn. J. Antibiotics 58 Suppl. A 133-137, 2005

17) 佐々木次雄：日本の医療安全規制の現状と医療関係マネジメントシステムの動向について; ISO/TC198（ヘルスケア製品の滅菌）、JIS ハンドブック、医療安全、835-840, 2005

18) 岩城正昭、山根一和、高橋元秀: ジフテリア. からだの科学増刊　新興再興感染症　岡部信彦編 p196-200. 日本評論社. 2004.5

19) 高橋元秀: 破傷風トキソイド、ジフテリアトキソイド.（株）近代出版. 臨床と微生物　31(4)　p327-332. 2004.7

20) 高橋元秀、小宮貴子:ジフテリア.（株）医薬ジャーナル社　木村哲、喜田宏編. 人畜共通感染症　p183-186. 2004.8

21) 高橋元秀:ボツリヌス. 法研. 最新版　家庭医学大全科. 2004.11

22)岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀：ジフテリア　感染症の事典　114-116　編集；国立感染症研究所学友会　朝倉書店 2004.12

23) 岩城正昭、高橋元秀：乳児ボツリヌス症　感染症の事典　188-190　編集；国立感染症研究所学友会　朝倉書店 2004.12

24) 福田　靖、岩城正昭、高橋元秀：破傷風　感染症の事典　196-198　編集；国立感染症研究所学友会　朝倉書店 2004.12

25) 高橋元秀、岩城正昭、荒川宜親：ボツリヌス症、感染症の診断・治療ガイドライン 2004、160-163、 監修；日本医師会感染症危機管理対策室および厚生労働省健康局結核感染症課、2004.12

26) 高橋元秀：ボツリヌス症、361-365、感染症予防必携　第２版　編集者代表　山崎修道、(財) 日本公衆衛生協会　2005.1

27) 高橋元秀：ボツリヌス　116-118、ネオエスカ、感染症・アレルギーと生体防御、 編著　倉田　毅、同文書院　2005.3

28) 高橋元秀、岩城正昭. ジフテリアの現状 - 第一回会議（コペンハーゲン、WHO 欧州事務局）に参加して -. 感染症等情報 World Focus No. 66, 1-4, 2005

29) 山本三郎：DNA ワクチン、松島綱治他編、予防医学事典、pp.49-50、朝倉書店、2005

30) 高氏留美子、伊保澄子、山本三郎、松木孝澄：CpG DNA による plasmacytoid 樹状細胞のインターフェロン－α産生におけるシグナル伝達。臨床免疫。42(1):127-133, 2004

31) 山本三郎：結核、国立感染症研究所学友会編、感染

症の事典、pp.85-87、朝倉書店、2004
32) 柴山恵吾、荒川宜親：*Helicobacter pylori* 感染と細胞内シグナル伝達、日本細菌学会誌 59(2):415-424, 2004.
33) 柴山恵吾、荒川宜親：*Helicobacter pylori* より新たに見出されたアポトーシス誘導蛋白、Helicobacter Research Vol. 8 no.4: 321-325 2004
34) 山本明彦、落合雅樹、蒲地一成、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信 ： 医薬品のエンドトキシン試験法に関する新視点、エンドトキシン研究 7、209-216、2004
35) 鈴木政嗣、松本めぐみ、落合雅樹、山本明彦、蒲地一成、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信 丹羽 充 ：ファージディスプレイ法によるエンドトキシン研究の新戦略、エンドトキシン研究 7、65-72、2004
36) 片岡紀代、山本明彦、落合雅樹、豊泉裕美、蒲地一成、堀内善信：「日本薬局方エンドトキシン標準品力価検定に用いる試薬のバリデーションに関する研究」研究報告、医薬品研究、36(3)、129-135、2003

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Kato H., Arakawa Y. : Typing of *Clostridium difficile* strains causing multiple outbreaks in Japan by sequencing of the S-layer gene. First International *Clostridium difficile* Symposium. May, 2004, Slovenia.

2) Shibata N., Arakawa Y. : Characterization of class 3 integrons mediating metallo-beta-lactamase gene found in *Pseudomonas putida*. 4th Awaji Forum, Aug 31, 2004, Hyogo, Japan

3) Yamane K., Wachino J., Doi Y., Yokoyama K., Kurokawa H., Shibata N., Shibayama K., Kato H., Yagi T., Kai K., Arakawa Y. : Molecular Typing of 16S rRNA Methylase Genes Among Highly-Aminoglycoside Resistance Gram-Negative Bacilli Isolated in Japanese Hospital. American Society for Microbiology 104th General Meeting, May, 2004, New Orleans, USA

4) Suzuki S., Yoshida H., Sunagawa T., Ohyama T., Taniguchi K., Okabe N., Kamachi K., Arakawa Y. : Investigation of a *Serratia marcescens* outbreak in a neurosurgery unit related to tube-feeding. American Society for Microbiology 104th General Meeting, 2004, New Orleans, USA

5) Sasaki Y., Shinkai-Ouchi F., Kamakawa Y., Kenri T., Horino A. and Sasaki T. : Analysis of major antigens of *Mycoplasma penetrans* by using proteomics: development of a new ELISA system for diagnosis. Joint Congress of the 1st meeting of the Asian Organization for Mycoplasmology and the 31st meeting of Japanese Society of Mycoplasmology. Tokyo, Japan, Sep 30-Oct 2, 2004

6) Sasaki Y., Kawakami T., Nishimura T., Kenri T., Horino A., Arakawa Y. and Sasaki T. : Pyruvate dehydrogenase E2 component as a major antigen of *Mycoplasma penetrans*, a new ELISA system using recombinant PDH-E2. 15th Congress of International Organization for Mycoplasmology, Athens, Georgia, USA. July 11-16, 2004

7) Sasaki Y., Ishikawa J. and Sasaki T. Why Mycoplasma penetrans has relatively larger genome in the pneumoniae group? : a comparative analysis for the eight species in *Mollicutes*. 15th Congress of International Organization for Mycoplasmology, Athens, Georgia, USA. July 11-16, 2004

8) Kenri T., Okazaki N., Narita M. and Sasaki T. : Type shift of clinical isolates of *Mycoplasma pneumoniae* in Japan. 15th Congress of International Organization of Mycoplasmology, Athens, Georgia, USA. July 11-16, 2004

9) Kenri T., Seto S., Horino A., Sasaski Y., Sasaki T. and Miyata M. : Subcellular localization of the proteins encoded in the cytadherence regulatory locus of *Mycoplasma pneumoniae*. 15th Congress of International Organization of Mycoplasmology, Athens, Georgia, USA. July 11-16, 2004

10) Horino A., Kenri T., Sasaki Y. and Sasaki T. : Promoter inversions of *p35* homologue lipoprotein family genes of *Mycoplasma penetrans* are regulated by site-specific recombinase. 15th Congress of International Organization of Mycoplasmology, Athens, Georgia, USA. July 11-16, 2004

11) Horino A., Kenri T., Sasaki Y., Okamura N. and Sasaki T. : MipR catalysis the promoter inversions in P35 family lipoprotein genes of *M. penetrans*. Joint congress of the 1st Meeting of the Asian Organization for Mycoplasmology and the 31st Meeting of the Japanese Society of Mycoplasmology, Tokyo, September 30-October 2, 2004

12) Kenri T., Seto S., Horino A., Sasaki Y., Sasaki T. and Miyata M. : Subcellular localization of *Mycoplasma pneumoniae* proteins visualized by fluorescent protein tagging. Joint congress of the 1st Meeting of the Asian Organization for Mycoplasmology and the 31st Meeting of the Japanese Society of Mycoplasmology, Tokyo, September 30-October 2, 2004

13) Kenri T., Okazaki N., Narita M. and Sasaki T. : Typing analysis of clinical isolates of *Mycoplasma pneumoniae* in Japan. Joint congress of the 1st Meeting of the Asian Organization for Mycoplasmology and the 31st Meeting of the Japanese Society of Mycoplasmology, Tokyo, September 30-October 2, 2004

14） Yasuda Y., Isaka M., Zhao Y., Taniguchi T., Matano K., Matsui H., Mizokami M., Komiya T., Takahashi M., Maeyama J., Goto N., Morokuma K., Ohkuma K. and Tochikubo K. : Inportance of cholera toxin B subunit as a mucosal adjuvant in induction of protective immunity upon intranasal vaccination with co-administration of diphtheria toxoid, pertussis acellular vaccine and tetanus toxoid or influenza hemaggultinin vaccine. 12th International congress of immunology and 4th annual conference of FOCIS. Montreal, Canada, July 18-23, 2004

15) Yasuda Y., Isaka M., Zhao Y., Taniguchi T., Matano K., Matsui H., Mizokami M., Komiya T., Takahashi M., Maeyama J., Goto N., Morokuma K., Ohkuma K. and Tochikubo K. : Mucosal adjuvant of recombinant cholera toxin B subunit on humoral immunity against diphtheria-pertussis-tetanus combination vaccine, hepatitis B vaccine and influenza vaccine. Fourth world congress on vaccines and immunization. Tsukuba Scinece City/Tokyo, Sep 30 – Oct 3, 2004

16) Iwaki M., Komiya T., Hatanaka A., Tsunoda A., Okamoto M., Nakamura A., Ooe K., Arakawa Y. and Takahashi M. : *Corynebacterium ulcerans* infection in Japan. Eighth International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria, ELGWD and Diphtheria Surveillance Network (DIPNET). Copenhagen, June 16-18, 2004

17) Maeyama J., Isaka M., Yasuda Y., Tochikubo K., Yamamoto S. and Goto N. : Effect of cellular immune responses of recombinant cholera toxin B subunit as a mucosal vaccine adjuvant and its safety evaluation. The 4th World Congress on Vaccines and Immunisation, September 30-October 3, 2004, Tsukuba, Japan.

18) Osawa Y., Takauji R., Iho S., Kitagawa H., Takatsuka H., Matsuki T., Fujieda S., Yamamoto S. : Poly G-flanked palindromic CpG DNA Activates STAT1 and NF-κB through the p38 MAPK Pathway to Induce Autocrine IFN-α/β Receptor-Independent Production of IFN-α, IP-10, and MIP-1α in Human Plasmacytoid Dendritic Cells. The 8th Conference of the International Endotoxin Society, Nov. 15-18, 2004, Kyoto, Japan

19) Takatsuka H., Yamamoto S., Iho S., Osawa Y., Iida R., Tsubota E., Hemmi H., Akira S., Matsuki, T. : Impaired hepatic granuloma formation with normal host defense in MyD88-deficient mice. The 8th Conference of the International Endotoxin Society, Nov. 15-18, 2004, Kyoto, Japan

20) Yamamoto S., Yamamoto T., Lasco T.M., McMurray D.N. : BCG-vaccination modulates tumor necrosis factor alpha (TNF-α) production of the cells from guinea pigs infected with experimental pulmonary tuberculosis. The 40th Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program, December 7-10, 2004, Kyoto, Japan.

21) Matsumoto S., Aoki K., Hirayama Y., Wada T., Ozeki Y., Niki M., Domenech P., Umemori K., Yamamoto S., Mineda A., Matsumoto M. and Kobayashi K. : Extracellular mycobacterial DNA-binding protein 1 participates in *Mycobacterium*-lung epitherial cell interaction through hyaluronic acid. The 40th Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program, December 7-10, 2004, Kyoto, Japan.

22) Ohishi K., Takishita K., Kawato M., Zenitani R., Bando T., Fujise Y., Goto Y., Yamamoto S. and Maruyama T. : Molecular characterization of *Brucella* from North Pacific common minke whale. Oceans'04, November 2004, Kobe.

23) Ohishi K., Takishita K., Kawato M., Zenitani R., Bando T., Fujise Y., Goto Y., Yamamoto S. & Maruyama T. New variant of *Brucella* from whales inhabiting western North

Pacific. Wildlife Disease Association International Conference, June-July, 2005, Cairns, Australia

24) Yamamoto, A., Okada, K., Tsuda, B., Kimura, Y., Tanaka, K., Mizuguchi, Y., Kataoka, M., Nagata, N., Ochiai, M., Kmachi, K., Toyoizumi, H., Miyazaki, C., Nishima, S., Ueda, K., Arakawa, Y., Kurata T. and Horiuchi Y. : Relationship between severe local reaction for booster doses of Diphtheria Tetanus Acellular pertussis vaccine and residual pertussis toxin activity, 4th world congress on vaccines and immunization, Ibaraki, 2004、10.

25) Yamamoto A., Ochiai M., Kmachi K., Kataoka M., Toyoizumi H., Arakawa Y., Horiuchi Y. : A cell line assay system for predicting the response of human blood to endotoxin, The 8th conference of the international endotoxin society, Kyoto, 2004, 11.

26) Ochiai M., Kataoka M., Toyoizumi H., Yamamoto A., Kamachi K., Arakawa Y. and Horiuchi Y. : A quantitative in vitro assay for detecting biological activity of endotoxin using rabbit peripheral blood. The 8th Conference of the International Endotoxin Society, November 15-18, 2004, Kyoto, Japan

27) Yamamoto A., Ochiai M., Horiuchi Y., Suzuki M.F., Kobayashi T., Omi H., Takagi T., Niwa M. : Novel LPS-binding cyclic peptides and cytokine-binding peptides. The 8th conference of the international endotoxin society, Kyoto, 2004, 11.

28) Yamamoto A., Ochiai M., Horiuchi Y., Suzuki M.F., Matsumoto M., Takagi T., Niwa M. : Phage display method for isolating novel LPS-binding peptides. The 8th conference of the international endotoxin society, Kyoto, 2004, 11

２．国内学会

1) 加藤はる、山根一和、本田芳宏、佐藤洋子、荒川宜親：*Clostridium difficile* 関連腸炎事例における臨床細菌検査の重要性．第 78 回日本感染症学会総会、2004 年 4 月

2) 加藤はる：検査部における抗菌薬関連腸炎への対応 -*Clostridium difficile* の細菌学的検査、院内感染対策-. 第 7 回近畿耐性菌研究会学術講演会特別講演、2004 年 8 月

3) 加藤はる、荒川宜親、横山敏之：*slp*A 遺伝子のシークエンスによる *Clostridium difficile* のタイピングと臨床検体からの直接タイピングへの応用．第 53 回日本感染症学会東日本地方会総会、2004 年 10 月

4) 加藤はる、荒川宜親：*Clostridium difficile* の *slpA* 遺伝子のシークエンシングによる糞便検体からのダイレクト・タイピング. 第 34 回日本嫌気性菌感染症研究会、2005 年 3 月

5) 福田砂織、小松方、加藤はる、岩崎瑞穂、長坂陽子、阿部教行、山本慶和、松尾収二、荒川宜親：*Clostridium difficile* toxin A-negative, toxin B-positive 株の分離調査．第 34 回日本嫌気性菌感染症研究会、2005 年 3 月

6) 山根一和、和知野純一、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親：グラム陰性桿菌にアミノグリコシド高度耐性を付与する 16S rRNA メチレースの型別と臨床分離株の保有調査．第 16 回日本臨床微生物学会総会、2005 年 2 月、京都

7) 和知野純一、土井洋平、山根一和、柴田尚宏、八木哲也、伊藤秀郎、荒川宜親：*Klebsiella pneumoniae* より同定されたセファマイシン分解性 GES 型 classA β-ラクタマーゼの解析．第 77 回日本細菌学会総会、大阪、4 月 1 日、2004 年

8) 柴田尚宏、山根一和、和知野純一、加藤はる、荒川宜親： 腸内細菌科における CTX-M-型 β-ラクタマーゼと IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子の同時保有株解析．第 78 回日本感染症学会総会、東京、4 月 6 日、2004 年

9) 吉田英樹、加来浩器、砂川富正、大山卓昭、谷口清州、岡部信彦、加藤はる、蒲池一成、柴田尚宏、山根一和、荒川宜親： バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)院内感染事例の疫学調査．第 78 回日本感染症学会総会、東京、4 月 6 日、2004 年

10) 柴田尚宏、山根一和、和知野純一、鈴木里和、荒川宜親：同一医療施設から分離された新型 CTX-M-型 β-ラクタマーゼ遺伝子と IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子を同時に保有する大腸菌および肺炎桿菌．第 33 回薬剤耐性菌シンポシウム、富山、7 月 30 日、2004 年

11) 柴田尚宏：我が国におけるグラム陰性桿菌のメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌と基質拡張型 β-ラクタマーゼ産生菌（β-ラクタマーゼ産生菌の検出法と β-ラクタマーゼ遺伝子の保有状況）. 第 33 回薬剤耐性菌シンポシウム、

富山、7 月 31 日、2004 年

12) 小畑律子、山田友紀、昆浩、黒田牧子、伊東みち子、野々宮百合子、山端久美子、諏訪部章、柴田尚宏、荒川宜親：当院で分離した VIM-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Acinetobacter baumannii* の一例．第 45 回東北医学検査学会、山形、10 月 9 日、2004 年

13) 柴田尚宏、和知野純一、山根一和、鈴木里和、黒川博史、加藤はる、荒川宜親：臨床分離株から検出された classC β-ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌の分布．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

14) 和知野純一、八木哲也、黒川博史、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、荒川宜親：ボロン酸化合物を用いた classC β-ラクタマーゼ産生菌の簡易検出法の開発．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

15) 鈴木里和、柴田尚宏、和知野純一、山根一和、伊藤健一郎、荒川宜親：CTX-M-型β-ラクタマーゼ産生大腸菌の広域伝播に関する検討．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

16) 金森志津子、中河竜也、多賀由紀子、森田未香、吉田郁子、中村政雄、辻田由加利、柴田尚宏、荒川宜親：富山県下におけるメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌調査．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

17) 楢本和美、西山秀樹、池上志乃富、服部真由子、白山秀夫、柴田尚宏、荒川宜親：当院におけるメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌検出状況について．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

18) 山田友紀、畠山裕司、昆浩、黒田牧子、伊東みち子、野々宮百合子、小畑律子、山端久美子、小笠原理恵、諏訪部章、柴田尚宏、荒川宜親：抗菌薬適正使用ガイドライン施行後におけるメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の検出状況．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

19) 薮崎史子、粳田和美、勝岡康子、栗田雅史、柴田尚宏、荒川宜親：当院で検出された CTX-M 型β-ラクタマーゼ産生腸内細菌 4 症例の検討．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

20) 堀光広、笹野正明、柴田尚宏、荒川宜親：下痢症患者より検出された CTX-M-9 型β-ラクタマーゼ産生非チフス性 Salmonella sp.について．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

21) 森木省治、野畑亜希子、森山英彦、柴田宏、熊倉俊一、益田順一、柴田尚宏、荒川宜親：血清型の異なる IMP-1 型 metallo-b-lactamase 産生 *Pseudomonas aeruginosa* の臨床微生物学的検討．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

22) 藤方理恵、越智美智、西原真二、田村ひろみ、古谷敬三、北尾孝司、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親：当院における ESBL 産生菌の集団発生について．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

23) 三浦明子、佐藤牧子、山田友紀、山端久美子、諏訪部章、柴田尚宏、荒川宜親：当院で検出された ESBL 産生グラム陰性桿菌 8 症例について．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

24) 益井加代子、柴田尚宏、荒川宜親：創部開放膿より検出された CTX-M type β-ラクタマーゼ産生大腸菌の一症例．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

25) 小林治、柴田尚宏、荒川宜親： CTX-M-9 タイプβ-ラクタマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae* の 1 例. 第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

26) 本間操、大貫雅子、柴田尚宏、荒川宜親：国内で初めて検出された CTX-M-8 型β-ラクタマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae* の一例. 第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

27) 畑中公基、鈴木弘子、齋藤武郎、下地眞哉、三田正行、柴田尚宏、荒川宜親：敗血症患者より検出された CTX-M-36 型 b-lactamase を産生する *Klebsiella pneumoniae* について．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

28) 大貫雅子、岡田真実、本間操、柴田尚宏、荒川宜親：当院で検出された CTX-M-2 型β-ラクタマーゼ産生 Proteus mirabilis の 2 症例．第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

29) 高野さかえ、常松範子、斉木由美子、柴田尚宏、荒川宜親：関東で初めて検出された VIM-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Pseudomonas fluorescens* の 1 症例. 第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005

年

30) 村井明子、神農和枝、玉崎涼子、足立規子、田中信之、柴田尚宏、荒川宜親：尿培養より検出された IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌の１例. 第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

31) 上村桂一、柴田尚宏、鈴木健之、後藤文子、荒川宜親：IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼを保有した血液培養由来の *Enterobacter aerogenes* について. 第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

32) 佐藤修子、原明子、高橋恵、西原弘人、渋谷泰寛、手島保、柴田尚宏、荒川宜親、上久律子：尿より検出された IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Enterobacter cloaca* の 1 症例. 第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 4 日、2005 年

33) 柴田尚宏：グラム陰性桿菌におけるβ-ラクタマーゼ産生菌. 第 33 回薬剤耐性菌シンポシウム、富山、7 月 30 日、2004 年

34) 柴田尚宏：モーニングセミナー９：ここまでやっておこうグラム陰性桿菌の耐性検査. 第 16 回日本臨床微生物学会総会、京都、2 月 6 日、2005 年

35) 門脇昭夫, 小別所明美, 鈴木里和, 荒川宜親：VRE 院内感染報告. 第 16 回日本臨床微生物学会、2005 年 2 月、京都

36) 名和由一郎、谷本一史、中瀬浩一、小塚輝彦、原雅道、萬井美貴子、森高智典、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親：血液病棟における ESBL（Extended-Spectrum β-lactamase）産生大腸菌の集団発生事例の経験とその対策. 日本血液学会・日本臨床血液学会回総会、2004 年 11 月

37) 佐々木裕子、マイコプラズマゲノムに見られる寄生体の宿主との相互作用：退行進化とパラログ形成、日本進化学会第６回大会（病原性の進化ワークショップ）、2004 年８月４−７日、東京

38) 佐々木裕子、永田典代、網　康至、須崎百合子、佐々木次雄、荒川宜親、*Mycoplasma fermentans* は、リンパ球にアポトーシスを誘発し血管内皮細胞と腎糸球体に感染する、第 77 回日本細菌学会総会、2004 年４月１日 – ３日、大阪

39) 佐々木裕子、川上隆雄、大内（新開）史子、見理　剛、堀野敦子、山河芳夫、佐々木次雄、プロテオミクス解析を用いた *Mycoplasma penetrans* の抗原蛋白ならびに膜蛋白の解析、微生物ゲノム研究のフロンテイア、第 7 回ワークショップ、2004 年 3 月 5-6 日、木更津、千葉

40) 佐々木次雄、久保田眞由美、荒川宜親：*Bartonella quintana* 感染症（塹壕熱）疫学調査結果と血清診断法の問題点、第 77 回日本細菌学会総会、2004 年４月、大阪市

41) 佐々木次雄、久保田眞由美、成田光生、荒川宜親：マクロライド耐性マイコプラズマ感染症に関する研究、マクロライド新作用研究会、東京、2004 年７月

42) 佐々木次雄：無菌操作法による無菌医薬品製造指針について、「GMP とバリデーションをめぐる諸問題に関するシンポジウム」、日本防菌防黴学会、2004 年 3 月、東京

43) 堀野敦子、見理　剛、佐々木裕子、佐々木次雄：*Mycoplasma penetrans* 膜リポタンパク質遺伝子のプロモーター逆位の検出、第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月 1-3 日

44) 見理　剛、瀬戸真太郎、堀野敦子、佐々木裕子、宮田真人、佐々木次雄：GFP を利用した *Mycoplasma pneumoniae* の細胞構造の観察、第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月 1-3 日

45）高橋元秀、岩城正昭、福田　靖、小宮貴子、新谷三春、荒川宜親、佐々木次雄：Hib ワクチンにキャリアーとして含まれる破傷風トキソイドの免疫原性、第 77 回日本細菌学会総会　平成 16 年 4 月　大阪

46）片岡紀代、山本明彦、永田典代、後藤紀久、加藤博史、落合雅樹、蒲地一成、豊泉裕美、高橋元秀、荒川宜親、倉田毅、堀内善信：国内外沈降精製 DPT ワクチンの比較と検討　第 77 回日本細菌学会総会　平成 16 年 4 月　大阪

47）岩城正昭、三枝智美、高橋元秀：マウスを用いたジフテリア菌感染実験系の検討　第 77 回日本細菌学会総会　平成 16 年 4 月　大阪

48) 岩城正昭、福田靖、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀：抗破傷風人免疫グロブリン製剤の現状、　第 8 回日本ワクチン学会　平成 16 年 10 月　札幌市

49) 福田靖、小宮貴子、岩城正昭、益見厚子、末原章宏、多田善一、長井正昭、坂口孝廣、小幡朗、荒川宜親、高橋元秀：ジフテリア及び破傷風トキソイドにおけるトキ

ソイド抗原とたん白含量の測定に関する感染研と国内製造所による比較検討について、　第８回日本ワクチン学会　平成 16 年 10 月　札幌市

50) 前山順一、山本三郎、井坂雅徳、安田陽子、諸熊一則、大隈邦夫、栃久保邦夫、後藤紀久：組換えコレラ毒素 B サブユニット(rCTB)添加 BCG 経鼻免疫後の rCTB 単独頻回追加投与による DTH 増強効果、第 77 回日本細菌学会総会、2004 年 4 月　大阪市。

51) 山崎剛、山本三郎、芳賀伸治、本多三男：結核防御免疫における BCG 接種モルモット IFN-γおよび CD4 double positive T　細胞の意義、第 74 回実験結核研究会、2004 年 4 月　名古屋市

52) 山本三郎：第 52 回化学療法学会総会シンポジウム：感染症における BRM 療法の現状と展望－CpG DNA を用いた BRM 療法の可能性、2004 年 6 月　宜野湾市

53) 山本十糸子、山本三郎：BCG の抗結核効果に及ぼす CpG DNA の修飾作用、第 79 回日本結核病学会総会、2004 年 4 月　名古屋市

54) 大澤陽子、伊保澄子、高氏留美子、高塚尚和、松木孝澄、藤枝重治、山本三郎：CpG DNA 刺激ヒト形質細胞様樹状細胞における NF-κB と p38 MAPK の相互作用、第 34 回日本免疫学会学術集会、2004 年 12 月　札幌市

55) 大石和恵、瀧下清貴、河戸勝、銭谷亮子、坂東武治、藤瀬良弘、後藤義孝。山本三郎、丸山正　北西太平洋に棲息するミンククジラにおけるブルセラ菌感染症の解析　第１６回日本比較免疫学会、2004 年８月　那覇市

56) 大石和恵、瀧下清貴、河戸勝、銭谷亮子、坂東武治、藤瀬良弘、後藤義孝、山本三郎、丸山正　PCR 法による北西太平洋ミンククジラにおけるブルセラ菌遺伝子の検出と配列の解析　第１３８回日本獣医学会、2004 年 9 月　札幌市

57) Matsumoto, S., Matsumoto, M., Umemori, K., Ozeki, Y., Furugen, M., Tatsuo, T., Hirayama, Y., Yamamoto, S., Yamada, T., Kobayashi, K.: The role of Mycobacterial DNA-binding protein 1-DNA complex in the host protection against *Mycobactereium tuberculosis*、第 34 回日本免疫学会総会、2004 年 12 月　札幌市

58) 柴山恵吾、荒川宜親：Apoptosis 誘導に関与するγ-GTP 様酵素、第 77 回日本細菌学会総会、大阪、4 月 1-3 日、2004 年

59) 山本明彦、落合雅樹、蒲地一成、片岡紀代、豊泉裕美、荒川宜親、堀内善信：ゲンタマイシンによるエンドトキシンの活性増強、第７７回日本細菌学会総会、大阪 2004 年 4 月

60) 堀内善信、豊泉裕美、片岡紀代、岡田賢司、山本明彦、永田典代、落合雅樹、蒲地一成、倉田　毅、荒川宜親：ワクチンの実験室品質管理試験と安全性・副反応との関連性、第 8 回日本ワクチン学会学術集会、札幌 2004 年 10 月

61) 落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、蒲地一成、山本明彦、荒川宜親、堀内善信、生体内での発熱活性を反映するエンドトキシン試験法の検討、第 77 回日本細菌学会総会、2004 年 4 月、大阪

62) 片岡紀代、山本明彦、永田典代、後藤紀久、加藤博史、落合雅樹、蒲地一成、豊泉裕美、高橋元秀、荒川宜親、堀内善信、国内外沈降精製 DPT ワクチンの比較と検討、第 77 回日本細菌学会総会、2004 年 4 月　大阪

63) 加藤博史、今井順一、浜口功、河村未佳、内藤誠之郎、前山順一、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成、遺伝子発現の網羅的解析によるワクチンの新しい安全性評価法の開発、日本薬学会第 125 年会、2005 年 3 月　東京

64) 蒲地一成、永田典代、近田俊文、荒川宜親：百日咳菌に認められた広宿主域プラスミドの遺伝子解析。第７７回日本細菌学会総会、大阪　４月２日　２００４年

65) 児玉温子、蒲地一成、近田俊文、堀内善信、荒川宜親：近年増加傾向にある百日咳菌が有する主要抗原遺伝子について。第７７回日本細菌学会総会、大阪　４月２日　2004 年

6.寄生動物部

部長　遠藤卓郎

概　要

寄生動物部における研究活動は専門性と継続性の重視と社会還元を基調とし、原虫・蠕虫類に係る疫学、生理学、生化学、分子生物学ならびに、これらに起因する疾病の予防と診断に関する研究を行っている。研究事業としては、所内関連部の協力を得つつ「食生活と環境の変化に伴う寄生虫･原虫症の対策と監視強化に関する研究」を継続している。

本年度に当該研究部で研究対象とした寄生虫類はミクロスポリジア、胞子虫類、ジアルジア、病原性を有する自由生活性アメーバ類、赤痢アメーバ、マラリア等の原虫類、および、住血吸虫、多包条虫、アライグマ回虫、広東住血線虫、肺吸虫、アニサキス等々の蠕虫類で、寄生虫症の多様化傾向が続いている。一方、研究手法は他の研究分野と同様に遺伝子関連技術が積極活用されており、これに加えてプロテオーム研究への萌芽的な取り組みも始まった。

エキノコックス対策として「動物由来寄生虫症の流行地拡大防止対策に関する研究」が継続実施されており、転居等により北海道から他都府県への移動犬を対象とした感染実態調査を実施している。あわせて、エキノコックスの検査法の評価、ならびに改良･開発を行っている。また、アライグマ回虫の汚染予防に向けて動物展示施設および野生アライグマの検査を継続している。さらに、親水施設を介した感染事故を防ぐ視点から首都圏の河川での寄生虫調査を行い、大平肺吸虫に寄生した汽水産カニを多数検出している。本年は第１中間宿主が確認され、河川敷で生活環が完結していることが明らかとなった。また、ここ数年エスニック料理を介したと推測される肺吸虫症の患者がアジア系在日外国人に多くみられ、邦人への広がりが危惧される。アニサキス症はわが国に固有のものではないが、患者数が多いことで良く知られる。アニサキス感染に伴うアレルギーの病態はヨーロッパとわが国とで著しく異なっており、この違いの解明に向けて起因アニサキスの遺伝的背景の解析を始めた。わが国における赤痢アメーバ症の届け出患者数は年間およそ500 例におよび、暫増傾向を示している。しかしながら、病原種 *E. histolytica* と形態的同種である *E. dispar*（非病原種）との区別がされておらず、真の赤痢アメーバ症の実態は不明である。当該部では分別診断に向けた支援体制を整備し、その普及に努めている。併せて、赤痢アメーバの創薬研究、病原性解明の一環として膜輸送に係る分子機能の解析が進められた。ミクロスポリジア研究では *E. cuniculi* の胞子に係る網羅的な蛋白解析によりこれまでに 9 種の抗原蛋白が同定された。また、自己開発の遺伝子診断によりわが国で初めてリスザルから *E. cuniculi* の検出に成功した。水道水におけるクリプトスポリジウム等による汚染問題は頻繁な水の再利用と水の再生循環に要する時間の短縮が基本要因で、今後とも水系汚染リスクの増大が懸念される。これら原虫類による汚染防止策の一環として紫外線照射による不活化を検討しているが、今回はサイクロスポラの不活化に要する紫外線量を決定した。また、クリプトスポリジウム／ジアルジアの特異遺伝子解析と遺伝子情報の拡充に努めている。自由生活性アメーバはレジオネラの宿主として注目される一方でそれ自体の病原性が問題となる。わが国の入浴施設等におけるアメーバ汚染の実態調査と分離株の病原性についての一連の研究（厚生科研）から、日本各地で *Naegleria australiensis*、*N. philippinensis* の棲息が確認され、マウスに対する病原性が実証された。また、わが国のアメーバ性髄膜脳炎 6 症例を再検討し、その多くが *Balamuthia mandrillaris* に起因したものであったことを確認した。*Balamuthia* に関しては環境中での生息場所や感染経路が不明で、検出方法についても今後の研究に待たれる。

本年度は 2005 年 1 月に外来寄生動物室長の野崎智義が群馬大学に転出した。後任人事の結果、17 年度初旬に新任者の配属が予定されている。現在は職員定員数 10

名（欠員 1 名)、これに研究臨時職員 4 名、客員研究員 1 名、協力研究員および流動研究員 21 名、実習生 2 名の協力を得て運営されている。

業　績

調査・研究

Ⅰ.疫学

1. サル類における播種性 *Encephalitozoon cuniculi* 感染の血清疫学的解析

播種性 *Encephalitozoon cuniculi* 感染の動物飼育コロニー内流行状況を推定する方法として ELISA 法による胞子抽出抗原に対する IgG 抗体の平均 ELISA＋3SD 値の測定が血清疫学的指標として有用である。今回はニホンザルにおける *E. cuniculi* 感染の血清疫学的解析のため、1989－1999 年採取の 46 血清検体と 2004 年採取の 45 血清検体を用いて、胞子抽出抗原－ELISA 法による IgG 抗体の測定を行った。1989－1999 年採取検体の平均 ELISA+3SD 値は 0.043＋0.12、2004 年採取検体では 0.012＋0.084 と非常に低い値が得られ、検体別でも有意に高い ELISA 値を示す個体は認められなかった。同血清検体を用いた Western Blot 解析、全胞子抗原を用いた酵素抗体法でも有意に高い IgG 抗体が認められなかったことから、今回研究対象にしたニホンザルは血清疫学的に *Encephalitozoon* 非流行のコロニー群であったことが示唆される。

[古屋宏二、朝倉登喜子、松林伸子(京都大学霊長類研究所)、松林清明(京都大学霊長類研究所)]

2. インドにおける腸管寄生性原虫クリプトスポリジウムの分離と遺伝子診断に関するトライアル実験

インドの国立コレラ・腸管感染症研究所が採取し、現地の方法（Kinyoun 染色法）で *Cryptosporidium* オーシストが検出された下痢便２検体、不検出であったが感染が疑われた下痢便２検体について、蔗糖密度遠心浮遊法による光顕観察、*Cryptosporidium* 特異モノクローナル抗体を用いた免疫蛍光染色法、抽出 DNA を使った COWP 遺伝子領域に対する nested DNA 法を行った。その結果、光顕観察検出法で検体４例中３検体、共焦点走査型レーザ顕微鏡による免疫抗体染色検出法で僅少ながらも全例を陽性と判定したが、抽出 DNA による PCR 陽性例は認められなかった。今後、低濃度のオーシストからの特異 DNA の抽出法の改善・工夫など高感度な遺伝子診断のための更なる検討を必要とすると考えられた。

[Seuli Saha Roy(インド国立コレラ・腸管感染症研究所), 古屋宏二, Pradeep Das(インド国立コレラ・腸管感染症研究所)]

3. 本邦初の水泳プールを介したクリプトスポリジウム集団発生事例

2004 年 8 月下旬、長野県においてクリプトスポリジウム集団感染が発生した。当初、水道水等を介した水系感染が疑われたが患者発生状況等から水道水との関連性は否定された。患者の行動等に関する疫学的調査の結果、合宿で県外より集まっていた学生、小学生児童らの利用していたプールおよび洗面所流しが感染源と推定された。感染源の特定に向けて分子疫学的調査が行われた結果、患者の検便、感染源と疑われた環境試料からの分離株はすべて同一の遺伝子型（*C.parvum*　ヒト型）であることが確認された。本事例は国内初の水泳プールを介した集団感染事例であり、今後リクリエーション水の衛生管理の重要性が指摘された。

[八木田健司、泉山信司、長野県北信保健所、千葉県衛生研究所、千葉市環境保健研究所、埼玉県衛生研究所、さいたま市保健所]

4. 温泉･公衆浴場、その他の温水環境におけるアメーバ性髄膜脳炎の病原体の疫学と病原性発現に関する研究

温水を棲息場所とする *Naegleria fowleri*、*Acanthamoeba spp.*および *Balamuthia mandrillaris* 等の髄膜脳炎の起因アメーバ類を対象とした汚染実態調査、検査･診断法の普及･開発を企図し、併せて本症の病理学的な検討を行った。併せて、協力地方衛生研究所にアメーバの分離・解析技術の普及が図られた。

(1)　汚染実態と汚染回避

本事業では疫学調査として、全国 14 地域の地衛研の協力を得て各地域の温水利用施設から水試料を採取し、アメーバの分離･同定を進め、汚染実態の把握に努めた。温泉浴用水及びその排水などの温水環境から高率にアメーバが検出され、その中でネグレリア属アメーバは優占

種の１つであることが示された。ネグレリア属アメーバの簡易分類法の開発とそれを用いた解析により、日本各地に病原性を有することが知られる *N. australiensis*、*N. philippinensis* の棲息が確認され、マウスに対する致死的な障害性が実証された。これまでのところ、これらのアメーバは体表の傷口や経鼻感染の証拠は無いが、入浴者への不測の感染事故を回避する上で汚染防止は必須である。この件に関しては、浴用水におけるアメーバ汚染防止にかかる衛生管理として塩素消毒が有効であることが当該研究によって確認され、有効遊離残留塩素濃度は 0.2mg/L 以上であることも示された。本研究事業を通じて協力地方衛生研究所にアメーバの分離・解析技術が導入された。

[八木田健司、泉山信司、下河原理江子、小村麻子]

(2)　わが国におけるアメーバ性髄膜脳炎の起因アメーバの同定

わが国ではアメーバ性髄膜脳炎の報告例は稀で、その実態は不明な点が多い。本研究ではわが国で報告されたアメーバ性脳髄膜炎の剖検例につき病理学的に再検討を行い、各アメーバによる脳髄膜炎の臨床的特徴および、組織所見・病変分布等々の病理組織学的特徴について比較検討した。また、特異蛍光抗体法によりわが国のアメーバ性髄膜脳炎 6 例全例の起因アメーバ種を特定した。すなわち、わが国には *N. fowleri* および *Acanthamoeba* sp. による脳炎患者が各 1 名、他の 4 例は全て ***B. mandrillaris*** に起因することが証明された。さらに、マウスを用いた感染実験により脳髄膜炎の初期像を検討し、病態発症メカニズムについて明らかにすると共に、ヒト剖検脳の病理組織像との比較をすることができた。*Balamuthia* は症例が最も多いにもかかわらず、環境中でのアメーバの生息場所、感染経路、検出方法等々について不明で、今後の調査･研究に待たれる。

[八木田健司、泉山信司、高橋　均（新潟大学脳研究所）、林森太郎（新潟大学脳研究所）]

(3)　宿主アメーバで増殖するレジオネラ属菌の定量

レジオネラ感染における宿主アメーバの重要性を明らかにするために、宿主細胞内で増殖しうる菌数を定量した。宿主アメーバに *Acanthamoeba*　、レジオネラ属菌に *L.pneumophila*/SG1 を用い、感染後、菌が細胞内にて活発に運動するアメーバをマイクロマニピュレーション法で単離し、アメーバを崩壊後、BCYE α 培地を用いて菌数を定量した。その結果、1 個の宿主細胞あたりの培養可能な菌数はおよそ 1,200 と算定され、エアロゾルを用いた動物実験より算定されている感染成立濃度に近い菌数が１個の宿主アメーバ内に存在し得ることが明らかとなった。

[八木田健司、下河原理江子、泉山信司]

(4)温水環境分離菌の宿主アメーバに対する増殖阻害性

バイオフィルムの構成菌種がレジオネラの宿主アメーバの生態に影響を及ぼす可能性を明らかにするために、自由生活性アメーバ 4 株（*Acanthamoeba* sp. 、*Naegleria lovaniensis*、 *Hartmennella* sp.ならびに *Platyamoeba* sp. ）を用いて、温水環境より分離した従属栄養細菌 9 株 および対照としての大腸菌 DH1 株を餌としたときの増殖性を調べた。その結果、調べた 9 株の細菌中 1 株がすべてのアメーバに対し阻害的作用を示した。その他 5 菌種がアメーバ株によって増殖性に比較的大きな差がみられ、他の 3 菌種ではアメーバ増殖性に差がみられなかった。バイオフィルム中のアメーバの存在に、共存する菌の種・株が影響することが示唆された。

[下河原理江子、八木田健司、黒木俊郎（神奈川衛研)、泉山信司]

(5)環境分離アメーバ株の凍結保存法の改良

アメーバの疫学調査において得られた環境分離株に関して、Virulence の維持やクローンの保持のために凍結保存法の検討を試みた。Glycerol 溶液を用いた凍結保存は、6 ヵ月以上の保存期間後において継代が可能であることを確認した。併せて、操作の簡略化を目指し、DMSO 溶液を用いた凍結保存方法を確立した。寒天培地培養から直接保存する場合は、10%DMSO、10% serum、大腸菌（熱変性済みのもの）を加えた系がもっとも有効であった。液体培養が確立した株についても、10%DMSO、20%serum を含む CGVS　medium の有用性を検討している。

[下河原理江子、八木田健司、泉山信司]

5. 温水環境および水道水中の細菌叢の解析

循環式浴槽ではろ過層における微生物の繁殖が *Legionella* 属菌の発生と感染事故につながる。これまでの研究でろ過層では、細菌等微生物、微生物を捕食するアメーバ、アメーバに寄生する *Legionella* 属菌の順に発生していることが明らかとなっている。PCR-DGGE 法を用いて循環式浴槽での *Legionella* 属菌汚染に至る微生物相の変遷過程を解析した。その結果、微生物相は変化しつづけるものであること、炭素源によって微生物相に違いが生じることが示された。電気泳動で分離された個々のバンドの塩基配列決定、ならびに泳動マーカーの作成を行なった。

[泉山信司、関根　寛、縣　邦雄（アクアス）、福井　学（北海道大学低温科学研究所）、八木田健司]

6. 動物由来寄生虫症に関する調査研究

(1) 多包条虫の拡散と流行に関する調査研究

ア. 北海道移出犬の感染実態調査

北海道で流行する多包虫症の他都府県への侵入が強く懸念されている。我々はイヌを介した伝播に注目し、飼い主の観光や転居により北海道から移動する犬の多包条虫感染状況を調査した。2003 年 9 月～2004 年 9 月までの 1 年間で計 183 頭（北海道（A）群 41 頭、他都府県（B）群 142 頭）の検査を行い、糞便内抗原陽性 2 頭を発見した（A 群 1 頭、B 群 1 頭）。さらに 12S rRNA を標的部位とした糞便内 DNA の検出を試みたところ、後者は陽性を示し、その塩基配列は多包条虫北海道分離株と完全に一致した。前者は糞便内 DNA は陰性であったが、飼い主より聴取した疫学的情報から多包条虫感染が強く示唆された。

[森嶋康之、杉山　広、荒川京子、川中正憲]

イ. 青森県における多包条虫流行調査

北海道以外の都府県で発生した多包虫症 77 例のうち青森県からの報告が約半数を占め、原発疑いの 9 症例が含まれる。また同県産豚にも感染が発見されている。しかし、終宿主動物での感染はいまだ未確認である。そこで 2003 年 12 月～2005 年 3 月に同県内の終宿主候補動物由来の糞便（犬 220 検体、キツネ 43 検体）を採取して調査を行った。糞便内抗原検出法ではキツネ検体は全例陰性であったが、イヌ検体 1 例が陽性を示し、試験的駆虫では抗原の陰転が確認された。しかし、排出が予想される虫体あるいは特異的 DNA は濾便簡易沈殿および PCR 法のいずれの方法でも検出されず、抗原陽性を寄生虫学的に証明することはできかった。

[森嶋康之、杉山　広、荒川京子、阿部幸一（青森環保センター）、川中正憲]

(2) アライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視

ア. 動物展示施設におけるアライグマ回虫症の感染予防対策について

動物展示施設は、レクリエーションの場であると共に、教育、調査・研究、種の保存等といった大切な使命を担っており、今日の社会において欠かせない存在となっている。しかしながら、動物展示施設の特殊性から、通常、ヒトと触れあうことのない野生動物等が飼育係等の従事者や来園者と直接的・間接的に接触する可能性がある。アライグマ回虫はヒトに感染すると致死的な神経障害を惹起しうるが、動物展示施設においてアライグマの本種寄生例が少なからず検出されている。これらの陽性動物展示施設に対して、一昨年度に策定した「アライグマに寄生するアライグマ回虫の検査等のガイドライン」に基づく検査と対策を継続している。

[川中正憲、荒川京子、杉山　広、森嶋康之]

イ. 野生化アライグマの糞便内虫卵検査

野生化アライグマによるアライグマ回虫幼虫移行症の発生予防と監視の為に、捕獲個体の糞便内虫卵検査を継続実施している。検査には神奈川県についてはアライグマ駆除業者及び自治体から、また愛知県では開業獣医師から、直接送付された糞便を用いた。平成 15 年度の検査件数を県別に挙げると、神奈川県(112)、愛知県(7)であった。現在までのところ、これらの糞便からはアライグマ回虫卵は検出されていない。

[荒川京子、杉山　広、森嶋康之、川中正憲]

7. 食品由来寄生虫症に関する調査研究

(1)在日外国人固有の食習慣に起因する肺吸虫症

最近 8 年間に感染研寄生動物部へ検査依頼がなされた患者血清のうち抗体検査が陽性であったことから肺吸虫

症が強く疑われたものは 76 例であった。このうち、在日外国人の検査陽性例は 23 例（30%）にのぼる。出身国は、韓国 10 例、タイ 8 例、中国 4 例、ラオス 1 例であった。性別は女性が圧倒的多数で 20 例、男性は 3 例であった。集団感染はタイ人の 3 名と、韓国人 2 名の事例がある。担当医師によるコンサルテーションによれば、１名を除いて 22 名については淡水カニの非加熱摂取歴があり、カニを媒介とした感染幼虫の摂取によって肺吸虫に感染したと考えられる。在日外国人が、出身地での食習慣をそのまま日本へ持ち込んだ結果として肺吸虫に感染したと推定される事例とともに、飲食をともにすることで日本人も肺吸虫に感染するケースも出ている。このような外来料理を介した肺吸虫感染の危険性について注意を喚起することが必要である。

[川中正憲、荒川京子、杉山　広、森嶋康之]

⑵魚介類摂食後の食物アレルギーに関与するアニサキス症

ア. 原因虫種について

魚介類の摂食後に発症するアニサキスアレルギーの病態が、ヨーロッパと我が国とでは大きく異なる。この違いが、病因となる虫体の系統分類学上の差異に起因しているのではないかと推察し、太平洋産（日本・中国）と大西洋産（米国・スペイン）のアンコウからアニサキス *Anisakis simplex* の幼虫を得て検討を加えた。各虫体から DNA を調整し、線虫類のリボゾーム DNA・ITS1 領域にコンセンサスなプライマーで PCR 増幅して、得られた産物の配列を解読した。その結果、増幅産物はいずれも 424bp で、日本産以外の配列は同一であった。日本産も他とわずかに 2 塩基相違したに過ぎず、僅かな種内の変異を検出したと考えた。更に詳細な検討を目的に、ミトコンドリア DNA・COI 領域の解読・解析を進めている。 [杉山　広、森嶋康之、川中正憲]

6. 首都圏における肺吸虫の発生分布に関する研究

（1）荒川での大平肺吸虫セルカリアの検出

既に報告したように、東京都を流れる荒川のクロベンケイガニには、大平肺吸虫のメタセルカリアが高率に寄生している。荒川での本虫の生態を明らかにするため、カニでの寄生率が最も高い葛飾区四つ木地区で汽水産の微小貝を採集し、本虫セルカリアの検出を試みた。その結果、ムシヤドリカワザンショウ 2,243 個のうち 4 個（0.18%）から肺吸虫セルカリアが検出された。一方、カワザンショウガイ（140 個）は、総て陰性であった。得られた肺吸虫セルカリアは、形態学的特徴と ITS2 領域の遺伝子配列から、大平肺吸虫と確定した。中間宿主に関する情報が集まりつつあるので、ドブネズミを捕獲・検査するなど、終宿主についても検索を進める予定にしている。

[杉山　広、須藤幸喜、村田浩一（日大）、森嶋康之、川中正憲]

（2）多摩川での大平肺吸虫メタセルカリアの検出

東京湾に注ぐ河川において、汽水産カニの採集と肺吸虫メタセルカリアの検出を継続した結果､荒川に次いで、多摩川でも陽性地区を見出した。東京都大田区と神奈川県川崎市で採集した合計 842 匹のクロベンケイカニのうち、258 匹（31%）が大平肺吸虫メタセルカリア陽性であった。寄生率は大田区東六郷地区が最も高く（98%）、陽性カニ 1 匹あたりの寄生数は南六郷地区が最も多かった（329 個）。カニからの大平肺吸虫メタセルカリアの検出は、神奈川県ではこれが初めての報告となる。

[杉山　広、須藤幸喜、村田浩一（日大）、森嶋康之、川中正憲]

Ⅱ.分類

1. 旋尾線虫Ｘ型幼虫の生活史と分類学的位置に関する研究

（1）推定成虫の *Crassicauda giliakiana* の採集

ホタルイカの生食に起因する腸閉塞や皮膚爬行症の原因となる旋尾線虫Ｘ型幼虫（以下、Ｘ型幼虫）は、その成虫が未知であり、生活史の全貌や分類学的位置が不明のままになっている。しかし、Ｘ型幼虫の in vitro での生存条件から、終宿主としては海鳥類或いは海産哺乳類が想定され（Hasegawa,1978）、虫種としては鳥類寄生の頭飾線虫上科（Hasegawa and Otsuru,1982）或いは海産哺乳類寄生のハブロネマ上科の Crassicauda 属（Ando et.al.,1992）である可能性が論じられてきた。我々は、Ｘ型幼虫の分布状況から深海において摂食行動をとる海産哺乳類を想定する事が妥当であると考え、ツ

チクジラの腎臓に寄生する *Crassicauda giliakiana* をX型幼虫の成虫として想定し、函館、和田沖に出向いて本種虫体を採集した。

[森嶋康之、杉山　広、荒川京子、木白俊哉（遠水研）、川中正憲]

（2）PCR-RFLP による解析

ホタルイカに寄生する旋尾線虫X型幼虫（5 隻）とツチクジラの腎臓に成虫として寄生する *Crassicauda giliakiana*（5 隻）から個別にゲノム DNA を調整し、線虫のリボゾーム DNA・ITS1 領域に対するコンセンサスプライマーで、PCR 増幅させた。その結果、いずれのサンプルからも約 770bp の産物が得られた。この産物を24 種類の制限酵素(6 塩基認識酵素)で処理したところ、いずれの産物も 4 種類の制限酵素（*Nsp*I、*Pvu*II、*Sac*I、*Sph*I）で切断され、そのパターンが完全に一致した。他の酵素では切断されなかった。ITS2 領域をターゲットとした検討も行ったが、同様の結果が得られた。以上の成績から、ホタルイカに寄生する旋尾線虫X型幼虫とツチクジラの腎臓に成虫として寄生する *Crassicauda giliakiana* は、発育期の異なる同種の線虫であると考えられた。

[杉山　広、森嶋康之、荒川京子、木白俊哉（遠水研）、川中正憲]

（3）シーケンシングによる解析

旋尾線虫X型幼虫（5 隻）と *Crassicauda giliakiana* 成虫（5 隻）に由来する PCR 産物（ITS1 領域）をクローニングし、1 隻当たり 5 クローンずつを選択して配列を解読した(成虫、幼虫から各々25 クローンずつ解読)。配列を相互に比較したところ、僅かな変異を示すクローンも認めたが、幼虫由来の 15 クローンが、成虫由来の 15 クローンと一致する事が分かった。ホタルイカ寄生のX型幼虫とツチクジラ寄生の *Crassicauda giliakiana* 成虫は、発育期の異なる同種の線虫であるとの考えが、更に支持された。

[杉山　広、森嶋康之、荒川京子、木白俊哉（遠水研）、川中正憲]

2. 分子生物学的手法によるアライグマ回虫の同定と他種回虫との鑑別

（1）マルチプレックス PCR による種鑑別

アライグマには、固有種であるアライグマ回虫 *Baylisascaris procyonis* 以外に、タヌキ回虫 *Toxocara tanuki* も寄生し、成熟・産卵する事がある。両種は共に幼虫移行症を引き起こす病原体であるが、前者の感染は時に致死性であることから、正確な種鑑別が極めて重要と考えられる。我々は既に、配列解読、PCR-RFLP、種特異的プライマーPCR などの手法を検討し、両種の鑑別法として確立してきた。今回は、マルチプレックス PCR について検討した。まず両種の ITS2 領域の配列が異なる事を利用し、両種間で著差を認める部位を選び、PCR 増幅された時の産物サイズが異なるように工夫して、種に特異的なプライマーを新たに設計した。これらのプライマーに加えて、線虫類の ITS2 にコンセンサスなプライマーペアを同時に用い、PCR（マルチプレックス PCR）を行った。その結果、アライグマ回虫 DNA からは約 400bp と約 500bp、タヌキ回虫 DNA からは約 340bp と約 500bp の産物が増幅された。虫卵一個から調整した DNA でも同様の結果が得られた。一方、クマ回虫 *Baylisascaris transfuga* およびイヌ回虫 *Toxocara canis* から調整した DNA からは、約 500bp のバンドのみが増幅された。以上の結果から、今回開発したマルチプレックス PCR は、回虫類である事を同定し（500bp）、その上でアライグマ回虫（400bp）とタヌキ回虫（340bp）とを鑑別する簡便なツールとなる事、虫卵を対象に実際に野外でも使用し得る事などが明らかとなった。

[杉山　広、畑　あい、村田浩一（日大）、森嶋康之、川中正憲]

3. 分子生物学的手法による肺吸虫種の同定・鑑別

（1）マルチプレックス PCR によるタイ産肺吸虫のメタセルカリアでの種鑑別

タイには 6 種類の肺吸虫が分布するが、ヒトへの感染が証明されているのは、ヒロクチ肺吸虫だけである。一方、タイ産のウェステルマン肺吸虫は、日本産のものとは異なり、人体への感染性がない。両種の ITS2 領域の配列が異なる事を利用し、両配列間で著差を認める部位に、PCR 増幅された時の産物サイズが異なるように工夫して、種に特異的なプライマーを設計した。これらのプ

ライマーに加えて、吸虫類の ITS2 にコンセンサスなプライマーセットを同時に加え、PCR（マルチプレックス PCR）を行った。テンプレートには、タイで得た各種肺吸虫（ヒロクチ、ウェステルマンの他に、ハリナスタ、タイの 4 種）のメタセルカリア由来 DNA を用いた。その結果、ヒロクチ肺吸虫では 310bp と 520bp、ウェステルマン肺吸虫では 140bp と 520bp、更にハリナスタ、タイの両肺吸虫では 520bp の産物が増幅された。今回開発したマルチプレックス PCR は、肺吸虫類であるかの同定（520bp）と、ヒロクチ肺吸虫（310bp）とウェステルマン肺吸虫（140bp）との鑑別を同時に遂行するツールとして有用であることが分かった。タイでの人体寄生性肺吸虫（症）の疫学調査に活用できると考えられた。
[杉山　広、森嶋康之、川中正憲、亀岡洋祐（基盤研)、アチャリア・ラングジルジ、パンシン・ケツダット（スリナカリンウイロート大学・タイ国）]

Ⅲ. 生理・生化学・分子生物学

1.リスザルから検出された播種性ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子型

E. cuniculi はリボソーム RNA 遺伝子の ITS (internal transcribed spacer) 領域の塩基配列解析から genotype I、 II、 III の 3 型に分類される。今回、一飼育施設で斃死したリスザル 2 頭（検体 No. 3077 及び No. 3072）の脳、肺、肝、脾、腎の *E. cuniucli* 遺伝子分析を行ったところ、検体 No. 3077 の検索した臓器のすべてから、また、検体 No. 3072 の脳から *E. cuniculi* の rRNA 遺伝子を検出した。ITS 領域によるタイピングでは、すべて 5 ' -GTTT-3 ' リピート数 4 個の III 型であることが判明した。これまで国外ではエンペラータマリン、ワタボウシタマリンに III 型感染が証明されている。今回の例は国内飼育下のリスザルで III 型 *E. cuniculi* 感染を初めて確認したもので、この型が本邦でもサル類に侵淫している可能性が示唆された。
[朝倉登喜子、中村進一(麻布大学)、宇根有美(麻布大学)、古屋宏二]

2. *Encephalitozoon cuniculi* スポアタンパク質のプロテオーム解析

モノクローナル及びポリクローナル特異抗体が認識する *E. cuniculi* スポアタンパク抗原のプロテオーム解析に基づく同定のため、*E. cuniculi* スポアタンパク質の 2-D PAGE 後の PVDF 膜に転写された主要なスポットについてプロテオーム解析を行う基礎的実験を試みた。メンブレン上の総タンパクを BODIPY FL-X/SE あるいは CBB で染色後目的のスポットを切り出し、N 末端アミノ酸配列解析及び LC-MS/MS 解析を行った。その結果、N 末端アミノ酸配列解析で PTP1 の 2 スポット、LC-MS/MS 解析で PTP2＋Aldose reductase（混合スポット)、Translation elongation factor 1 alpha、Spore wall protein1、Hypothetical protein、Zinc finger protein、HSP similarity to HSP、Heat shock related 70kDa protein、Phoshomannomutase、26S proteasome zeta chain の 9 スポットが同定された。
[小村麻子、三和　茂(イムノバイオン)、古屋宏二]

3. *Naegleria fowleri* 総タンパク質のアミノ酸配列解析
―2D-PAGE データベースの拡充を目指して―

強い病原性を持つ N. fowleri について、これまでに 2D-PAGE 解析、N 末端アミノ酸配列解析並びに Western blot によるスポット解析を行い、得られた情報をもとに 2D-PAGE データベースを構築した。今年度はデータベース情報の拡充を目的に、クリーブランド法および LC-MS/MS によるタンパクスポット解析を試みた。クリーブランド法による中間アミノ酸配列解析では現在までに 11 個のスポットの中間配列情報が得られ、その内 3 個のスポットについては相同性検索により同定が可能となった。また、MS/MS 解析を行った 24 個のスポットの内 4 個が Masco t サーチにより同定できた。現在も解析を進めている。
[小村麻子、八木田健司、泉山信司、下河原理江子、山河芳夫(細胞化学)]

4. クリプトスポリジウム等消化管寄生性原虫類に関する研究

(1)　国内において分離されたヒト由来ジアルジアの遺伝子型別

アフリカ、東アジア、東南アジア諸国等からの帰国時健診、および一般健康診断等で検出されたヒト由来ジアルジア 14 試料の遺伝子型別を行い、Assemblage A（A1）

および Assemblage B (B3)を検出した。Assemblage A の 12 試料のうち 4 試料は渡航歴（インド、ラオスおよびビエンチャン、ウルグアイ、カナダ）をもち、他の 2 試料は国内感染と考えられた。カナダ渡航歴のある感染者は、キャンプ地での飲水を経験していた。国内感染と考えられる 2 例では感染源を推定させる情報は得られなかった。IDWR（感染研）の集計によればジアルジアの国内感染例は全体の 40%に達しており、国内感染を広める要因の解明が重要な課題と考えられた。

[八木田健司、田口一宏（三菱 BCL)、朝倉登喜子、泉山信司]

(2)　動物由来ジアルジアの遺伝子型別

国内東北地方の動物病院を受診した、あるいは繁殖施設で飼育されていたイヌ、動物病院を受診したネコ、牧場飼育のウシおよび野生ニホンザル由来のジアルジアの遺伝子型別を行った。イヌ由来 24 試料中、人畜共通性で国内のヒト感染例からも検出されている Assemblage A が 17 試料より検出されたこと、ならびにニホンザル由来の 3 試料が同様に人畜共通性の Assemblage B が検出されたことから、これらの動物のジアルジア（シスト）キャリアーとしての可能性が示唆された。なお、ネコ由来の 3 試料はネコ特異的な Assemblage F、またウシ由来の 5 試料中 1 試料が Assemblage A であったが、残り 4 試料はウシ特異的な Assemblage E であった。

[板垣　匡（岩手大、農)、八木田健司、泉山信司]

5. *Cyclospora cayetanensis* の紫外線抵抗性

耐塩素性微生物の *Cryptosporidium* ならびに *Giardia* は水道を介した大規模集団感染を引き起こすことから問題とされている。これまでの研究では紫外線は *Cryptosporidium* ならびに *Giardia* に対して効果的であることが複数の実験で示され、代替消毒法として特に簡易水道等の小規模な水道への利用に期待が寄せられている。*Cryptosporidium* に近縁の胞子虫類に属し、同じく環境抵抗性のオーシストを形成する *Cyclospora* は水系感染が海外で報告されており、*Cryptosporidium* 同様に紫外線を用いて不活化処理したい病原性微生物の１つと言える。スポロシスト形成を指標として紫外線の *Cyclospora* に対する不活化効果の検討を行なった結果、2-log のスポロシスト形成の阻止には 10 mJ/cm^2 程度の線量が必要であった。この線量は先に行なった *Giardia* シストでの実験に比べて 10 倍程度多く、原虫類は種によって紫外線耐性が異なり、紫外線消毒における照射線量の決定は慎重であるべきことを示唆する結果であった。

[泉山信司、八木田健司]

6. 原虫における含硫アミノ酸合成･分解経路の解析及び創薬

(1) 赤痢アメーバ含硫アミノ酸生合成の調節機構

既に、デノボシステイン合成経路の上流のセリン代謝経路の主要な２酵素（グリセリン酸デヒドロゲナーゼ、フォスフォグリセリン酸デヒドロゲナーゼ）に関して充分な生化学解析を行っていたが、本研究では３つ目のフォスフォセリンアミノ転移酵素に関して、タンパク質及びコード遺伝子を決定するとともに、ネイティブ・組換え酵素をもちいて詳細な生化学的解析を行った。その結果、本原虫におけるセリン生合成リン酸化経路の重要酵素のほとんどが解明された。以上の研究により、赤痢アメーバが２種類のセリンの代謝経路を有することが明らかにされた。この重複性は赤痢アメーバの寄生適応におけるセリン代謝の重要性を強く示唆すると考えられる。この発見は他種生物で例がない重要な知見であると同時に、赤痢アメーバ症に対する新たな創薬標的を提供した。

[Vahab Ali、繁田泰男、野崎智義]

(2) システイン生合成経路の多様性

システイン生合成経路の多様性を理解することを目的として、中心的酵素であるシステインシンターゼとセリンアセチル転移酵素のアイソタイプの同定を行った。これまで赤痢アメーバからそれぞれ２種のシステインシンターゼ、１種のセリンアセチル転移酵素のアイソタイプが知られていたが、今回ゲノム情報の開示に伴い新たに１種のシステインシンターゼ、２種のセリンアセチル転移酵素が同定された。これらのタンパク質はこれまで同定されたアイソタイプと比較して７０−９０%の同一性を有していた。これまでに大まかな生化学的・酵素学的解析が終了している。植物などではシステイン生合成経路は細胞質・ミトコンドリア・クロロプラストに独立して存在しており、システインシンターゼは既に植物では

除草を目的とした標的酵素として注目されている。従って赤痢アメーバにおけるシステインシンターゼも新たな抗赤痢アメーバ症薬剤を開発する上で重要な標的となると予想される。

[Vahab Ali、橋本哲男（筑波大学)、繁田泰男、野崎智義]

(3) 赤痢アメーバ症の新規化学療法剤の創薬

赤痢アメーバに選択的に存在する含硫アミノ酸分解酵素メチオニンガンマリアーゼ(MGL)を標的としたプロドラッグであるトリフルオロメチオニン(TFM)の６種類の誘導体を作成し、そのうちの一部のインビトロ・インビボ試験が終了した。また、結晶構造に基づく合理的な創薬を可能とするために、大量合成系を確立すると共に、Spring8 の熱源を用いて 2.5Åの解像度で２種類のアイソザイムのうち１種類の組換え酵素の結晶回折像が得られた。

[佐藤　暖、繁田泰男、所　正治（金沢大)、小林正規（慶應大)、中野由美子、野崎智義]

7. 赤痢アメーバの貪食の分子機構の解明

(1) プロテオーム解析による貪食の網羅的解明

赤痢アメーバの貪食における分子機構を包括的に理解することを目的として、ファゴソームタンパク質の網羅的プロテオーム解析を行った。昨年度までに細胞表面レセプター、加水分解酵素、低分子量 GTP 結合タンパク質、細胞骨格タンパク質などが時間依存的に動員されることが明らかとなった。今年度は実験室株、大腸炎ならびに肝膿瘍からの臨床単離株からファゴソームタンパク質の継時的変動を観察した。その結果、新規のシステインプロテアーゼをはじめとして、未知の様々なタンパク質でファゴソームへの局在が変動していることが明らかとなった。

[岡田麻美、Chris Huston (University of Virginia)、Barbara Mann (University of Virginia)、野崎智義]

(2) 貪食・病原機構に関与する Rab の機能解析

ア　貪食における *Eh*Rab7 アイソタイプの機能解析

赤痢アメーバが貪食する際にファゴソームの酸性化が重要である。この酸性化のメカニズムを明らかにするために、リソソームの膜融合に関与する *Eh*Rab を探索したところ、Rab7 のアイソタイプの一つである *Eh*Rab7B であることが分かった。*Eh*Rab7B の大量発現によって肥大化したリソソームが観察され、さらに細胞あたりの酸性度も上昇させることが分かった。また *Eh*Rab7B の GTP 固定の変異型を発現させることにより、リソソームに蓄積するシステインプロテアーゼが細胞外に分泌されるのが観察された。以上のことから *Eh*Rab7B がリソソームホメオスタシスに関与することが考えられた。

[中野由美子、津久井久美子、岡田麻美、ぬで島麻衣、徳丸文恵、繁田泰男、野崎智義]

イ　EhRab7A の結合タンパク質の解析

赤痢アメーバの主な病原因子として、特にシステインプロテアーゼ（CP）など加水分解酵素の輸送・放出及び外来性物質（微生物・宿主細胞）に対する貪食能が挙げられる。システインプロテアーゼ（CP)の細胞内輸送経路の解明を目指すために赤血球貪食時の EhRab7A の動態を観察した。その結果、貪食直後のファゴソームには存在せず、後期と思われるファゴソームに局在した。また EhRab7A を高発現させた形質転換体では空胞の数、大きさが増大した。これは動物細胞と同様に EhRab7A が後期エンドソームからリソソーム・ファゴソームの成熟に関与すること、さらに後期エンドソームとリソソームまたはその他のコンパートメントとの膜融合を促進することを示唆した。またこの形質転換体で細胞内 CP の活性が約５０％低下していた。以前我々は EhRab7A 結合分子としてリソソーム酵素の輸送に関与するレトロマー複合体の構成分子を同定した。よってこの CP 活性の低下は EhRab7A がレトロマーとの結合を介して病原因子である CP の輸送を制御しているためであると考えられる。

[津久井久美子、中野由美子、岡田麻美、徳丸文恵、繁田泰男、野崎智義]

ウ　貪食の分子機構の可視化

貪食の過程ならびにファゴソームの成熟過程の分子機構を詳細に明らかにするために、高感度・高解像度生細胞観察システムを用いて、生きた赤痢アメーバ細胞の貪食と貪食後の分解の過程をリアルタイムで解析した。その結果、貪食２分以内にファゴソームの酸性化が起こり、

この酸性化が貪食した物の分解に重要であることを発見した。また、酸性化と分解を止める幾つかの薬剤を発見した。さらに、弱毒株と病原株においては弱毒株の方が酸性化が早く進むことを発見した。これはあたかも強毒株ではリソソーム中の酵素が細胞外に分泌され、ファゴソームへの融合が起こっていないことを示唆していた。
[ビスワ　ミトラ、津久井久美子、中野由美子、野崎智義]

エ　赤痢アメーバの小胞輸送遺伝子の多様性

赤痢アメーバは単細胞生物でありながら、その細胞内でオルガネラの機能を担っていると考えられる多くの空胞や小胞を持ち、それらの働きは不明な点が多い。そこで赤痢アメーバといくつかのモデル生物において、小胞輸送に関する遺伝子の数を比較し、赤痢アメーバにおける輸送系の特殊性を明らかにすることを試みた。小胞形成遺伝子において、赤痢アメーバは酵母や線虫ほどの単純さを有し、より高等なヒトや植物ほどの複雑さは持ち合わせていなかった。小胞融合のステップでは、SNAREの数は酵母や線虫と同レベルであったが、Rab はヒトの数以上がコードされていることが明らかになった。さらに９１種の Rab のいくつかは、その機能に重要なドメインを欠失していていた。これらの不完全な機能を持つと考えられた Rab が、単に遺伝子増幅を起こし、さらに偽遺伝子である可能性を否定するため、Rab の調節因子の一つである Rab GAP の数を比較した。その結果、ゲノム中の Rab の数が多いほど、Rab GAP の数は多いことが分かった。よって、赤痢アメーバの膜輸送経路では複雑な膜融合が起こっていることが予想された。
[中野由美子、ぬで島麻衣、野崎智義]

8. 赤痢アメーバの低分子量 GTP 結合タンパク質の脂質修飾酵素の同定と解析

赤痢アメーバの Rab の膜への局在に不可欠なカルボキシル末端部のイソプレニル化酵素をターゲットとした創薬を長期的目的としてゲラニルゲラニル転位酵素 II 型（GGT-II）の同定と生化学的活性を解析した。大腸菌を用いて発現させた GGT-II は a, b サブユニットの２量体を形成し、この組み換え体の Rab escort protein 依存的な活性は赤痢アメーバの Rab5 を基質として[3H]ゲラニルゲラニルピロリン酸の取り込みによって確認した。赤痢アメーバの GGT-II はラット GGT-II の活性と比較した場合、用いた赤痢アメーバの Rab の種類によって酵素活性に違いがあることが分かった。
[牧岡朝夫（慈恵医科大学), 熊谷正広（同), 中野由美子、野崎智義]

9. システインプロテアーゼ阻害タンパク質の機能

赤痢アメーバの病原因子の一つシステインプロテアーゼ（CP)はゲノムプロジェクトより約 30 の遺伝子があることが分かっているが、その中で３種類の CP(CP1, 2, 5)の発現量が高く、ライセート中の活性が９０％を占めることが分かっている。しかし細胞内での活性がどのように調節されているかは不明である。哺乳類細胞ではシスタチンと呼ばれるタンパク質が CP 活性を阻害するが、赤痢アメーバはシスタチン遺伝子を持たず、そのかわり Chagasin/ICP に類似した遺伝子を持つ。まず、赤痢アメーバ ICP の組み換えタンパク質を小麦胚芽の発現系で精製し、CP 阻害活性を検討したところ、CP の種類によって阻害選択制が確認された他、その阻害定数も nM から pM という非常に低い値を示した。細胞内局在を観察した結果、２種あるうちの１つはリソソーム内の CP の活性制御に関与していると推測された。
[佐藤　暖、岡田麻美、繁田泰男、坪井敬文（愛媛大学)、竹尾　暁（同)、野崎智義]

10. 赤内型熱帯熱マラリア原虫（*P. f*）の増殖、分化を誘導する物質とその作用機序

（１）マラリア原虫の赤血球内増殖はマラリア発症に至る最も重要な発育サイクルで、この増殖に関与する因子を明らかにできれば創薬やワクチン開発に有用な標的分子の特定につながる。熱帯熱マラリア(P.f.)の in vitro 培養に不可欠とされるヒト血清の代わりに成牛血漿由来の細胞増殖因子を用いた無血清培地培養法について先に報告した。今回はさらにこの細胞増殖因子中の有効成分の特定とその増殖効果発揮のための条件を明らかにした。次いでこの細胞増殖因子由来有効成分とは異なるが、同様に *P.f* 増殖効果を発揮し、しかも分子構造および細胞に対する作用が既知である物質について広範に探索した。その結果、一定の構造をもったリゾリン脂質によってヒト血清を用いた場合と同等の増殖が促される事が判明し

た。
[朝日博子]

（２）*P.f*の増殖促進因子として特定された物質から細胞内シグナル伝達活性化がその増殖効果に関連する可能性が類推される事から、異なる増殖促進因子を含む培養液中での *P.f* 増殖に与える各種のタンパクキナーゼ　インヒビターの影響を試験した。その結果、いずれの増殖因子を含む培養液中でも *P. f* 増殖は強く抑制され、この *P. f* 増殖はタンパクキナーゼ活性化に依存する事が示唆された。しかし *P. f* のタンパクキナーゼはその多くが非典型的な構造と機能を持つ事がよく知られており、用いたインヒビターの標的キナーゼを特定する事は出来なかった。
[朝日博子]

Ⅳ. 免疫

1. マンソン住血吸虫（*Schistosoma mansoni* ）虫卵由来 25 kDa T 細胞抗原の免疫学的特性

S. mansoni 感染マウスにおいてヘルパーT 細胞を特異的に刺激誘導する虫卵由来抗原分子として見い出された 25 kDa の成分(Sm-p25) はヒト好塩基球から IL-4 産生を誘導する IPSE と同一と考えられた。この事から 134 アミノ酸からなるレコンビナント蛋白 (rSm-p25) を作製し、CBA および C57BL/6 の二つの系統の感染、非感染マウスの腹腔内細胞、末梢血中の白血球に対する IL-4 産生誘導能について調べた。その結果、両系統マウスにおいて虫卵の総抽出物では強い IL-4 産生が検出されたのに対して、rSm-p25 では殆ど認められなかった。したがって、*S. mansoni* 感染にみられる Th2 誘導は Sm-p25 が主体となっているのではないと推測された。
[朝日博子、Stadecker, M.J.(タフツ大学)]

2. 日本住血吸虫由来 calpain 特異的 T–T ハイブリドーマの樹立と T 細胞エピトープの決定

住血吸虫症のワクチン候補分子の１つとして成虫由来 calpain は特に強い Th1 応答を誘導して感染防御効果が高いことが報告されている。この事から日本住血吸虫 calpain に対する特異的 T—T ハイブリドーマを作り、overlapping oligopeptides を用いて 10mer からなる T 細胞エピトープを決定した。このエピトープを MAP として免疫した結果、脾臓細胞から強い IFN の産生が認められた。
[長田良雄(産業医科大学)、朝日博子]

Ⅴ. 検査・診断

1.平成１６年度・依頼血清の寄生虫抗体の検査

検査は通常、酵素抗体法（DOT-ELISA）により実施した。抗原として、線虫類６種（日本顎口虫、犬回虫成熟虫卵、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫)、条虫類３種（広節裂頭条虫、マンソン孤虫、エキノコックス)、吸虫類４種(ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、日本住血吸虫）の 13 種類を用いた。酵素抗体法で得られた結果のみでは判断がつけがたい場合は、上記以外の抗原も含め、ウエスタンブロット法、ゲル内沈降反応、あるいはトキソカラ・キットを用いた酵素抗体法などをあわせて行った。本年度は 29 検体(29 人)の検査を実施し、そのうち抗体陽性が９件、陰性が 20 件であった。陽性検体の内訳は、肺吸虫：３件、有鉤嚢虫：１件、旋尾線虫：３件、マンソン孤虫：１件、トキソカラ：１件であった。
[荒川京子、杉山　広、森嶋康之、川中正憲]

2. ホタルイカの旋尾線虫 X 型幼虫：最近 5 年間の検出状況

ホタルイカの漁期は毎年 3 月から 6 月までで、この期間が基本的には旋尾線虫症発生のシーズンとなる。そこで最近 5 ヵ年にわたり、この期間に市販される生食用ホタルイカを対象として X 型幼虫保有状況を調査した。検査は、シーズンを通じて週１回の定期に実施し１回約 100 尾の生ホタルイカについて実施した。5 年間のホタルイカの検査総数は 3429 尾で、これらから検出された X 型幼虫は 147 を数えた。ホタルイカ 1 個体の X 型幼虫保有数は概ね１であるので、平均検出率は 4.3%となる。また、ホタルイカの解体を同一操作で同一検査者が実施した検査の結果について X 型幼虫の部位別検出状況を見ると、内臓部からは 76%（45/59)、胴部（外套膜）からは 14%(8/59)、頭腕部からは 10%(6/59)という結果が得られた。これらの検査の結果から、旋尾線虫症の発生を完全に予防するためには、ホタルイカの凍結処理を確実に実施す

ることが重要であることを示している。
[荒川京子、杉山広、森嶋康之、川中正憲]

3. マラリア原虫の lactate dehydrogenase 測定法を用いた感染、増殖測定法の応用と改良

マラリアのコントロールを目指すワクチン開発や新規薬剤開発、分離株の薬剤感受性試験等には、検鏡や Hypoxanthine の取り込みによる検出方法に替わる、簡便・迅速な感染率測定法が求められている。先に SYBR Green I を用いた Flow cytometry を適用し、少量の試料で固定の有無に拘わらず高感度で測定でき、標本の保存が可能な方法を確立した。今回はマラリア原虫の Lactate dehydrogenase を発色反応によって測定することによって感染、増殖を検出する方法を、薬剤効果試験及び増殖因子特定に試みた。その結果、測定結果は安定しており、検鏡法や Flow cytometric analysis よりも迅速でしかも同等の結果を得る事が出来た。また肉眼による確認試験も可能であった。しかし原法では少なくとも 0.2%以上の Parasitemia を必要とする事から、さらに感度をあげる処理法の検討、臨床材料や塗沫標本を利用できる条件の検討を試みた。
[朝日博子、泉山信司、高崎智彦(ウィルス 1 部)]

VI. その他

1. 有機物汚染に着目した循環式浴槽の管理

浴槽水は濁度、有機物、大腸菌群、レジオネラ属菌の水質基準に従うが、循環式浴槽では濁度と有機物がろ過器での物理除去あるいは生物浄化作用により有機物が除去され、基準を達成している。しかし、循環式浴槽は閉鎖系であり有機物は微生物に形をかえて保存される。そこでは細菌類の増殖が宿主アメーバの増殖を支え、ひいては Legionella 属菌の発生、さらには *Legionella* 症の集団感染事故につながっていた。現在は塩素消毒を行なうことで循環式浴槽の安全の維持に努めている。本研究では有機物汚染に着目し、水泳プールの有機物汚染の指標である過マンガン酸カリウム消費量のシミュレーションを行ない、有機物汚染が単純なモデルを表すことが可能であること、並びに一人あたりの汚染負荷量が 0.5g 程度であることを明らかにした。ちなみに、現行の浴槽水の水質基準によると過マンガン酸カリウム消費量は 25mg/L が定められている。
[泉山信司、縣　邦雄（アクアス）、八木田健司]

2. クリプトスポリジウム症の潜伏期間

Cryptosporidium 症の潜伏期間は平均 7 日、2 日から 10 日の範囲とされてきたが、潜伏期間の精度向上は疫学調査に有益である。わが国におけるクリプトスポリジウム症の集団感染は限られているが、1994 年の平塚市雑居ビルでの水系感染、1996 年の越生町の町水道を介した感染、2002 年の兵庫県の高校生が北海道旅行で罹患した例より、単一暴露された感染者の情報を得て、潜伏期間をまとめた。Log-Logistic 分布を適用した結果、平均で 6 日、中間値が 6 日、患者の 95%が 4 日から 8 日までに発症していたことが明らかとなった。
[泉山信司、黒木俊郎（神奈川県衛生研究所)、辻　英高（兵庫県立健康環境科学研究センター)、八木田健司、古屋宏二]

3. クリプトスポリジウム集団感染と飲水行動の関係

1996 年の越生町の町水道を介したクリプトスポリジウム集団感染では、降雨による水道原水の濁度上昇に関連させて因果関係が説明されてきた。ところがアンケート調査によると、濁度上昇の以前から多数の下痢症の発生が認められている。本研究では濁度と患者の発生状況を詳細に検討し、両者の間に相関が認められないことを示した。その一方、水道水における軽度の汚染が持続していたことを前提として、住民の飲水行動の変化、すなわち飲水量が増加することにより集団感染が顕在化した可能性を示唆する結果が得られた。気象庁の記録によれば、集団感染に前後して気温の変化が著しく、最高気温が移動平均で 20℃前後から 25℃を超える時期へと変化していた。気温のプロットを潜伏期間の 6 日分間移動させて流行曲線に重ねると、最高気温が 25℃を超えた時期と発症者が拡大した時期と符合した。気温の上昇に伴って生水の摂取が増加すれば暴露の機会の増大をきたすことは十分に推測されるところである。
[泉山信司、八木田健司]

レファレンス業務

1）衛生微生物技術協議会レファレンスセンター会議

第 25 回衛生微生物技術協議会において寄生虫に関するレファレンスセンター会議を行った。赤痢アメーバの国内感染状況を解説し、その検査体制の整備を進めることが急用であることを指摘した。これに関連して感染研よりPCR検査に必要な陽性コントロールDNAおよびプライマーの供与が可能であることを通知した。
[八木田健司、泉山信司]

２）原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関（医療機関、地方衛生研究所等）の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。本年度は赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウム、サイクロスポラおよびアカンソアメーバの試料が保存された。
[八木田健司、泉山信司]

1. 対策ガイドライン、検査指針の作成

(1) 対策指針「犬のエキノコックス症対策ガイドライン」

平成 16 年 10 月 1 日の、獣医師による犬エキノコックス症の届け出義務化に伴って、対策指針の策定を行う事が必要となった。このようなときに「北海道移出犬の感染実態調査」と「青森県における多包条虫流行調査」に関連した実践と経験が、北海道外への移動犬対策の指針を策定する上での実際的な根拠を与えるものとなり、その作成に全面的な協力を行った。本ガイドラインは「動物由来寄生虫症の流行地拡大防止対策に関する研究」班の報告書として、平成 16 年 12 月に、全国の関係方面へ向けて配布された。
[川中正憲、森嶋康之、荒川京子、杉山　広]

(2) 「食品衛生検査指針」の作成

平成９年９月に厚生省生活衛生局食品保健･乳肉衛生課の通知により､食品媒介の寄生虫疾患対策が強化され、次いで平成１１年１２月には食品衛生法施行規則の一部改正により食中毒事件票にクリプトスポリジウム等の腸管寄生性原虫類およびアニサキス等の寄生蠕虫類が加えられた。これを受けて『食品衛生検査指針』の改版が行われ、原虫類および蠕虫類に係る検査法の改定が行われた。
[遠藤卓郎、八木田健司、川中正憲、杉山　広]

国際協力関係業務

1. JICA 下痢症対策プロジェクト寄生虫学短期専門家派遣

派遣期間：2004 年 11 月 21 日から 28 日まで
派遣場所：インド・コルカタの国立コレラ・腸管感染症研究所
派遣内容：下痢症起因病原体の一つであるクリプトスポリジウム原虫の遺伝子診断に関わる技術指導。

・フィリピンとの 2 国間共同研究において、フィリピンにおける下痢疾患関連の消化管寄生性原虫類（赤痢アメーバ、クリプトスポリジウム、ジアルジア等）のサーベランスを行った。フィリピンの共同研究者を招き、検査法の実習もあわせて行った。
[古屋宏二]

・タイとの 2 国間共同研究において、タイにおける養殖魚類のアメーバ感染症に関する調査研究を行った。共同研究者を招きアメーバの分離法、分子疫学的調査方法に関する実習もあわせて行った。
[Thitiporn Laoprasert, 八木田健司、泉山信司]

1. 中国南部における元住血吸虫症流行地の寄生虫性疾患に関する疫学的研究：肝吸虫症の疫学的調査

昨年度に引き続き、ヒューマンサイエンス振興財団による外国の研究機関の委託事業として、中国南部における元住血吸虫症流行地の寄生虫性疾患に関する疫学的調査を実施した。中国広西壮族自治区（省）において３ヵ所の調査区を設定し、特に肝吸虫症に関する人々の意識を探るべくアンケート調査を重点的に行った。
[余森海（中国 CDC)、川中正憲]

研修業務

・平成 16 年度稀少感染症診断技術研修会にて、赤痢アメーバ症の検査法に関する研修を行った。

・平成 16 年度特別課程ウイルスコース原虫実習（国立保健医療科学院主催）にて、赤痢アメーバ ELISA 検査

法の実習を行った。

・平成 16 年度水道クリプトスポリジウム試験法実習（国立保健医療科学院主催）にて、水道源水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った。

・水道における耐塩素性微生物検査法に関する研修会（厚生労働省主催）にて、検査法の実習を行った。

・レジオネラ宿主アメーバ等に関する実習にて、地方衛生研究所（鹿児島県、神奈川県、沖縄県）に対して宿主アメーバ　類の検査法の実習を行った。

[八木田健司、泉山信司]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1. Izumi, T., Itoh, Y., Yagita, K., Endo, T. and Ohyama,T., Brackish Water Benthic Shellfish (*Corbicula Japonica*) as a Biological Indicator for *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Ricer Water.Bull. Environ. Contam. Toxicol. 72 : 29−37,2004.

2. Rangsiruji, A., Sugiyama, H., Morishima, Y., Kawanaka, M., Binchai, S. and Ketudat, P.：Genetic diversity of lung flukes in central and southern Thailand. J. Sci. Res. Chulalongkorn Univ. 3, 195-206, 2004.

3. Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Binchai, S., Ketudat, P., Kameoka, Y. and Kawanaka, M.：Molecular discrimination between individual metacercariae of *Paragonimus heterotremus* and *P. westermani* occurring in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 36 (Suppl. 3), 102-106, 2005.

4. Asato, R., Taira, K., Nakamura, M., Kudaka, J., Itokazu, K., Kawanaka, M. Changing Epidemiology of AngiostrongyliasisCantonensis in Okinawa Prefecture, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 57, 184-186, 2004.

5. Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K & Kawanaka M. Intestinal helminths of dogs in northern Japan. Veterinary Record (in press).

6. Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K, Ohno J, Waguri A, Abe K & Kawanaka M. A coprologic survey on the potential definitive hosts of *Echinococcus multilocularis* in Aomori Prefecture, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases (58, 327-328, 2005).

7. Ali, V., Shigeta, Y., Tokumoto, U., Takahashi, Y., and Nozaki, T. (2004) An intestinal parasitic protist *Entamoeba histolytica* possesses a non-redundant NIF-like system for iron-sulfur cluster assembly under anaerobic conditions. J. Biol. Chem. 279, 16863-16874.

8. Ali, V., Shigeta, Y., Hashimoto, T., and Nozaki, T. (2004) Molecular and biochemical characterization of D-phosphoglycerate dehydrogenase from *Entamoeba histolytica*: a unique enteric protozoan parasite that possesses both phosphorylated and non-phosphorylated serine metabolic pathways. Eur. J. Biochem. 271, 2670-2681.

9. Saito-Nakano Y, Yasuda T, Nakada-Tsukui K, Leippe M, Nozaki T. (2004) Rab5-associated vacuoles play a unique role in phagocytosis of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. J. Biol. Chem. 279, 49497-49507.

10. Loftus, B., Anderson, I., Davies, R., Alismark, U. C. M., Samuelson, J., Amedeo, P., Roncaglia, P., Berriman, M., Hirt, R. P., Mann, B. J., Nozaki, T., Suh, B., Pop, M., Duchene, M., Ackers, J., Tannich, E., Leippe, M., Hofer, M., Bruchhaus, I., Willhoeft, U., Bhattacharya, A., Chillingworth, T., Churcher, C., Hance, Z., Harris, B., Harris, d., Jagels, K., Moule, S., Mungall, K., Ormond, D., Squares, R., Whitehead, S., Guillen, N., Gilchrist, C., Stroup, S. E., Bhattacharya, S., Lohia, A., Foster, P. G., Sicheritz-Ponten, T., Weber, C., Singh, U., Mukherjee, C., Petri, W. A. J., Clark, C. G., Embley, T. M., Barrell, B., Fraser, C. M., and Hall, N. (2005). The genome of the protist parasite *Entamoeba histolytica*. Nature 433, 865-868.

11. Beck, D.L., Boettner, D., Dragulev, B., Ready, L., Mackey, A.J., Nozaki, T., Pearson, W.R., and Petri, Jr., W.A. (2005) Identification and gene expression analysis of a large family of transmembrane kinases related to the Gal/GalNAc lectin in *Entamoeba histolytica* . Eukaryot. Cell 4, 722-732.

12. Okada, M., Huston, C. D., Mann, B. J., Petri, Jr., W. A., Kita, K., and Nozaki, T. (2005) Proteomic analysis of phagocytosis in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Eukaryot. Cell 4, 827-831.

13. Williams, D., Asahi, H., Oke, T.T., Lopes da Rosa, J. and Stadecker, M.J. Murine immune responses to a novel

schistosome egg antigen, SmEP25. International Journal for Parasitology, 35:875-882 (2005).

14. Osada, Y., Kumagai, T., Hato, M., Suzuki, T., El-Malky, M., Asahi, H., Tamotsu Kanazawa, T. and Ohta, N. Establishment of *Schistosoma japonicum* calpain-specific mouse T cell hybridomas and identification of a T cell epitope that stimulates. IFNγ production. Vaccine 23:2813-2819 (2005).

15. Asahi, H., Kanazawa, T., Hirayama, N. and Kajihara Y. Investigating serum factors promoting erythrocytic growth of *Plasmodium falciparum*. Experimental Parasitology 109:7-15 (2005).

16. Stadecker, M.J., Asahi, H., Finger E., Hernandez, H.J. Rutitzky, L.I. and Sun, J. The immunobiology of Th1 polarization in high pathology schistosomiasis. Immunological Reviews 201:168-179 (2004).

2.和文発表

1. 古屋宏二、川中正憲、山野公明１、佐藤直樹、本間　寛. 北海道の多包性エキノコックス症患者血清の使用によるイムノブロット法を用いた市販エキノコックス症血清診断キットの検討. 感染症学雑誌. 78(4)、320－326、2004.

2. 古屋宏二、朝倉登喜子、中村進一 1、宇根有美 1 リスザルから検出された播種性ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子型　獣医寄生虫学会誌、3 巻、2 号、49 、2005.

3. 古屋宏二. エキノコックス症、動物の感染　　子どもにうつる動物の病気（神山、高山編著)、真興交易医書出版
171－173、2005.

4. 古屋宏二. エンセファリトゾーン症　　子どもにうつる動物の病気（神山、高山編著)、真興交易医書出版 174－179、2005.

5. 遠藤卓郎、八木田健司、食品衛生検査指針微生物編「寄生虫－原虫類」　、厚生労働省監修、(社)日本食品衛生協会 pp519-534,2004.

6. 遠藤卓郎、泉山信司. 「病原微生物対策への理解に向けて」 Safe Drinking-Water:for the Contorol of Microbial Hazards. 用水と廃水 46(7) 平成 16 年 7 月

7. 遠藤卓郎、黒木俊郎、泉山信司. ＜話題の感染症＞ジアルジア症　モダンメディア 50(4) 平成 16 年 4 月

8. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. クリプトスポリジウム症　Medical Science Digest　31(1)平成 17 年 1 月

9. 杉山　広、森嶋康之、坂本京子、川中正憲、亀岡洋祐、堀川禎夫、西山秀樹：喀痰から虫卵が検出され形態と塩基配列から種同定したウェステルマン肺吸虫症の 1 例、Clinical Parasitol.、15、37-39、2004.

10. 杉山　広:寄生虫. 食品衛生指導員ハンドブック　日本食品衛生協会　pp216-227, 2004.

11. 杉山　広：顎口虫症. 共通感染症ハンドブック　日本獣医師会　pp121-113, 2004.

12. 杉山　広：肺吸虫症. 共通感染症ハンドブック　日本獣医師会　pp186-187, 2004.

13. 赤尾信明、安藤勝彦、中村（内山）ふくみ、川中正憲、ホタルイカ生食による旋尾線虫幼虫移行症の発生動向　1995～2003、病原微生物検出情報、Vol.25, No5, 3-4, 2004

14. 荒川京子、森嶋康之、杉山広、川中正憲、ホタルイカの旋尾線虫 X 型幼虫：最近の検出状況、病原微生物検出情報、Vol.25, No5, 4-5, 2004

15. 川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山広、在日外国人固有の食習慣に起因する肺吸虫症、病原微生物検出情報、Vol.25, No5, 8-9, 2004

16. 川中正憲、杉山　広：寄生蠕虫類、食品衛生検査指針　日本食品衛生協会　pp535-563, 2004

17. 野崎智義　(2004)　寄生虫・原虫で起こる感染症（アメーバ赤痢、マラリア、トキソプラズマ症、ジアルジア症、カラアザール、クリプトスポリジア症、ニューモシスチス・カリニ肺炎）in 家庭医学大全科　法研, pp2756-2763.

Ⅱ.学会発表

1. 国際学会

1. Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Binchai, S., Ketudat, P., Kameoka, Y. and Kawanaka, M.：Molecular discrimination between individual metacercariae of *Paragonimus heterotremus* and *P. westermani* occurring in Thailand. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2004, Bangkok, 29 Nov.-1 Dec. 2004.

2. Nozaki, T. (2004) Pathway for prostaglandin biosynthesis in Leishmania: A potential target for new prophylactic and chemotactic strategies. Meeting on Leishmania Exo-antigens diagnosis, treatment, and vaccine development. Supported by USA Medical Research Unit and Kenya Medical Research Institute, June 1-4, 2004, Mombasa, Kenya

3. Nozaki, T. (2004) Iron-sulfur cluster formation in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*: unique non-redundant nitrogen fixation (NIF)-like system in the anaerobic parasite. The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Aug 30-Sept 2, 2004, Awaji, Japan.

4. Ali, V. and Nozaki, T. (2004) Serine metabolic pathways in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Aug 30-Sept 2, 2004, Awaji, Japan.

5. Nozaki, T. (2004) *Entamoeba histolytica* phagosome proteome "Genomics and Biology of the Amitochondriates" Set 18-19, 2004, Woods Hole.

6. Ali, V., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2004) Roles of the Iron-sulfur cluster formation in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*: Functional characterization of non-redundant nitrogen fixation (NIF)-like system in the anaerobic parasite. The XVth Molecular Parasitology Meeting, Sept 19-23, 2004, Woods Hole, U.S.A.

7. Beck, D. L., Ready, K., Dragulev, B., Mackery, A., Nozaki, T., Fox, J., Pearson, W., Petri, Jr., W. A. (2004) Expression analysis of a large family of *Entamoeba histolytica* transmembrane kinase proteins with homology to giardia variant surface proteins. The XVth Molecular Parasitology Meeting, Sept 19-23, 2004, Woods Hole, U.S.A.

8. Nakada-Tsukui, K., Ali, V., Saito-Nakano, Y., and Nozaki, T. (2004) *Entamoeba histolytica* Rab7A regulates the transport of a virulence factor cysteine protease via a specific interation with the retromer-like complex. The XVth Molecular Parasitology Meeting, Sept 19-23, 2004, Woods Hole, U.S.A.

9. Nozaki, T., Nakada-Tsukui, K., Mitra, B. N., Okada, M., Saito-Nakano, Y., Huston, C. D., Mann, B. J., and Petri, Jr., W. A. (2004) Vesicular trafficking in phagocytosis of *Entamoeba histolytica*. EMBO Workshop on Pathogenesis of Amoebiasis: From Genomics to Disease, Nov 16-20, 2004, Ein Gedi, Israel.

10. Ali. V. and Nozaki, T. Biochemical and functional analysis of serine metabolisms in *Entamoeba histolytica*. EMBO Workshop on Pathogenesis of Amoebiasis: From Genomics to Disease, Nov 16-20, 2004, Ein Gedi, Israel.

11. Okada, M., Huson, C. D., Mann, B, J., Petri, Jr., W. A., Kita, K., and Nozaki, T. (2004) Proteomic analysis of phagosome biogenesis: Comparison of phagosome protein profiles between virulent and avirulent *Entamoeba histolytica* strains. The 39th Joint Conference on Parasitic Diseases. The Japan-United States Cooperative Medical Science Program, Dec 7-10, 2004, Kyoto.

12. Nakada-Tsukui, K., Ali, V., Saito-Nakano, Y., Okada, M., and Nozaki, T. (2004) Rab7A small GTPase regulates the transport of cytolytic cysteine protease via a specific interaction with the retromer-like complex in the enteric protozoan paraiste *Entamoeba histolytica* strains. The 39th Joint Conference on Parasitic Diseases. The Japan-United States Cooperative Medical Science Program, Dec 7-10, 2004, Kyoto.

2. 国内学会

1. 古屋宏二. サル類における播種性ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 感染の血清疫学的解析、平成16年度京都大学霊長類研究所共同利用研究会" サル類疾患の生態学 "、名古屋　平成17年1月22日.

2. 八木田健司、下河原理江子、朝倉登喜子、泉山信司、黒木俊郎、遠藤卓郎. 国内温水環境における病原性 *Naegleria* 属アメーバの実態、第37回日本原生動物学会.

3. 黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、宇根有美、鳥羽道久、遠藤卓郎、爬虫類における *Cryptosporidium* の保有状況、第37回日本原生動物学会.

4. 小村麻子、八木田健司、泉山信司、下河原理江子、遠藤卓郎、*Naegleria fowleri* 総タンパク質のアミノ酸配列解析－2D-PAGE データベースの拡充を目指して、第37回日本原生動物学会.

5. 八木田健司、下河原理江子、朝倉登喜子、泉山信司、黒木俊郎、遠藤卓郎、国内温水環境における高温耐性アメーバ類、特に病原性 *Naegleria* 属アメーバの実態に関

する調査結果、第 74 回　日本寄生虫学会大会.

6. 吉田邦仁子、八木田健司、上田晃弘、田沼順子、矢崎博久、本多美和子、潟永博之、源河いくみ、照屋勝治、立川夏夫、菊池　嘉、遠藤卓郎、岡　慎一、木村　哲、クリプトスポリジウム症を呈した AIDS 症例の検討、第 78 回日本感染症学会総会.

7. 倉　文明、前川純子、八木田健司、遠藤卓郎、池野まり子、辻　英高、田口真澄、小林一寛、渡辺治雄、客船に関連したレジオネラ症の集団発生における感染源の分子疫学、第 78 回日本感染症学会総会.

8. 本多美和子、八木田健司、上田晃弘、吉田邦仁子、矢崎博久、田沼順子、潟永博之、源河いくみ、立川夏夫、照屋勝治、菊池　嘉、遠藤卓郎、岡　慎一、木村　哲、海外渡航歴のない男性に発症したランブル鞭毛虫症 2 例の報告、第 78 回日本感染症学会総会.

9. 黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、宇根有美、鳥羽道久、遠藤卓郎.　爬虫類における Cryptosporidium の保有状況 日本原生動物学会　平成 16 年 11 月

10. 泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎、藤原正弘. Giardia の紫外線消毒における付着濁質の影響　環境技術学会 平成 16 年 9 月

11. 泉山信司、八木田健司、下河原理江子、朝倉登喜子、遠藤卓郎.　温水環境より分離した Naegleria 属アメーバの遺伝子型別.　日本寄生虫学会　平成 16 年 4 月

12. 森嶋康之・荒川京子・杉山 広・川中正憲、北海道から移動するイヌの多包条虫感染実態調査。第 73 回日本寄生虫学会大会（2004 年 4 月）

13. 川中正憲、荒川京子、杉山広、森嶋康之. 動物展示施設におけるアライグマ回虫症の感染予防対策について、第 73 回日本寄生虫学会大会（2004 年 4 月）。

14. 森嶋康之、荒川京子、杉山 広、川中正憲、大野譲治、阿部幸一：青森県における飼育犬およびキツネの多包条虫感染調査、第 64 回日本寄生虫学会東日本支部大会、2004 年 10 月、東京。

15. 川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山 広、安里龍二、平良勝也：沖縄県における広東住血線虫症の血清疫学的調査、第 64 回日本寄生虫学会東日本支部大会、2004 年 10 月、東京。

16. 杉山　広、森嶋康之、荒川京子、川中正憲：東京のクロベンケイガニから検出した大平肺吸虫：メタセルカリア寄生率の季節消長、第 137 回日本獣医学会学術集会 2004 年 4 月、藤沢

17. 杉山　広、森嶋康之、坂本京子、川中正憲、亀岡洋祐、堀川禎夫、西山秀樹：喀痰から虫卵が検出され形態と塩基配列から種同定したウェステルマン肺吸虫症の 1 例、第 15 回日本臨床寄生虫学会大会　2004 年 6 月、東京

18. 杉山　広、森嶋康之、アチャリア・ラングシルジ、スーチーワン・ビンチャイ、パンシン・ケツダット、亀岡洋祐、川中正憲：分子生物学的手法による肺吸虫の種鑑別・同定：タイ産肺吸虫メタセルカリアを用いての検討、第 139 回日本獣医学会学術集会　2005 年 3 月、和光

19. 座本　綾、田口文広、福士秀悦、森川　茂、杉山　広、田原口元子、山田靖子：フェレットの ACE2 同定と SARS-CoV レセプターとしての機能、第 139 回日本獣医学会学術集会　2005 年 3 月、和光

20. Vahab Ali, 繁田泰男, 徳本梅千代, 高橋康弘, 野崎智義 (2004) Fe-S cluster assembly in the parasitic protist *Entamoeba histolytica* under anaerobic conditions. 第 73 回日本寄生虫学会大会　2004 年 4 月 3-4 日、前橋

21. 中野由美子, 岡田麻美, 津久井久美子, ぬで島麻衣, 徳丸文恵, 野崎智義 (2004) 赤痢アメーバのファゴソーム成熟過程における EhRab7 アイソタイプの解析 第 73 回日本寄生虫学会大会　2004 年 4 月 3-4 日、前橋

22. 津久井久美子, 中野由美子, 岡田麻美, 繁田泰男, 野崎智義 (2004) 赤痢アメーバ Rab7 結合分子 第 73 回日本寄生虫学会大会　2004 年 4 月 3-4 日、前橋

23. 牧岡朝夫, 熊谷正広, 渡辺直熙, 竹内 勤、野崎智義 (2004) 赤痢アメーバのゲラニルゲラニル転移酵素 I 型の解析 第 73 回日本寄生虫学会大会　2004 年 4 月 3-4 日、前橋

24. Saito-Nakano, Y., Okada, M., Nakada-Tsukui, K., Mitra, B. N., Nudeshima, M., Tokumaru, F., Shigeta, Y., and Nozaki, T. (2004) Roles of EhRab7 isotypes on phagocytosis in *Entamoeba histolytica*. 第 57 回日本細胞生物学会大会　2004 年 5 月 26-28 日、大阪

25. 岡田麻美、Christopher D. Huson, Barbara J. Mann, William A. Petri, Jr., 北潔、野崎智義 (2004) 赤痢アメ

ーバにおけるファゴソームタンパク質の株間の比較　第12回分子寄生虫ワークショップ、2004年8月1-4日、蓼科

26. 津久井久美子、中野由美子、岡田麻美、野崎智義(2004) 赤痢アメーバRab7Aと細胞内pHの制御　第12回分子寄生虫ワークショップ、2004年8月1-4日、蓼科

27. 野崎智義（2004）腸管寄生性原虫赤痢アメーバの病原機構解明のためのゲノミクスおよびプロテオミクスアプローチ　第12回分子寄生虫ワークショップ、2004年8月1-4日、蓼科

28. 所 正治、小林正規、井関基弘、野崎智義（2004）赤痢アメーバにおけるメチオニン代謝の解析第 12 回分子寄生虫ワークショップ、2004年8月1-4日、蓼科

29. 佐藤 暖、岡田麻美、繁田泰男、竹尾 暁、坪井敬文、野崎智義（2004）赤痢アメーバシステインプロテアーゼ及びシステインプロテアーゼ様分子の発現と解析　第77回日本生化学会大会　Oct 13-16, 2004, 横浜

30. 熊谷正広、牧岡朝夫、竹内 勤、野崎智義（2004）赤痢アメーバのゲラニルゲラニル転移酵素I型の解析　第45回日本熱帯医学会大会、Oct15-16、東京

31. 中野由美子、津久井久美子、岡田麻美、ぬで島麻衣、徳丸文恵、繁田泰男、野崎智義（2004）EhRab7Bは赤痢アメーバの病原因子システインプロテアーゼの細胞内輸送に関与する 第64回日本寄生虫学会東日本支部大会・第 3 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 Oct 30-31, 2004.

32. 野崎智義（2004）腸管寄生性原虫赤痢アメーバの病原機構解明のためのプロテオミクス及びポストプロテオミクスアプローチ ワークショップ　第27回日本分子生物学会年会 Dec 8-12, 2004, 神戸

33. 津久井久美子、中野由美子、Vahab Ali、岡田麻美、徳丸文恵、野崎智義（2004）腸管寄生原虫赤痢アメーバRab7A の機能解析第 27 回日本分子生物学会年会 Dec 8-12, 2004, 神戸

34. 朝日博子.　熱帯熱マラリア原虫の増殖を誘導する物質とその作様機序　第６３回日本寄生虫学会　東日本支部大会、2004年4月

7.感染病理部

部長　佐多徹太郎

概　要

1. 人事等

平成 16 年 4 月 1 日に東大医科研人癌病因遺伝子から菅野隆行を第一室研究官に採用した。第二室の永田典代、第三室の中島典子は主任研究官に昇任した。非常勤職員の秋山ひと美は 11 月に退職した。感染病理部の現定員は 16 名である。

2. 感染病理部の研究業務

感染病理部で行われた研究・業務の概要は次のとおりである。

I. 感染病理に関する研究
  1. ヒト病理検体におけるウイルス感染症に関する研究
  2. primary effusion lymphoma（PEL）の発症機構に関する研究
  3. HHV-8 のコードするヒト Interferon regulatory factor(IRF)のホモログに関する研究
  4. 病理検体における起因ウイルスの分子生物学的検索
  5. ヘルペスウイルス 1 型および 2 型の検出と型別
  6. Immuno-AT tailing 法を用いたプリオン蛋白の検出法の開発
  7. ピコルナウイルスに関する研究
  8. GBV-B 感染タマリンの病理学的検索
  9. ウイルス肝炎に関する研究
  10. ヘリコバクターピロリに関する研究

II. ウイルス感染の発症機序に関する研究
  1. ヘルペスウイルスに関する研究
  2. 成人 T 細胞白血病（ATL）モデル動物の作製
  3. インフルエンザウイルスに関する研究
  4. HIV/SIV に関する研究
  5. HIV-1 Nef のウイルス感染性増強能に関する解析

III. ワクチンに関する研究
  1. インフルエンザウイルスワクチンに関する研究
  2. 痘瘡ワクチンに関する研究
  3. ウエストナイルウイルスワクチンの開発
  4. おたふくかぜワクチンに関する研究
  5. ポリオワクチンに関する研究

IV. プリオンに関する研究
  1. プリオン検出法
  2. BSE モデル動物を用いた病理学的解析
  3. プリオン蛋白質の細胞内局在
  4. プリオン発現培養細胞のプリオンタンパク存在様式についての病理学的解析

V. 厚生労働省共同利用機器
  1. 高分解能走査電子顕微鏡 S-5200 の運用

VI. 機器管理運営委員会機器
  1. 戸山庁舎透過型電子顕微鏡の運用
  2. 村山分室透過及び走査電子顕微鏡の運用

VII. 国際協力への参加状況

VIII. 協力研究員等の受入状況

IX . 検査業務等への参加状況
  1. 検定検査
  2. 行政検査

業 績

調査・研究

Ⅰ．感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるウイルス感染症に関する研究

国内外の医療並びに医学教育施設との共同研究として生検、手術、剖検組織材料におけるウイルス感染症について病理学的に検討した。2004 年の人体由来の検体数は 286 例であった。検索の結果、水痘帯状疱疹ウイルス３例、パラインフルエンザウイルス１例、ヒトヘルペスウイルス８型１例、アデノウイルス１例、EBV４例、その他ヘリコバクターピロリ菌、ヒトパピローマウイルス、トキソプラズマ等を免疫組織学的に解析した。

（佐藤由子、尾崎泰子、片野晴隆、佐多徹太郎）

2. primary effusion lymphoma（PEL）の発症機構に関する研究

PEL はエイズ患者に発症する稀なリンパ腫で HHV-8 感染と関連することが知られている。われわれは PEL 細胞株を免疫不全マウスの腹腔に移植することにより液性および固形リンパ腫の動物モデルを作成した。この動物モデルにおける両リンパ腫を DNA array とプロテオミクスで比較することにより、固形、液性腫瘍に特異的に発現する分子を同定した。

（片野晴隆、佐藤由子、尾崎泰子、菅野隆行、加納基史［実習生］、佐多徹太郎、柳澤由香［東京医歯大］、渡邊慎哉［東京医歯大］、山河芳夫［細胞化学部］、大内史子［細胞化学部］）

3. HHV-8 のコードするヒト Interferon regulatory factor（IRF）のホモログに関する研究

HHV-8 はヒトサイトカイン関連遺伝子のホモログを多数コードすることが特徴のひとつである。中でも IRF ホモログのクラスターが存在し、病原性との関わりが推察される。これらの中で機能のわかっていない K10, K11 について cDNA ライブラリのスクリーニングを行い、新規転写産物のクローニング、数種類存在する翻訳産物の局在の検討、標的蛋白質の検索を行った。K10 については翻訳調節、mRNA の安定性との関与が示唆された。

（菅野隆行、秋山ひと美[非常勤職員]、佐藤由子、樋口好美[非常勤職員]、片野晴隆、佐多徹太郎）

4. 病理検体における起因ウイルスの分子生物学的検索

ウイルス感染が疑われた様々な症例の患者病理検体から迅速かつ簡便に病原体ウイルスの核酸を検索する目的で、Real-time PCR によりウイルスゲノムを定量的に検出するシステムを作成した。本年度対象としたウイルスは、DNA ウイルス 11 種類（HSV-1、HSV-2、VZV、EBV、CMV、HHV-6、HHV-7、HHV-8、Parvo B19、HBV、TTV）、RNA ウイルス 5 種類（Enterovirus、HAV、HCV、JEV、WNV）とした。14 検体検索した。今後、必要に応じてウイルスの種類を増やす予定である。

（尾崎泰子、片野晴隆、佐多徹太郎）

5. ヘルペスウイルス 1 型および 2 型の検出と型別

HSV の血清型診断は、分離培養により検出後、制限酵素切断パターンや MAb を用いた蛍光抗体法で型別を行ってきたが、検出・定量・型別をより迅速に行い、検出率の向上をめざし、Real-time PCR による診断システムを作成した。検体からの DNA 抽出には FujiFilm の QuickGene-800 を用いた。まず、性器ヘルペス感染症が疑われる婦人科検体 10 検体を Real-time PCR 法により調べた結果、分離培養および MAb を用いた型別、制限酵素切断パターンによる型別の成績と完全に一致した。現在、ウイルス検体数を増やして解析を行っており、分離培養の感度との比較や特異性の確認もおこない有用な診断方法として確立させたい。

（尾崎泰子、川名　尚[帝京大溝の口病院]、佐多徹太郎）

6. Immuno-AT tailing 法を用いたプリオン蛋白の検出法の開発

Immuno-AT tailing 法を免疫組織化学に応用して、高感度の抗原検出法を開発した。Oligo(dA-dT)標識した１次抗体あるいは２次抗体を用いた Immuno-AT 直接法、Immuno-AT 間接法、Immuno-$(AT)_2$ 法を用いてウシ海綿状脳症（BSE）のホルマリン固定ギ酸処理パラフィン包埋脳組織切片から異常型プリオン蛋白質の検出を試みた。現行法（Envision,DAKO 社）で陽性であった標本はすべて陽性所見を示した。なかでも Immuno-$(AT)_2$ 法は Envision 法と比較して検出感度および特異性が顕著に増強することがわかった。

（中島典子、樋口好美[非常勤職員]、佐藤由子、花木賢一[東大・疾患生命工学センター研究基盤部門]、佐多徹太郎）

7. ピコルナウイルスに関する研究

(1) ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス（TgPVR21）の粘膜感染モデル

TgPVR21 は１型ポリオウイルス強毒株を経鼻接種すると感染が成立し、ポリオ様弛緩性麻痺を発症する。2000 年の Hispaniola でのアウトブレイク際に分離された DOR00-013 株、HAI00-003 株、また、フィリピンでの 2001 年のアウトブレイクで分離された

Mindanao-01-1 株と、患者接触者から分離された Luzon-01-2c 株を TgPVR21 に経鼻接種後、麻痺発症率は脳内接種後の神経毒力と相関する傾向がみられ、本試験の有用性が示された。

（永田典代、佐藤由子、原嶋綾子、岩崎琢也［長崎大・熱帯医学研］、佐多徹太郎）

(2) SARS-CoV 感染動物モデルにおけるウイルスの動態と免疫応答の解析

SARS-CoV のカニクイザル感染モデルを用いてウイルス感染後の抗体応答、ウイルス感染および抗原の分布などを解析し、適切な診断材料、材料採取時期について検討した結果、経鼻、気管内接種あるいは静脈内接種後に直腸拭い液からウイルスが一定期間検出され、臨床診断に用いる検体として直腸拭い液や糞便材料が有用であることを示した。

（永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎、森川　茂［ウイルス第一部］、西條政幸［ウイルス第一部］、板村繁之［ウイルス第三部］、西藤岳彦［ウイルス第三部］、網　康至［動物管理室］）

8. GBV-B 感染タマリンの病理学的検索

C 型肝炎のモデルとして GBV-B 感染動物モデルの病理学的検討を行った。GBV-B 感染タマリンの血清を接種したタマリンのうち血清ウイルス RNA 価が高かった 3 頭の病理解剖を行った。肝細胞の空胞化、中心静脈あるいは小胆管周囲にリンパ球集簇巣がみられた。しかし抗 GBV-B ポリクローナル抗体を用いた免疫染色では全て陰性だった。肝臓の電顕検索でウイルス粒子様の構造は確認できなかった。今回、GBV-B によりタマリンが肝炎を起こしたかは今回、確認できなかった。

（岩田奈織子、田中恵子、佐多徹太郎、石井孝司[ウイルス２部］、八木慎太郎[先端生命科学研］、吉崎 佐矢香[ウイルス２部］、町田早苗[ウイルス２部］、鈴木哲朗[ウイルス２部］、宮村達男[ウイルス２部］、明里宏文[筑波医学実験用霊長類センター］）

9. ウイルス肝炎に関する研究

(1) ベトナムにおける HBV 変異株と肝疾患の関連

ベトナムにおける肝疾患患者 115 例（急性肝炎 39 例、慢性肝炎 76 例）から分離された HBV の分子ウイルス学的特徴を解析し、臨床所見との関連を検討した。今回は特に病態との関連が論じられている core promoter(CP)/precore(PC)変異に焦点を当てた。結果は、急性肝炎群では、CP/PC 変異が 38.4%（ゲノタイプ B）、25.6%（ゲノタイプ C）で出現した。特にゲノタイプ B では、PC ストップコドン変異（A1896）が 74.3%に起こっていた。一方慢性肝炎群では、CP/PC 変異が 61.7%（ゲノタイプ B）、32.8%（ゲノタイプ C）で出現した。CP 変異（特に T1762/A1764 double mutation）の 81%はゲノタイプ C で観察され、しかも肝硬変、肝癌との強い関連性を示した。

（Huy Tran [協力研究員]、中島　旭[協力研究員]、阿部賢治）。

(2) HBV ガーナ株の分子ウイルス学的特徴

まだ不明な点が多い HBV ガーナ株の分子ウイルス学的解析を行った。全長遺伝子 5 株と部分遺伝子（small S gene）7 株を分離し、database に登録した。分子系統樹解析で全例ゲノタイプ E と判明した。また S gene におけるアミノ酸配列から、全例 subtype ayw4（Arg^{122}, Lys^{160} and Leu^{127} / Ile^{127}）であった。アミノ酸番号 114, 122, 131, 140, 143, 159, 161, 168 は全ガーナ株で保存されていた。しかし 1 例で、160 番目のアミノ酸が Lysine →Asparagine に置換しており、escape mutant を示した。

（Huy Tran[協力研究員]、中島　旭[協力研究員]、石川晃一[エイズセンター]、William Ampofo[ガーナ大・野口研]、佐多徹太郎、阿部賢治）

(3) HBV ボリビア株の分子ウイルス学的特徴

ボリビア・サンタクルスに在住する HBV 持続感染患者 6 例から HBV を分離（全長遺伝子 2 株、pre-S gene 4 株）し、database に登録した。分子系統樹解析により全例ゲノタイプ F に属した。興味あることに、ゲノタイプ F は、4 つのサブグループ（F1～F4）を形成し、ボリビア株はアルゼンチン株と一緒に F4 に属した。F4 に属す HBV は、S gene において Leu45 と Ile110 を示し、さらに precore 領域で T1858 にリンクしていた。

（Huy Tran[協力研究員]、中島　旭[協力研究員]、Carlos

La Fuente Zerain[Japanese Hospital:ボリビア]、阿部賢治）

(4) ミャンマーにおける非B非C型肝炎の成因に関する研究

臨床的に非B非C型肝炎と診断された慢性肝疾患患者55例中22例（40%）で血中HBV DNAがPCR法にて検出された。これらのPCR陽性患者は、全例HBsAg陰性であることから、occult Bと診断された。今後このメカニズムを解明したい。

（Naomi Hlaing[協力研究員]、Huy Tran[協力研究員]、中島　旭[協力研究員]、阿部賢治）

10. ヘリコバクターピロリに関する研究

アジア各国由来胃癌組織におけるヘリコバクターピロリの検出率

日本を含む5カ国（韓国：延世大学医学部、中国：ハルピン医科大学、ベトナム：ホーチミン医科薬科大学、ミャンマー：ヤンゴン総合病院）から収集した胃癌組織（ホルマリン固定パラフィン包埋組織）を用いて、ヘリコバクターピロリ（H. pylori）遺伝子の検出を試みた。方法は薄切片から核酸を抽出し、H. pyloriの16S rRNA geneからデザインしたプライマーを用いたnested PCR法にて検出した。H. pylori DNAの検出率は、日本48/54（89%）、韓国 36/53（68%）、中国 3/57（5.3%）、ベトナム10/13（77%）、ミャンマー20/24（83.3%）であった。中国を除いたアジア各国では、胃癌発生とH. pylori感染の深い関連が示唆された。

（阿部賢治、佐藤由子、佐多徹太郎、斉藤　澄[国立国際医療セ・病理]）

Ⅱ．　ウイルス感染の発症機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究

(1) HCMVの感染初期過程に関する研究

我々はこれまでにHCMVの感染初期過程ではカプシドの核膜移行が微小管に依存する事を報告した。一方、HCMVカプシドの主要テグメント蛋白と特異的に結合する宿主因子であるp180蛋白質は、ウイルス粒子の細胞内輸送に関わると予想されたがその詳細は不明であった。HCMVカプシドの核膜への移行期の小胞体膜p180蛋白質の機能を探るため、p180ノックダウンによる影響を検討した。その結果、siRNA処理群ではウイルス抗原IE1の発現が低下することが判明した。これらよりHCMV感染初期過程におけるp180の重要性が示唆される。

（後藤希代子[協力研究員]、佐多徹太郎）

(2)より簡便で迅速な大腸菌内での組換え単純ヘルペスウイルス（HSV-1）ゲノム作製法の開発

単純ヘルペスウイルス（HSV-1）は、最近では遺伝子治療ベクターとしても注目され、簡便なHSV-1遺伝子の改変法が望まれている。我々はHSV-BAC vectorの持ついくつかの問題点を克服し、より簡単に作製でき、応用範囲の広いHSV-BAC vectorを作製することを試みた。感染性HSV-1クローンを保持した大腸菌の作製に成功し、現在これをもとに大腸菌内での様々なHSV-1ゲノム改変法の開発を試みると同時にいくつかの遺伝子をターゲットに実際に組換えウイルスの作製を行っている。さらにこの系を利用し、ウイルス感染初期の持ち込みのウイルスタンパクの可視化も試みている。

（田中道子、川口　寧[名大・ウイルス]、佐多徹太郎）

2. 成人T細胞白血病（ATL）モデル動物の作製

成人T細胞性白血病（ATL）発症モデルマウスの作成を目的としてHTLV-1のtax遺伝子をT細胞に発現するトランスジェニックマウスを作成した。独立した3系統でT細胞性白血病、リンパ腫の発症がみられた。その特徴はヒトのATLと多くの類似性がありATLの病態解明及び発症予防、治療法の開発に有用であることが期待される。

（長谷川秀樹、一戸猛志[研究生]、澤　洋文[北大・病理]、長嶋和郎[北大・病理]、山本美江[獣医科学部]、松田潤一郎[獣医科学部]、倉田　毅、佐多徹太郎）

3. インフルエンザウイルスに関する研究

(1) *in vivo*における抗体依存性のインフルエンザウイルス感染、増殖の増強

インフルエンザウイルスはシアル糖鎖をレセプターとして細胞に吸着し感染することが知られているが、*in vitro*ではFcレセプターを発現した細胞への、HA・NA

表面抗原に対する特異抗体を介した感染の増強（antibody dependent enhancement）が報告されている。この現象が *in vivo* のインフルエンザ経鼻感染モデルでも観察されるかを検討した。抗 A/PR/8/34 HA モノクローナル抗体を 1μg/マウスで腹腔内接種した 1 日後に A/PR/8/34 ウイルスを 10PFU/マウスで経鼻感染させて、感染 3 日後の鼻腔洗浄液中のウイルス量を測定した。その結果、抗体未接種対照群では鼻腔洗浄液からウイルスが検出されなかったが、抗体接種群では 102.5PFU/ml のウイルスが回収された。

（吉河智城[協力研究員]、田村慎一[客員研究員]、尾崎泰子、佐多徹太郎）

4. HIV/SIV に関する研究

(1) サル胎児 BPCs 培養系を用いた SIV 脳症の解析

HIV 脳症のモデルである SIV 脳症の病態を解析するために、サル胎児 BPCs を用いた培養系で、神経・グリア細胞における SIV の感染動態を解析した。神経向性な SIV17E-Fr はこの培養系で増殖し、感染性の子孫ウイルスを産生することがわかった。ミクログリアやマクロファージでの感染性に関してはマクロファージ向性な SIVmac239/316E の方が、SIV17E-Fr と比べはるかに高いが、神経･グリアへの感染性は低かった。SIV17E-Fr の感染は AZT で抑制され、RANTES（CCR5 のリガンド）で減少することがわかった。

（中島典子、岩田奈織子、岡田昌子[実習生]）

(2) サル胎児脳由来 progenitor 細胞を用いた in vitro culture system の開発

神経向性ウイルスの中枢神経系における感染動態を解析するための in vitro culture system として、サル胎児脳由来 progenitor 細胞（以下、BPCs）を用いた培養系の確立を試みた。9～11 週のカニクイザル胎児脳からニューロスフィア法で BPCs を分離培養した。回収した細胞は自己増殖能を持ち、多くがネスチン陽性で GFAP や Tuj にも陽性を示した。成長因子をのぞいた 1%血清添加培地で分化誘導すると、ネスチン陽性細胞は減少し、GFAP あるいは Tuj にのみ陽性を示す細胞が増加した。分化誘導前後の細胞にミクログリアは混在していなかった。これらの特徴は他種で同定されている brain progenitor 細胞と一致している。

（岩田奈織子、吉田洋明[実習生]、中島典子）

(3)中枢神経系への感染性に関与する SIV の env 塩基配列の解析

マクロファージ向性の SIVmac239/316E と神経向性の SIV17E-Fr の env 領域の 5 ' 側（SU 部分）と 3 ' 側を組みかえた 6 種類のウイルスを作製し、感染性を比較した。組換えウイルスを CEM×174 細胞に接種し経時的に培養上清中の SIVp27 抗原量の変化を比較したところ、env の 5 ' 側前半が SIVmac239/316E 型の SIV の方が SIV17E-Fr 型より感染増殖することがわかった。LuSIV 細胞を用いた感染性の評価でも同様の結果が得られた。神経グリア細胞への感染性を感染細胞中の SIV nef-DNA を定量して評価したが、5 '側前半が SIV17E-Fr 型の SIV を接種した場合の方がより多くの SIV nef-DNA が検出された。神経系細胞への感染はエントリーで制限され、env の SU 部分が重要であることが示唆された。

（岩田奈織子、岡田昌子[実習生]、中島典子）

(4) HIV-1 ゲノム RNA の安定性を制御する宿主因子の解析

Tristetraprolin（TTP）はサイトカイン等の mRNA を短命化する転写後発現制御因子であり、mRNA の非翻訳領域にある AU シークエンスを認識して結合する。HIV-1 のゲノム RNA も AU に富むことが知られているが、TTP は HIV-1 ゲノム RNA の AU に富む領域を認識して結合することが判明した。さらにスプラシングを受けていない HIV-1 RNA の安定性を低下させ、結果的に粒子形成を阻害し、スプラシングを亢進させ Nef など多重にスプラシング RNA による産物を増加させた。本研究の結果は、ウイルスが免疫系による監視から逃れる機構の解明につながると考えられた。

（高橋秀宗、前田才恵[慶応大]、飛梅　実）

(5) HIV-1 のゲノム RNA 核外輸送機構の解析

HIV-1 のゲノム RNA 核外輸送機構の解明することを目的とした。蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）観察技術により、HIV-1 Rev と宿主 Crm1 の結合を可視化する

ことに成功した。Rev と Crm1 の結合による FRET は細胞の核内、核膜で起きていること、レプトマイシン B により阻害できることが判明した。この Rev-Crm1 の結合は、蛍光顕微鏡のみならず、フローサイトメトリーでも検出可能になった。また活性型 Ran を強制発現させることでより強い FRET を得ることができ、Rev と Crm1 の結合を阻害する分子、薬剤のスクリーニングに用いることが可能であると考えられた。

（飛梅　実、松田道行[阪大・微研]、前田才恵[慶応大]、高橋秀宗）

(6) HIV の細胞侵入機構の解析

HIV 侵入の分子機構は未だ不明である。そこで、HIV(Nef+/－)の CD4 細胞侵入を FRET 法で解析したところ、①β-lactamase 導入 HIV は Nef+/－＝感染性強/弱を維持し、②蛍光色素複合体を取込んだ CD4 細胞はβ-lactamase-HIV 吸着後 1～4 時間内に緑→青への蛍光シフトを生じ、③吸着・膜融合過程に Nef+/－の差は無く、④侵入過程をバイパスする VSV-G/HIV の逆転写以降は Nef+/－で同等だった。以上の事から、吸着/融合後・逆転写前の脱殻過程に侵入拘束因子の介在が示唆された。

（飛梅　実、Chris Aiken[Vanderbilt 大学, USA]、小島朝人、佐多徹太郎、）

(7) HIV-1 逆転写酵素を阻害する抗体の遺伝子を使った治療法の開発

HIV-1 逆転写酵素（RT）の p66 サブユニット発現プラスミドを DNA 免疫して樹立したモノクローナル抗体の特異性・RT 阻害活性を解析した。その結果、酵素活性を阻害する複数のクローンが存在し、これらの中には RT 阻害モノクローナル抗体 7C4 と RT 結合で競合するクローン、及び、7C4 と異なるエピトープを認識するクローンの存在が判明した。RT 阻害抗体遺伝子による HIV-1 治療法を開発するため、これらハイブリドーマから抗体遺伝子のクローニングを進めている。

（大場浩美[協力研究員]、千葉 丈[東京理科大]、佐多徹太郎、小島朝人）

(8)HGV のエイズ発症遅延機構の解明に関する研究

G 型肝炎ウイルス（HGV/GBV-C）に感染している HIV/AIDS 患者における AIDS 発症遅延の原因を探るため、*in vitro* での GBV-C 感染実験系の確立を目指して、昨年度、GBV-C 遺伝子の全長クローニングを行った。今年度はその改良型を構築し、GBV-C の産生増強を試みた。またこの 5’UTR 及び他の臨床分離株由来 5’UTR の IRES 活性と HCV のそれとを、新たに樹立した Dual luc reporter IRES assay を用いて比較検討した。その結果、GBV-C IRES 活性が本質的に低レベルであることが明らかになった。この低 IRES 活性を補うために、あらかじめ転写量を増加させた結果、代償的にウイルス RNA 産生を高めることに成功した。この系を利用して現在 HIV-1 複製への関与を検討中である。

（徳永研三、木ノ本正信[研究生]、阿部賢治、佐多徹太郎）

(9)HIV-1 感染者の末梢血リンパ球における早期娘染色体分離

HIV-1 アクセサリー遺伝子 *vpr* は 96 アミノ酸からなる核蛋白質をコードし、その産物は HIV-1 複製および産生、G2/M、hyperploidy での細胞集積を誘導する。今回我々が HIV-1 感染患者症例を調べたところ、末梢血リンパ球の染色体で高頻度の早期娘染色体分離（PCS）を認めた。また、健常人末梢血リンパ球に野生型 Vpr を含むウイルスを感染させると PCS が高頻度に認められ、Vpr 欠損ウイルスでは非感染コントロールと同様に低値を示したことから、PCS は Vpr に依存して誘導される可能性が示唆された。

（志村まり[国立国際医療セ]、徳永研三、古西　満[奈良医大]、佐藤裕子[国立国際医療セ]、佐多徹太郎、石坂幸人[国立国際医療セ]）

(10)Live cell imaging による HIV-1 粒子の細胞内動態解析

HIV-1 が宿主染色体にインテグレーションする過程をリアルタイムにモニタリングするため、非常に低分子である 4 x cysteine を含んだ tetracysteine(TC)配列をインテグレースに付加した TC-tagged HIV-1 を作製し、HIV-1 粒子の細胞内挙動を明らかにすることを試みた。異なる挙動を示すことが予想される対照ウイルスとしてインテグレース変異ウイルスも作製した。ウイルス感染

後に TC 染色して鏡検した結果、変異によるウイルス粒子の挙動の差異をクリアに示すことができた。今後、種々の変異型 HIV-1 の細胞内動態解析における TC-tagged ウイルスの有用性が期待できる。

（木ノ本正信[研究生]、志村まり[国立国際医療セ]、石坂幸人[国立国際医療セ]、佐多徹太郎、徳永研三）

Ⅲ. ワクチンに関する研究

1. インフルエンザウイルスワクチンに関する研究

(1) 新型 H5N1 インフルエンザウイルスワクチンの経鼻免疫による感染防御効果

昨年度までに、新型インフルエンザ H5N1 の不活化ワクチンを様々なアジュバントと共にマウスに経鼻投与し、免疫誘導と防御に有効であることを確認した。本年度は、有効性の高かったアジュバント poly(I:C)＋CMP のアジュバント効果のメカニズムについて検討を加えた。アジュバントの経鼻投与により NALT と脾臓における TLR3、TLR7 の mRNA 発現量が増加と、脾臓における IL-6、IFN-γのmRNA 発現量の増加、および IgA, IgG, IgM の AFC が有意に高産生されることが観察された。

（尾崎泰子、長谷川秀樹、一戸猛志[研究生]、佐多徹太郎）

(2) 経鼻不活化全粒子ワクチンの有効性の検討

ヒトでの実用化に向けた経鼻不活化ワクチンの有効な候補として、現行のスプリットワクチンにアジュバントを併用することと、アジュバント不要の不活化全粒子ワクチンがあげられている。そこで発育鶏卵で増殖したウイルスを様々な処理条件にて不活化した全粒子ワクチンを作成し、アジュバント併用 Split ワクチンとの免疫原性の比較検討をおこなっている。その結果、0.2%ホルマリン固定と 56℃加熱を組み合わせた不活化処理方法がコレラトキシンをアジュバントとしたスプリットワクチンに準ずる免疫効果を示すことがわかった。今後、免疫誘導のメカニズムの検討や接種濃度の条件検討を加える予定である。

（田村慎一[客員研究員]、尾崎泰子、長谷川秀樹、佐多徹太郎）

(3) 合成二本鎖 RNA[poly(I:C)]をアジュバントに用いた経鼻インフルエンザワクチンの開発

Toll like receptor（TLR）のリガンドである合成二重鎖 RNA をアジュバントとして用いインフルエンザワクチン経鼻免疫することにより気道粘膜に交叉反応性の高い分泌型 IgA 抗体を誘導できることが明らかとなった。接種後に鼻咽頭関連リンパ装置（NALT)での TLR3 の誘導が見られ、また IFN-α-β-γ及び IL-4,-6,-12 の発現がみられ免疫力を増強している事が示唆された。ヒトでの実用化を念頭に置いた粘膜ワクチンのアジュバントに成りえる可能性がある。

（長谷川秀樹、一戸猛志[研究生]、伊藤智史[研究生]、千葉　丈[東京理科大]、田村慎一[阪大・微研]、倉田　毅、佐多徹太郎）

(4) キチン微粒子（CMP）をアジュバントに用いた経鼻インフルエンザワクチンによる感染予防の研究

経鼻接種により抗アレルギー作用のあるキチン微粒子（CMP）とワクチンを経鼻接種することにより交叉防御能を有する分泌型 IgA の誘導が可能であり致死的感染に対し防御可能であった。CMP は天然物由来であり安全な物質であるのでヒトでの実用化を念頭において粘膜ワクチンの候補となる可能性がある。

（長谷川秀樹、Peter Strong[英国オックスフォード大]、森山雅美[慶応大・医]、一戸猛志[研究生]、伊藤智史[研究生])、田村慎一[阪大・微研]、千葉　丈[東京理科大]、倉田　毅、佐多徹太郎）

2. 痘瘡ワクチンに関する研究

組織培養弱毒痘瘡ワクチンの有効性に関する検討

我国組織培養痘瘡ワクチン LC16m8 株(m8)の免疫原性・感染防御効果を、m8 の親株である弱毒 LC16mO 株（mO）及び元株である WHO 痘瘡根絶計画採用 Lister 株（LO）と、マウスを用いて比較検討した。その結果、いずれのワクチン株（接種量 10^5 又は 10^7PFU）で免疫しても、抗-ワクシニアウイルス或いは抗-B5R エンベロープ抗体は低い又は検出レベル以下であったが、致死量の 10 倍の強毒 WR 株経鼻感染後には両者とも高い抗体価を示し、マウスは臨床症状も示さず全匹生存した。

（小島朝人、長谷川秀樹、尾崎泰子、佐多徹太郎、倉田毅、森川　茂、西条政幸[ウイルス 1 部]）

3. ウエストナイルウイルスワクチンの開発

我国侵入の恐れがあるウエストナイルウイルス（WNV）のワクチン開発を、日本脳炎次世代新ワクチン開発の経験を基盤に、緊急に開始した。WNVゲノムRNAからRT-PCRで構造蛋白領域のcDNAを合成・クローニングした。次に、prM-Eをコードするc DNAの発現ベクターを構築し、トランスフェクションによるWNV蛋白の発現・細胞外放出を検討した。その結果、産生された大量のWNV E蛋白が培地中に放出され、超遠心沈降画分に回収され、絶対産生量は細胞に依って異なることを見出した。

（小島朝人、田中道子、高橋秀宗、倉田　毅、佐多徹太郎、高崎智彦[ウイルス1部]）

4. おたふくかぜワクチンに関する研究

乾燥弱毒生おたふくかぜワクチンの神経毒力試験における問題点

旧千葉血清と阪大微研が行ったマーモセットのムンプス感染モデルの病理標本について検索した。野外株脊髄内接種後のマーモセットの脈絡膜上皮細胞や脳室上衣細胞でムンプスウイルスの抗原が検出され、それに伴う髄膜炎像が認められた。また、ワクチン株では病変の程度は野外株に比べて弱かった。

（永田典代、佐藤由子、原嶋綾子、佐多徹太郎、加藤 篤[ウイルス３部]、田代眞人[ウイルス３部]、斉加志津子[ウイルス３部協力研究員]、村木優子[(財)阪大微研]）

5. ポリオワクチンに関する研究

ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス（TgPVR21）を用いた Sabin 株由来不活化ポリオワクチンの免疫効果に関する研究

昨年度実施した、不活化弱毒生ポリオワクチン（IPV）Sabin 1株の皮下免疫TgPVR21の組織標本を用いて局所の免疫反応について検討を行った結果、CTBアジュバンド添加Sabin 1株由来IPVによる経鼻免疫によって、粘膜組織にIgAが強く誘導されることが組織学的に明らかとなった。本ワクチンを工夫して使用することによって粘膜免疫の誘導も可能である。

（永田典代、波多野煜持[非常勤職員]、原嶋綾子、佐藤由子、岩崎琢也[長崎大・熱帯医学研]）

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. プリオン検出法

マイクロウェーブ装置を使用し 検体が到着したその日のうちに結果を出す迅速法を開発した。この方法は現在のところ世界で最も早く結果の得られる BSE 病理・免疫組織化学検査となった。多くの例でその有用性を確認する予定である（佐藤由子、樋口好美[非常勤職員]、佐多徹太郎）

2. BSE モデル動物を用いた病理学的解析

ウシプリオン発現マウスプリオンノックアウトマウスを用いて BSE 由来サンプルの病原性を迅速にバイオアッセイできる系を開発し、さらに BSE 病態病理を解析することを目的とした。マウスプリオンノックアウトマウスから神経幹細胞を分離培養しプリオンを培養系で増幅させた後、生体内で分化、生着させることにより病原性の確認を高速化することを期待して実験を進めた。その結果、ノックアウトマウスから神経幹細胞を分離培養することに成功した。スクレイピープリオンと神経幹細胞の培養後、蛋白分解酵素耐性蛋白を調べたところ、スクレイピープリオンは減少したが発現させたプリオン蛋白は増加したため、プリオンが増幅されたと判断した。

（飛梅　実、高橋秀宗、前田才恵[慶応大]、佐多徹太郎）

3. プリオン蛋白質の細胞内局在

BSE 等を引き起こす異常型プリオン蛋白質の供給源となる正常型プリオンの細胞内局在について検討した。蛍光分子をアミノ酸 23 番目に組み込んだ全長のプリオンタンパク質は細胞膜への発現が認められた。この GPI アンカーを欠いた変異体では、細胞膜への発現は認められず、細胞質での貯留が減少していた。GSS の原因であるアミノ酸145番目までの変異体は細胞膜への発現は認められなかったが、ライソソームと考えられる部位に貯留していることが明らかとなった。

（飛梅　実、佐多徹太郎）

4. プリオン発現培養細胞のプリオンタンパク存在様式についての病理学的解析

異常型プリオン発現細胞における異常型プリオン蛋白の局在について免疫組織学的解析を行った。和歌山で平成 15 年に発生した牛海綿状脳症の牛由来の脳乳剤上清を添加し、培養したヒトグリオーマ細胞 (T98g 細胞)を用いて、蛍光抗体法を実施した。抗体は５種用いたが、3F4 モノクローナル抗体のみが有用であり、細胞質に顆粒状に抗原が検出された。

（永田典代、原嶋綾子、佐藤由子、長谷川秀樹、佐多徹太郎、岡田義昭[血液・安全性研究部]）

Ⅴ．厚生労働省共同利用機器

1. 高分解能走査電子顕微鏡 S-5200 の運用

昨年入れ替えた S-5200 の操作にも慣れたが、PC-SEM の欠点であるパソコンの不調による動作不良が起こった。しかし、平成 16 年度も順調に運用された。

本年度中に処理した検体数は 268 検体で、その内訳は感染研内部 152 検体、外部との共同研究 53 検体、外部のみ 63 検体であった。そのほとんどは菌やウイルスの形態観察である。生化学的性状などで同定できないらせん菌で、電顕観察による鞭毛の数や着きかたにより同定可能となったものもある。また、細菌学会教育用に良好な菌の画像を提供することも依頼されている。

今回 70 検体の元素分析を行っているが、そのうち歯科材料でフッ化ジアミン銀の塗布が今までの 10 分の１量でも、う蝕予防効果があることが分った。今後医療面での応用が期待される。（齋藤典子[臨時職員]）

Ⅵ．機器管理運営委員会機器

1. 戸山庁舎透過型電子顕微鏡の運用

総受付件数は 30 件で、ネガティブ染色サンプルは 66 で、Epon 包埋検体は 42、ブロック数は 247、Lowicryl 包埋検体は 12 でブロック数は 36 となった。ネガティブ染色サンプルとしては主に HCV 粒子、HPV－VLP であった。Nipah 脳炎の脳の免疫電顕（Post-embedding）を行い、ほぼ良好な結果が得られた。（田中恵子[非常勤職員]、佐多徹太郎）

2. 村山分室透過及び走査電子顕微鏡の運用

本年度の総依頼件数は 18 件であり、透過電子顕微鏡利用は 17 件、走査電子顕微鏡は 3 件であった(2 件重複)。依頼者は感染病理部の他、細菌第二部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、エイズセンター、感染症情報センターであり、昨年度と件数はほぼ変わらないが利用者は増加した。電子顕微鏡写真の利用率（投稿論文、写真提供など）も増加した。（波多野煜持[非常勤職員]、永田典代、佐多徹太郎）

Ⅶ．国際協力への参加状況

参加者	種　別	項　　目	期　間
佐多徹太郎	WHO	神経毒力試験について(WHO)	2005.2
	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
片野晴隆	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
高橋秀宗	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
長谷川秀樹	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
	研修	平成 15 年度ポリオ根絶計画ウイルス検査技術コース研修講師（国立感染研、JICA、WHO 西太平洋事務局）	2005.3
永田典代	研修	平成 15 年度ポリオ根絶計画ウイルス検査技術コース研修講師（国立感染研、JICA、WHO 西太平洋事務局）	2005.3
中島典子	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
田中道子	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
徳永研三	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
飛梅　実	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
菅野隆行	研修	第 11 回エイズ国際研修講師（国立感染研・JICA）	2005.2
阿部賢治	研修生	ベトナムからの研修生（Huy TT Tran 医師）受け入れ	2004.4 - 2005.3
	研修生	ミャンマーからの研修生（Naomi KT Hlaing 医師）受け入れ	2004.11 - 2005.8

Ⅷ. 協力研究員等の受入状況

受入者	種　別	氏　名	研　究　課　題
佐多徹太郎	協力研究員	後藤希代子	ヒトヘルペスウイルスの研究
	流動研究員	田中恵子	ウイルス感染の電子顕微鏡による解析
	協力研究員	熊坂利夫	呼吸器領域のウイルス病理学に関する研究
	協力研究員	加藤敏彦	ヒトパピローマウイルスの病理学的研究
	協力研究員	小池　智	ピコルナウイルス感染の発症病理についての研究
	協力研究員	安藤靖恭	眼科領域のウイルス感染に関する研究
	協力研究員	関九美子	口腔内腫瘍のウイルス発がんについての研究
	協力研究員	澤田　靖	BSE 確認検査技術向上のため
	協力研究員	加藤啓子	BSE 確認検査技術向上のため
	協力研究員	岩本百合子	BSE 確認検査技術向上のため（2004.9 まで）
	協力研究員	服部俊治	プリオン病診断に関する研究
	協力研究員	牛木祐子	プリオン病診断に関する研究
	協力研究員	山本卓司	プリオン病診断に関する研究
	実習生	笠井恵美	ヒト感染症の病理学的検討
片野晴隆	実習生	加納基史	ウイルス感染症の診断に関する研究
小島朝人	協力研究員	安田斡司	Gag VLP によるエイズワクチン開発に関する研究
	協力研究員	干川就可	組換えワクチン抗原の電子顕微鏡解析に関する研究
	協力研究員	大場浩美	抗-RT 単鎖抗体を用いた細胞内免疫法に関する研究
	協力研究員	勇　史行	ウイルス遺伝子機能解析に関する研究
	実習生	小鳥周一	ウイルス感染の分子生物学的解析技術と知識の習得
高橋秀宗	協力研究員	前田才恵	HIV-1 ゲノム RNA の安定性を制御する宿主因子の解析
中島典子	実習生	吉田洋明	サル由来プロジェニター細胞の研究
	実習生	岡田昌子	SIV の中枢神経感染に関する研究
長谷川秀樹	研究生	一戸猛志	インフルエンザ DNA ワクチンの開発に関する研究
	研究生	伊藤智史	インフルエンザ DNA ワクチンの開発に関する研究
	研究生	川口　晶	インフルエンザ粘膜ワクチンの開発に関する研究
徳永研三	研究生	木ノ本正信	高いシンシチウム形成能を規定する Env 領域の同定
阿部賢治	流動研究員	丁　　欣	肝炎ウイルスと肝癌発生に関する地理病理、分子病理学的研究
	協力研究員	Huy TT Tran	HBV 変異株の分子疫学的研究
	協力研究員	早川依里子	小児科領域で重要な感染症に関する研究
	協力研究員	中島　旭	感染症領域における新しい遺伝子診断法の開発と応用
尾崎泰子	協力研究員	浅沼秀樹	老齢マウスのワクチンに対する免疫応答
	協力研究員	伊藤玲子	小児ウイルス感染症の感染病理学的研究
	協力研究員	吉河智城	粘膜アレルギーの抑制に関する研究
	協力研究員	呉　培星	インフルエンザウイルス感染阻害剤の開発（2004.6 まで）

Ⅸ. 検査業務等への参加状況

1. 検定検査

神経毒力試験

弱毒生麻しんワクチン中間段階における迷入ウイルス否定試験の乳のみマウス接種試験における異常動物の病理検索を１件依頼された。

（永田典代、長谷川秀樹、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎）

2. 行政検査

2004 年度には 27 例の BSE 疑陽性例について病理、免疫組織化学による確定診断をおこなった。その結果、3 例の BSE 陽性牛を摘発した。また神奈川食肉衛生検査所の 協力で１例で全身の諸臓器の検索をおこなうことができた。

（樋口好美[非常勤職員]、佐藤由子、長谷川秀樹、岩田奈緒子、田中道子、中島典子、飛梅　実、高橋秀宗、片野晴隆、永田典代、佐多徹太郎）

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

1．欧文発表

1) Katano H, Pesnicak L, Cohen JI: Simvastatin induces apoptosis of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed lymphoblastoid cell lines and delays development of EBV lymphomas. Proc Natl Acad Sci USA 101:4960-4965, 2004.

2) Katano H, Ali MA, Patera AC, Catalfamo M, Jaffe ES, Kimura H, Dale JK, Straus SE, Cohen JI: Chronic active Epstein-Barr virus infection associated with mutations in perforin that impair its maturation. Blood 103:1244-1252, 2004.

3) Song J, Yoshida A, Yamamoto Y, Katano H, Hagihara K, Oka S, Kimura S, Yoshizaki K: Viral Load of Human Herpesvirus 8 (HHV-8) in the Circulatory Blood Cells Correlates with Clinical Progression in a Patient with HHV-8-associated Solid Lymphoma with AIDS-associated Kaposi's Sarcoma. Leuk Lymphoma 45:2343-2347, 2004.

4) Tanaka M, Kodaira H, Nishiyama Y, Sata T, and Kawaguchi Y: Construction of recombinant herpes simplex virus type I expressing green fluorescent protein without loss of any viral genes. Microbes and Infection 6:485-493, 2004.

5) Liang Li, Tanaka M, Kawaguchi Y, Baines JD: Cell lines that support replication of a novel herpes simplex virus 1 UL31 deletion mutant can properly target UL34 protein to the nuclear rim in the absence of UL31. Virology 329: 68-76, 2004.

6) Yokomaku Y, Miura H, Tomiyama H, Kawana-Tachikawa A, Takiguchi M, Kojima A, Nagai Y, Iwamoto A, Matsuda Z, Ariyoshi K: Impaired processing and presentation of cytotoxic T-lymphocyte (CTL) epitopes are major escape mechanisms from CTL immune pressure in human immunodeficiency virus type 1 infection. J Virol 78: 1324-1332, 2004.

7) Harada T, Tatsumi M, Takahashi H, Sata T, Kurata T, Kojima A: Specific reactions between purified HIV-1 particles and CD4+ cell membrane fragments in a cell-free system of virus fusion or entry. Microbes Infect 6: 421-428, 2004.

8) Mutoh E, Ishikawa T, Takamizawa A, Kurata T, Sata T, Kojima A: Japanese encephalitis subunit vaccine composed of virus-like envelope antigen particles purified from serum-free medium of a high-producer J12#26 cell clone. Vaccine 22: 2599-2608, 2004.

9) Ueno T, Tokunaga K, Sawa H, Maeda M, Chiba J, Kojima A, Hasegawa H, Shoya Y, Sata T, Kurata T, Takahashi H: Nucleolin and the packaging signal, ψpromote the budding of human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1). Microbiol Immunol 48: 111-118, 2004.

10) Takahashi H, Sawa H, Hasegawa H, Nagashima K, Sata T, Kurata T: Topoisomerase I dissociates human Immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1) reverse transcriptase from genomic RNAs. Biochem Biophys Res Commun 313: 1073-1078, 2004.

11) Hasegawa H, Katano H, Tanno M, Masuo S, Ae T, Sato Y, Takahashi H, Iwasaki T, Kurata T, Sata T. BCL-6-positive Human Herpesvirus 8-associated Solid Lymphoma Arising from Liver and Spleen as Multiple Nodular Lesions. Leuk Lymphoma 45:2169-2172, 2004.

12) Nagata N, Iwasaki T, Ami Y, Tano Y, Harashima A, Suzaki Y, Sato Y, Hasegawa H, Sata T, Miyamura T, Shimizu H: Differential localization of neurons susceptible to enterovirus 71 and poliovirus type 1 in the central nervous system of cynomolgus monkeys after intravenous inoculation. J Gen Virol. 85: 2981-2989, 2004.

13) Nagata N, Iwasaki T, Ami Y, Sato Y, Hatano I, Harashima A, Suzaki Y, Yoshii T, Hashikawa T, Sata T, Horiuchi Y, Koike S, Kurata T, Nomoto A: A poliomyelitis model through mucosal infection in transgenic mice bearing human poliovirus receptor, TgPVR21. Virology 321: 87-100, 2004.

14) Zheng YH, Irwin D, Kurosu T, Tokunaga K, Sata T, Peterlin BM: Human APOBEC3F is another host factor that blocks human immunodeficiency virus type 1 replication. J Virol 78: 6073-6076, 2004.

15) Lu Richard, Nakajima N, Hofmann W, Benkirane M, The-Jeang K, Sodroski J, Engelman A: Simian virus 40-based replication of catalytically inactive human immunodeficiency virus type I integrase mutants in nonpermissive T cells and monocyte-derived macrophages. J Virol 78: 658-668, 2004.

16) Chon PY, Chui P, Ling AE, Franks TJ, TaiDY, Leo YS, Kaw GJ, Wansaicheong G, Chan KP, Ean Oon LL, Teo ES, Tan KB, Nakajima N, Sata T, Travis WD: Analysis of deathes during the severe acute respiratory syndrome (SARS) epidemic in Singapore: challenges in determining a SARS diagnosis. Ach Pathol Lab Med 128: 195-204, 2004.

17) Wada K, Nakajima A, Takahashi H, Yoneda M, Fujisawa N, Ohsawa E, Kadowaki T, Kubota N, Terauchi Y, Matsuhashi N, Saubermann LJ, Nakajima N, Blumberg RS: Protective effect of endogenous PPARgamma against acute gastric mucosal leisions associated with ischemia-reperfusion. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 287: G452-458, 2004.

18) Yoneda M, Wada K, Katayama K, Nakajima N, Iwasaki T, Osawa E, Mukasa K, Yamada Y, Blumberg RS, Sekihara H, Nakajima A: A novel therapy for acute hepatitis utilizing dehydroepiandrosterone in the murine model of hepatitis. Biochem Parmacol 68: 2283-2289, 2004.

19) Yoshikawa T, Matsuo K, Matsuo K, Suzuki Y, Nomoto A, Tamura S, Kurata T, Sata T: Total viral genome copies and virus-Ig complexes after infection with influenza virus in the nasal secretions of immunized mice. J Gen Virol 85: 2339-2346, 2004.

20) Asahi-Ozaki Y, Yoshikawa T, Iwakura Y, Suzuki Y, Tamura S, Kurata T, Sata T: Secretory IgA antibodies provide cross-protection against infection with different strains of influenza B virus. J Med Virol 74: 328-335, 2004.

21) Iwasaki T, Inoue S, Tanaka K, Sato Y, Morikawa S, Hayasaka D, Moriyama M, Ono T, Kanai S, Yamada A, Kurata T: Characterization of Oita virus 296/1972 of Rhabdoviridae isolated from a horseshoe bat bearing characteristics of both lyssavirus and vesiculovirus. Arch Virol 149: 1139-1154, 2004.

22) Abe K, Hayakawa E, Sminov AV, Rossina AL, Ding X, Huy TT, Sata T, Uchaikin VF: Molecular epidemiology of hepatitis B, C, D and E viruses among children in Moscow, Russia. J Clin Virol 30: 57-61, 2004.

23) Huy TT, Ushijima H, Quang VX, Win KM, Luengrojanakul P, Kikuchi K, Sata T, Abe K: Genotype C of hepatitis B virus can be classified into at least two subgroups. J Gen Virol 85: 283-292, 2004.

24) Huy TT, Abe K: Review: Molecular epidemiology of hepatitis B and C virus infections in Asia. Pediatric Int 46: 223-230, 2004.

25) Huy TT, Ushijima H, Quang VX, Ngoc TT, Hayashi S, Sata T, Abe K: Characteristics of core promoter and precore stop codon mutants of hepatitis B virus in Vietnam. J Med Virol 74: 228-236, 2004.

26) Izu K, Yamamoto O, Yasumoto S, Hashimoto T, Sata T, Tokura Y.:Herpes zoster occurring as a solitary nodule on the index finger. Br J Dermatol.150:365-366, 2004.

27) Sugiura S, Goshima F, Takakuwa H, Sata T, Nakashima T, Nishiyama Y.: Treatment of solid sarcomas in immunocompetent mice with novel, oncolytic herpes simplex viruses. Otolaryngol Head Neck Surg. 130: 470-478, 2004.

28) Lun WH, Takeda A, Nakamura H,Kano M, Mori K, Sata T, Nagai Y, Matano T.: Loss of virus-specific CD4+ T cells with increases in viral loads in the chronic phase after vaccine-based partial control of primary simian immunodeficiency virus replication in macaques. J Gen Virol 85, 1955–1963, 2004.

29) Dewan MZ, Watanabe M, Terashima K, Aoki M, Sata T, Honda M, Ito M, Yamaoka S, Watanabe T, Horie R, Yamamoto N.: Prompt tumor formation and maintenance of constitutive NF-kappaB activity of multiple myeloma cells in NOD/SCID/gamma c(null) mice. Cancer Sci. 95:564-8, 2004.

30) Hara H, Honda A, Suzuki H, Sata T, Matsukura T.: Detection of human papillomavirus type 58 in polydactylous Bowen's disease on the fingers and toes of a woman - concurrent occurrence of invasive vulval and cervical carcinomas. Dermatology 209:218-22, 2004.

31) Jongwutiwes S, Putaporntip C, Iwasaki T, Sata T, Kanbara H.: Naturally acquired Plasmodium knowlesi malaria in human, Thailand. Emerg Infect Dis. 10: 2211-3, 2004.

2．和文発表

1) 高橋秀宗、佐多徹太郎：Gerstmann-Sträussler-Scheinker 症候群と亜型．日本臨床 62: Suppl 1, 266-270, 2004.

2) 中島典子、佐多徹太郎：SARS の肺病変．医学のあゆみ 209: 978-979, 2004.

3) 中島典子、佐藤由子、佐多徹太郎：HIV．病理診断における分子生物学、病理と臨床. 臨時増刊 22: 305-311, 2004.

4) 片野晴隆、佐藤由子、佐多徹太郎：ヒトヘルペスウイルス８ human herpesvirus 8 (HHV-8)。からだの科学。131-135, 2004.

5) 熊坂利夫、中島典子、佐多徹太郎：SARS の病理。侵襲と免疫．13: 11-16, 2004

6) 阿部賢治、Huy TT Tran：肝炎ウイルス（下）－最新の研究動向－PCR 法による HBV 遺伝子型分類とゲノタイプの地理分布．日本臨床 62: 8; 153-159, 2004.

7) 川口 寧、田中道子：BAC システム、大腸菌遺伝学とウイルス学が融合した新しいヘルペスウイルスの遺伝子改変法．ウイルス 54(2): 255-264, 2004.

8) 佐多徹太郎：院内感染が問題となる人獣共通感染症―エボラ出血熱とサーズ(SARS)―。薬の知識。55: 81-84, 2004.

9) 佐多徹太郎：牛海綿状脳症とその感染発病メカニズム。食品衛生研究 54:17-22, 2004.

10) 角田孝彦、小泉裕子、原田 晋、佐多徹太郎：帯状疱疹後の多形滲出性紅斑の２例。臨床皮膚科。58: 460-462, 2004.

11) 柏瀬光寿、山内康行、佐多徹太郎、永田洋一、薄井紀夫、望月 学、藤野雄次郎、岩崎琢也、佐藤由子、倉田 毅、臼井正彦：サイトメガロウイルス網膜炎の病理組織学的検討。日本眼科学会雑誌 108: 415-422, 2004.

12) 山中新也、小田真喜子、清島真理子、小杉浩史、尾崎泰子、佐多徹太郎：Kaposi 肉腫。皮膚科診療 26:1391-1394,2004.

13) 佐多徹太郎：エボラ出血熱。感染症の診断・治療ガイドライン 2004。日本医師会編、 pp60-61, 2004.

14) 佐多徹太郎：ラッサ熱。感染症の診断・治療ガイドライン 2004。日本医師会編、 pp80-81, 2004.

Ⅱ．学会発表

1. 国際学会

1) Katano H, Pesnicak L, Cohen JI: Simvastatin induces apoptosis of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed lymphoblastoid cell lines and delays development of EBV lymphomas. 29th International Herpesvirus Workshop, Reno, Nevada, USA, July, 2004.

2) Kinomoto M, Yokoyama M, Sato H, Kurata T, Ikuta K, Sata T, and Tokunaga K: Amino acid 36 in HIV-1 gp41 ectodomain controls fusogenic activity: Implications for the molecular mechanism of viral escape from a fusion inhibitor. 1st Dominique Dormont International Conference on "Host pathogen interactions in chronic infections" - Viral and host determinants of HCV, HCMV, HIV infections. Paris, France, December 2004.

3) Tokunaga K, Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JAM, Yokoyama M, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, and Sata T: Low-level susceptibility to protease inhibitors in drug-naive Ghanaian HIV-1 proteases classifiable as subtype CRF02A/G. The 40th Anniversary of U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, The 17th Joint Meeting of the AIDS Panels, Kyoto, December, 2004.

4) Abe K: Molecular epidemiology of hepatitis B and C viruses in Asia. National Meeting of Vietnamese Association for the Study of Liver Diseases, Ho Chi Minh City, Vietnam, September 2004.

2. 国内学会等

1) 片野晴隆、伊藤金次、渋谷和俊、佐地 勉、佐藤由子、佐多徹太郎：原発性肺高血圧症とヒトヘルペスウイルス８感染．第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.

2) 酒田昭彦、遠藤泰彦、佐多徹太郎、片野晴隆：消化管カポジ肉腫から HIV 感染症および HHV-8 感染症が発見された一例. 第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.

3) 菅野隆行、秋山ひと美、佐藤由子、樋口好美、佐多徹太郎、片野晴隆：ヒトヘルペスウイルス８(HHV-8)がコードする Interferon regulatory factor(IRF)のホモログ K10, K11 の発現様式とその意義. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

4) 上野智規、後藤希代子、片野晴隆、倉田 毅、佐多徹太郎、入江伸吉：GFP-PML 発現細胞株を用いた HCMV 感染細胞の新規検出法. 第 19 回ヘルペスウイルス研究会（愛知）2004.6.

5) 上野智規、後藤希代子、片野晴隆、倉田 毅、佐多

徹太郎、入江伸吉：GFP-PML 発現細胞株を用いた HCMV 感染細胞の新規検出法、臨床分離株の薬剤感受性試験への応用. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

6) 後藤希代子、上野智規、片野晴隆、佐多徹太郎、入江伸吉：ヒトサイトメガロウイルス感染初期過程における小胞体膜 p180 蛋白質ノックダウンによる感染効率の低下. 第 19 回ヘルペスウイルス研究会（愛知）2004.6.

7) 後藤希代子、上野智規、倉田　毅、入江伸吉、佐多徹太郎：ヒトサイトメガロウイルス感染細胞の細胞骨格変化に関わる p180 蛋白質の微小管束形成作用.　第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

8) 森川　茂、長谷川秀樹、西条政幸、前田秋彦、倉根一郎、尾崎泰子、佐多徹太郎、倉田　毅、小島朝人：ワクチニアウイルス LC16m8 株の有効性と遺伝子構造の解析. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.

9) 高橋秀宗、飛梅　実、樋口好美、長谷川秀樹、佐多徹太郎：免疫染色において特異な反応を示したクロイツフェルト・ヤコブ病を疑わせる症例. 第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.

10) 高橋秀宗、前田才恵、佐多徹太郎：活性化細胞における mRNA 分解促進を利用した HIV-1 の免疫回避機構. 第 52 回 日本ウイルス学会学術集会（横浜） 2004.11.

11) 前田才恵、高橋秀宗、佐多徹太郎：Tristetraprolin (TTP)の Rev/RRE/Crm1 系拮抗による HIV-1 産生の抑制. 第 27 回 日本分子生物学会総会（神戸）　2004.12.

12) 飛梅　実、樋口好美、高橋秀宗、佐多徹太郎：Nef による HIV-1 感染性増強能と膜融合部位の関係についての解析. 第 52 回日本ウイルス学会総会(横浜)2004.11.

13) 野口もえ子、吉田光宏、古川　裕、岩佐和夫、浜口毅、沖野惣一、柳瀬大亮、石田千穂、飛梅　実、山田正仁：弧発性 Creutzfeld-Jacob 病に対するペントサンポリ硫酸治療. 第 23 回日本痴呆学会（東京）2004.9.

14) 高橋秀宗、飛梅　実、長谷川秀樹、中川智子、澤　洋文、佐多徹太郎：免疫染色およびウエスタンブロットにおいて特異的な反応を示したクロイツトフェルトヤコブ病を疑わせる症例. 第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.

15) 飛梅　実、高橋秀宗、倉田　毅、佐多徹太郎：長期未発症者における HIV-1 Nef の機能. 長崎大学熱帯医学研究所平成 16 年度研究集会（長崎）2004.2.

16) 長谷川秀樹、佐多徹太郎：SARS の病理と病態. 第 93 回日本病理学会（札幌）2004.6.

17) 一戸猛志、渡邉　泉、伊藤智史、千葉　丈、森山雅美、田村慎一、倉田　毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：合成二重鎖 RNA Poly(I:C)をアジュバントとして用いた経鼻インフルエンザワクチンの開発. 第 8 回日本ワクチン学会（札幌）2004.1.

18) 長谷川秀樹、一戸猛志、渡邉　泉、伊藤智史、千葉丈、田村慎一、倉田　毅、佐多徹太郎：天然物由来微粒子の粘膜ワクチンアジュバント効果の検討. 第 8 回日本ワクチン学会（札幌）2004.1.

19) 一戸猛志、渡邉　泉、伊藤智史、森山雅美、田村慎一、千葉　丈、倉田　毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：合成二重鎖 RNA Poly(I:C)をアジュバントに用いた経鼻インフルエンザワクチンの開発. 第 52 回日本ウイルス学会（横浜）2004.11.

20) 永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條正幸、森川　茂、佐藤由子、佐多徹太郎：マウスとラットを用いた SARS-CoV 感染モデルの作製. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

21) 石井孝司、横田恭子、竹森利忠、長谷川秀樹、水谷哲也、森川　茂、田口文広、田代真人、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、宮村達男：高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の SARS 生ワクチンとしての応用. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

22) 長谷川秀樹、澤　洋文、一戸猛志、大場靖子、片野晴隆、佐多徹太郎、倉田　毅、長嶋和郎、William W Hall：成人 T 細胞白血病（ATL）発症モデルマウスの作成. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

23) 有田峰太郎、清水博之、永田典代、網　康志、須崎百合子、佐多徹太郎、岩崎琢也、宮村達男：エンテロウイルス 71 温度感受性変異株の神経毒性に関する解析。第 52 回日本ウイルス学会、横浜、11 月

24) 西條政幸、網　康至、永田典代、須崎百合子、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲哉、長谷川秀樹、岩田奈緒子、佐多徹太郎、倉根一郎、倉田　毅、森川　茂：LC16m8 株痘そうワクチンによるカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

25) Tokunaga K, Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JAM, Yokoyama M, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, and Sata T: Low-level susceptibility to protease inhibitors in drug-naive Ghanaian HIV-1 proteases classifiable as subtype CRF02A/G. 第 5 回熊本エイズセミナー（熊本）2004.9.

26) Kinomoto M, Yokoyama M, Sato H, Kurata T, Ikuta K, Sata T, and Tokunaga K: Mutation of amino acid 36 in HIV-1 gp41 ectodomain drastically alters fusogenic activity: Implications for the molecular dynamism of six-helical bundle formation.第 5 回熊本エイズセミナー（熊本）2004.9.

27) 徳永研三：HIV-１西アフリカ分離株のサブタイプおよび薬剤感受性の検索．長崎大熱帯医学研究所研究集会・HIV の分子病態と治療戦略の新展開（長崎）2004.2.

28) 徳永研三、木ノ本正信、横山　勝、佐藤裕徳、倉田毅、佐多徹太郎：サブタイプ A/G 組換え型 HIV-1 ガーナ分離株のプロテアーゼ阻害剤に対する低感受性. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

29) 木ノ本正信、横山　勝、佐藤裕徳、生田和良、倉田毅、佐多徹太郎、徳永研三：高融合活性を規定する Env 領域のアミノ酸の同定および機能・構造解析．第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

30) 木ノ本正信、徳永研三、坂本優子、生田和良、倉田毅、佐多徹太郎、巽　正志：Ghana 由来 HIV-1 感染性分子クローンの樹立と解析．第 52 回日本ウイルス学会総会（横浜）2004.11.

31) 横山　勝、木ノ本正信、徳永研三、佐多徹太郎、長縄　聡、北村勝彦、蜂谷敦子、岡　慎一、服部知秀、田中真理、横幕能行、有吉紅也、星野忠次、仲宗根正、佐藤裕徳：計算科学の HIV-1 研究への適用に関する基礎研究．第 18 回日本エイズ学会総会（静岡）2004.12.

32) 木ノ本正信、徳永研三、坂本優子、生田和良、倉田毅、佐多徹太郎、巽　正志：HIV Trapping System による Ghana で流行する HIV-1 感染性分子クローンの樹立. 第 18 回日本エイズ学会総会（静岡）2004.12.

33) 志村まり、古西満、佐藤裕子、徳永研三、木村圭志、花岡文雄、石坂幸人：HIV-1 VPR によるヒストン H3-K9 の恒常的アセチル化と早期娘染色体分離. 第 27 回日本分子生物学会（神戸）2004.12.

34) 徳永研三、木ノ本正信、横山　勝、佐藤裕徳、倉田毅、佐多徹太郎：西アフリカ未治療患者由来 HIV-1 株のプロテアーゼ阻害剤に対する低感受性．第 27 回日本分子生物学会（神戸）2004.12.

35) 中島典子、永田典代、長谷川秀樹、熊坂利夫、佐多徹太郎：SARS 剖検肺組織標本における SARS コロナウイルス感染細胞の同定．第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.

36) 中島典子、岩田奈織子、佐多徹太郎：サル神経幹細胞培養系におけるサル免疫不全ウイルス（SIV）の感染動態の解析．第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

37) 尾崎泰子、吉河智城、岩倉洋一郎、鈴木雄次郎、田村慎一、倉田　毅、佐多徹太郎：系統の異なる B 型インフルエンザウイルスの交叉防御における分泌型 IgA 抗体の役割．第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

38) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎：SARS コロナウイルス感染動物モデルの作製. 第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.

39) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川　茂、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎：マウス、ラットを用いた SARS-CoV 感染モデルの作製. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

40) 岩田奈織子、中島典子、高橋秀宗、佐多徹太郎：サル神経幹細胞を用いた脳・神経固有細胞における SIV 感染動態の解析．第 93 回日本病理学会（札幌）2004.6.

41) 岩田奈織子、中島典子、佐多徹太郎：中枢神経系への感染性に関与するサル免疫不全ウイルス（SIV）の env 塩基配列の解析．第 52 回日本ウイルス学会総会（横浜）2004.11.

42) 飯島沙幸、石井孝司、李　永仲、岩田奈織子、八木慎太郎、山口健次郎、槇　昇、吉崎佐矢香、町田早苗、木村展之、鈴木哲朗、佐多徹太郎、宮村達男、明里宏文：C 型肝炎のサル病態モデルの開発．第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

43) Tran T-T Huy, Ushijima H, Kikuchi K, Sata T, Abe K: Genotype C of HBV can be classified into at least two subgroups. 第 40 回日本肝臓学会総会（千葉）2004.6.

44) Tran T-T Huy, Ushijima H, Miyoshi C, Sata T, Abe K: Genomic characterization of HBV isolated in Bolivia: proof of clusters of genotypes F in South America. 第 40 回日本肝臓学会総会（千葉）2004.6.

45) Tran T-T Huy, Ushijima H, Sata T, Abe K: HBV pre-S mutant and its relationship with genotypes and chronicity. 第93回日本病理学会総会(札幌）2004.6.

46) 早川依里子、丁 欣、Huy T-T Tran、佐藤由子、佐多徹太郎、斉藤 澄、阿部賢治：麻疹母児感染を呈した症例の胎盤と中枢神経組織からの麻疹ウイルス分離とゲノムの特徴. 第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.

47) 伊藤玲子、寺澤総介、丁 欣、阿部賢治：小児期の E 型肝炎ウイルス抗体の保有状況と臨床的特徴. 第 107 回日本小児科学会（岡山）2004.4.

48) 大隈義道、関野佳久、入江 弘、阿部賢治：帯状疱疹ウイルスが肝細胞死に関与した劇症肝炎の 1 剖検例. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

49) 田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口 寧：大腸菌内組み換え技術を駆使したウイルスプロテインキナーゼ UL13 変異 HSV-1 の作製. 第 19 回ヘルペスウイルス研究会（愛知）2004.6.

50) 山本真悠子、田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口 寧：HSV-1 プロテインキナーゼ Us3 の動態解析を目指した組み換えウイルスの作製. 第 19 回ヘルペスウイルス研究会（愛知）2004.6.

51) 野沢直樹､川口 寧､田中道子､加藤 藍､木村 宏､西山幸廣：HSV-1 UL51 遺伝子産物は一次エンベロープ獲得後のウイルス粒子成熟過程に働く. 第 19 回ヘルペスウイルス研究会（愛知）2004.6.

52) 田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口 寧：単純ヘルペスウイルス 1 型 UL13 のプロテインキナーゼとしての役割. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

53) 野沢直樹､川口 寧､田中道子､加藤 藍､木村 宏､西山幸廣：HSV-1 UL51 遺伝子産物のウイルス粒子成熟過程における役割. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

54) 山本真悠子、田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口 寧：生細胞における単純ヘルペスウイルス 1 型プロテインキナーゼ Us3 の動態解析. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.

55) 川口 寧、田中道子：BAC システム、ヘルペスウイルスの医学的利用を加速しうる新しいウイルスゲノム改変法. 第 27 回日本分子生物学会（神戸）2004.12.

56) 佐多徹太郎：新興・再興感染症と血液安全性確保。日本赤十字血液シンポジウム。盛岡、東京、名古屋、広島。2004.2.

57) 佐多徹太郎：プリオン病の病理。旭中央病院第 92 回 CPC。2004.3.

58) 木村陽一、三石 剛、菊地伊豆実、川名誠司、倉根修二、佐多徹太郎：AIDS-カポジ肉腫の 2 例。第 103 回日本皮膚科学会総会。京都。2004.3.

59) 佐多徹太郎:新興･再興感染症。金沢輸血懇話会（石川県血液センター)。金沢。2004.5.

60) 佐多徹太郎:新興･再興感染症ー SARS を中心にー。WHO 健康フォーラム 2004。神戸。2004.5.

61) 金井朋子、土屋耕太郎、山河芳夫、佐多徹太郎、小野寺節、上田 進：牛プリオンタンパク質に対する新規抗体の作製と有用性の検討。第 138 回日本獣医学会。札幌。2004.9.

62) 河野慎一、駱 ゆう虹、五島 典、小野佳成、佐多徹太郎、西山幸弘：弱毒化 HSV-1 HF-10 を用いた膀胱癌に対する Oncolytic virotherapy。第 52 回日本ウイルス学会、横浜、2004.11.

63) 土屋耕太郎、山河芳夫、佐多徹太郎、小野寺 節、上田 進：牛プリオンタンパク質に対する新規抗体の作成と性状の解析。第 52 回日本ウイルス学会、横浜、2004.11.

64) 村上恭子、石井孝司、吉崎佐弥香、相崎英樹、田中恵子、勝二郁夫、佐多徹太郎、鈴木哲朗、宮村達男：三次元肝細胞培養システムによる C 型肝炎ウイルス(HCV)粒子形成。第 52 回日本ウイルス学会、横浜、2004.11.

8.免疫部

部長　竹森利忠

概　要

免疫部は業務としてA型肝炎体外診断薬依頼検査を受け持ち、また我が国での体外診断薬検査キットの品質確保のための標準品の整備に協力している。

主要研究として第一に結核免疫を明らかにし、新規ワクチン、簡便な診断法を開発すること、第二にインフルエンザウイルス，HIV，SARS-COV 等のウィルス感染防御機構を現代の免疫学の観点から明確にするとともにワクチン開発の基盤研究を行っている。更にワクチンの安全性と有効性に関わる評価技術を開発整備すること、ワクチン活性を司る免疫機能、特に免疫記憶の機構を明らかにすることを目標としている。

また免疫部は、病原体を専門とする部の研究に必要に応じ免疫学専門家集団として協力するとともに、感染研が緊急に対応する必要性のある業務あるいは研究に参加している。このような問題の解決には免疫学の複合的な領域が絡むことから、個々のケースで適切な専門家によるチームを構成し迅速な解決をはかっている。

平成 16 年度免疫部で行われた研究業務の項目と主要成果を以下に述べる。

Ⅰ．検定・検査に関する免疫学的研究

(1) 体外診断薬標準風疹パネル血清整備のためのシステム整備に協力した。

(2) インフルエンザワクチンの検定で用いられる白血球数減少試験の免疫学的な検証を行い、白血球数減少がワクチン接種後の IFNα産生に依存する可能性を明らかにした。

II．ワクチンに関する免疫学的研究

(1) SARS コロナウィルス(SARS-COV)に対するワクチン開発の基礎研究を行い、UV 照射不活化全粒子ワクチンが強い免疫活性を示すことを明らかにした。

(2)新規結核ワクチン開発を目的とし、遺伝子欠損結核菌及び遺伝子組換 BCG を作成し、これらの株がワクチン株として強い効果を示すことを明らかにした。

III．免疫学的診断法に関する研究

(1) SARS コロナウィルス感染の血清学的診断系を確立するために UV 照射ウィルスに対するモノクローナル抗体を作製し検査システムを確立整備した。

(2) 結核菌感染の診断に関してツベルクリン反応に代わる迅速で特異的な細胞免疫診断法の開発を行った。

IV．感染免疫防御に関する研究

(1) HIV 感染 CD4 T 細胞はその機能をヘルパー活性から抑制活性に変換する可能性が示唆された。

(2) マクロファージ亜群に結核菌の細菌作用が異なる可能性を明らかにした。

V．免疫機能に関する研究

免疫記憶維持と二次免疫応答に必要となる因子が同定された。また脊髄筋萎縮症(SMA)に伴う重篤な免疫不全が運動神経細胞生存遺伝子欠損による免疫不全が原因となる可能性を明らかにした。

VI．免疫細胞機能発現に関する研究

(1) 骨髄前 B 細胞抗原受容体の構造学的な解析を行い活性に関する機序を推定した。

(2) 染色体転座部位に結合する Translin 遺伝子の機能解析を行いこの分子が末梢リンパ球前駆細胞の分裂増殖に関与する可能性を明らかにした。

VII．共同大型利用機器管理

細胞自動解析装置の使用

人事では平成 16 年 4 月、阿戸学博士が英国ロンドン大学より研究員として採用された。平成 16 年 10 月、高須賀直美研究員が退職、平成 17 年 3 月、藤猪英樹研究員が

慶応大学医学部へ転任した。

業 績

調査・研究

I. 検定・検査に関する免疫学的研究

1. 体外診断薬標準パネル血清整備に関する研究

体外診断用医薬品については血液型判定用抗体基準収載品、輸血に関するもの（HBV、HCV、HDV、HIV、HTLV)、公衆衛生上特に重要なもの（HAV、風疹ウィルス、クラミジア・トラコマティス）及び行政当局が必要と認めるものに関して感染研承認前検査を行っている。これらの体外診断薬キットの品質管理には国内で作製された標準品、標準パネル血清が必要であり整備が望まれているが実現はない。

そこで､①恒常的な多量の正常及び感染者血清の収集、②多数の収集血清のウィルス量、抗体価等の測定③データーシートの作製、④管理保存、⑤的確な分与システムを整備することを目的に研究を行った。風疹抗体測定に関与するパネル血清整備に対応して大学、医療機関と協力し血清収集のネットワークと感染研への送付のシステムを確立し、②と③に関して免疫部内に協力体制を整えた。

（竹森利忠、海野幸子(ウィルス第三部）、田代真人(ウィルス第三部)、庵原俊昭(国立病院機構三重病院)、岡田賢司(国立病院機構福岡病院））

2.インフルエンザワクチン検定の白血球減少試験の免疫学的検証

インフルエンザワクチン検定の白血球減少試験における白血球減少活性の免疫学的意義を解析するため、ワクチン投与後のマウス各臓器白血球数と血中サイトカイン濃度を測定した。その結果、全粒子ワクチン投与後の末梢血中白血球減少は、T 細胞、B 細胞、顆粒球分画で検出された｡同力価の HA ワクチンと全粒子ワクチンの投与比較においては、全粒子ワクチン群のみに、白血球減少と血中インターフェロンアルファ(IFNα)濃度の著しい上昇を認めた。以上より、ワクチンによる白血球減少は、全粒子ワクチンの成分が IFNα産生を誘導した結果起こることが示唆された。

（阿戸学、藤猪英樹、高橋宜聖、橋本修一、加地友弘、山本紀一(協力研究員)、板村繁之、田代眞人（ウイルス第三部)、堀内善信、荒川宜親（細菌第二部)、竹森利忠）

II. ワクチンに関する免疫学的研究

1.不活化 SARS ウィルス全粒子ワクチンの基礎研究

(1)UV 不活化 SARS-CoV のワクチン効果に関する研究

マウスに UV 照射により不活化した SARS-CoV (UV-SARS-CoV)をアラム混合あるいは単独で皮下接種し、そのワクチン効果について解析した。UV-SARS-CoV のみでも血清中に中和活性のある IgG 抗体産生が誘導されたが、粘膜 IgA 抗体産生は誘導されなかったが、UV-SARS-CoV で誘導された IgG 抗体は長期に持続し、骨髄中に Nucleocapsid (N)のペプチドを認識する記憶抗体産生細胞が検出された。また、アラム添加群の所属リンパ節では、in vitro のウイルス粒子抗原刺激に反応してＴ細胞増殖やサイトカイン産生が誘導された。

（高須賀直美、横田恭子、藤猪英樹、高橋宜聖、橋本修一、大島正道、竹森利忠）

(2) SARS-CoV 免疫効果のアッセイ系の確立

マウスでのワクチン効果を解析するため、SARS-CoV の Nucleocapsid(N)蛋白としてＮ末約 110 アミノ酸(N1)、N 末半分(N2)､C 末半分 (N3)の 3 種類を大腸菌で発現させ、その精製方法を確立した。我々の作成した単クローン抗 N 抗体はどれもアミノ末端から前半半分(N2)の中央よりにエピトープがあることが明らかとなった。また、Ｔ細胞反応を解析するために、恒常的に S あるいは N を発現するマウスＢ細胞株を樹立した。これらの S, N 蛋白の発現は、我々の作成したモノクローナル抗体を用いて FACS で確認した。

（横田恭子、田口裕一（東京医薬専門学校・実習生)、石井孝司（ウイルス２部)、森川茂（ウイルス１部））

2.新規結核ワクチン開発に関する基礎研究

(1) リコンビナント BCG を用いた新規抗結核ワクチンの開発

BCG のワクチン効果に疑問が持たれていることから、BCG 株を遺伝子工学的手法で強力な抗結核菌ワクチンを作成することを目指している。BCG パスツール株を用いて、結核菌由来の Mpt64 抗原とモルモットインターフェ

ロンーガンマーの両者を発現するリコンビナント BCG が、モルモットー結核感染系において、BCG 株より強い抗結核防御効果があった。次に、Mpt64 抗原とモルモットインターフェロンーガンマーの両者を発現する BCG 東京株、BCG コナート株を作成し、モルモットー結核感染系で、抗結核ワクチンを調べた結果、いずれも BCG 東京株より強い抗結核防御効果を示した。

（谷山忠義、橋本直樹（研究生、早稲田大学)、橋本和治（研究生、早稲田大学)、菅原勇（協力研究員、結核研究所)、宇田川忠（協力研究員、結核研究所))

3．ワクチンに関する基礎的研究

(1) 弱毒サルモネラ菌経口投与による HIV-Gag 蛋白に対する粘膜免疫応答

HIV-gag p24 遺伝子のコドンをサルモネラ菌に最適化した遺伝子を合成して Gag-EGFP 発現弱毒サルモネラ菌を作成した。このワクチンをマウスに経口投与すると、血中及び腸管に抗 Gag IgA 抗体産生を誘導したが、サルモネラ菌経口投与のみでは腸間リンパ組織や腸管上皮リンパ球の CTL 活性誘導は弱かった。Gag 蛋白とコレラトキシンによる経鼻免疫のプライムを行うと、鼻リンパ組織においてGagに対するCTL活性が増強するのみならず、経鼻免疫では誘導できなかった腸間リンパ組織での CTL 活性が誘導された。従って弱毒サルモネラ菌経口投与は腸管組織への追加免疫として有用であると考えられた。

(横田恭子、石毛真行（協力研究員、天藤製薬株式会社)、村上正裕（客員研究員、天藤製薬株式会社)、竹森利忠)

4．ワクチンデリバリー開発に関する研究

(1) 腸管内ワクチンデリバリー効果の評価

感染症における病原体侵入の最も主要な部位の一つである腸管は、IgA 抗体を中心とした免疫系が最も良く発達した器官である。この腸管免疫システムをターゲットとした経口ワクチンのデリバリーシステム（DDS）を開発する目的で、工業的に製造可能な腸溶性 DDS を設計・製造し、性能試験を行っている。DDS の製造過程におけるゲスト分子充填法を改善し、腸管免疫アジュバントであるコレラトキシンを添加した標品も作製できた。これにより、腸管粘膜における抗原特異的-IgA 産生の誘導が確認された。今後、アジュバントの選択、細胞膜通過性アミノ酸配列群を用いた 2 次ターゲッティング機能の付与、ゲスト分子の選択等を通してさらに改善して行く。

(大西和夫、村上正裕(天藤製薬株式会社創薬センター)、山口沙由理（非常勤職員)、竹森利忠)

III．免疫学的診断法に関する研究

1．SARS コロナウィルスに対するモノクローナル抗体の確立とウィルス抗原検出法への応用

(1) モノクローナル抗体を用いた SARS コロナウイルス抗原捕捉 ELISA システムの開発と改良

重症急性呼吸器症候群（SARS）の迅速診断法を開発する目的で、SARS コロナウイルス構造タンパク質に対するモノクローナル抗体を作製し、それを用いたウイルス抗原捕捉 ELISA システムの開発・改良を行っている。UV 不活化 SARS ウィルス全粒子を抗原として樹立した複数のモノクローナル抗体を組み合わせて最適化したサンドイッチ ELISA により、数十ピコグラムの SARS ウィルス蛋白質を迅速に検出できる高感度の抗原捕足検出システムを構築している。このシステムは異なる SARS コロナウイルス株を同等の感度で検出する一方 SARS 以外のヒト・コロナウイルス（229E, OC43）やブタ伝染性胃腸炎ウイルス（TGEV）とは全く交差反応がない。

(大西和夫、阪口雅弘、横田恭子、高須賀直美、磯貝摩耶、高木弘隆（バイオセーフティー管理室)、竹森利忠)

2.新規結核診断法の開発

新規結核補助診断法確立のため、抗酸菌遺伝子 Ag85a を組み込んだアデノウイルスベクターをヒト抗原提示細胞に感染させ、抗酸菌遺伝子産物に対する T 細胞免疫反応を測定する系を検討した。その結果、末梢血単核球にアデノウイルスを感染させると、既存のアデノウイルス特異的 T 細胞より、多量のインターフェロンガンマ(IFNγ)が産生された。このため、現在の形では結核診断法として用いることができないことが判明した。一方、Ag85a 組み込みアデノウイルス感染による IFNγ産生反応は、コントロールウイルス感染に比べて有意に低く、Ag85a が他の抗原特異的 T 細胞応答を抑制する可能性を示唆した。

（藤猪英樹、阿戸学、高須賀直美、竹森利忠）

IV. 感染免疫防御に関する研究

1. HIV 感染防御に関する免疫学的研究

(1) ヒト単球由来マクロファージにおけるマクロファージ指向性 HIV の増殖応答の解析(７)

マクロライド誘導体のヒト単球由来マクロファージにおける M-tropic HIV-1 の増殖応答への影響を検討した。その結果、エリスロマイシン（EM）の誘導体のいくつかに M 型 Mφにおけるウイルスの増殖及びウイルス増殖時に出現する多核巨細胞の形成を抑制するものが認められた。EM 誘導体による M-tropic HIV-1 の増殖抑制作用は、抗菌作用と相関しないこと、その抑制作用は Hck 及び C/EBPβ蛋白の発現制御に関係するシグナル伝達経路に影響する事により HIV-1 の増殖抑制を誘導していることが示唆された。

（小室巌　、砂塚敏明、大村智（北里大学北里生命科学研究所)、岩本愛吉（東大医科研・感染)、赤川清子)

(2) HIV-Nef の機能に関する研究

HIV のアクセサリー遺伝子産物である Nef の発現が抗原提示機能にどう影響するかを解析するため、Nef と Nef のミリストイル化シグナルを欠く G2A Nef 変異体を発現するアデノウイルスを作成した。Nef 発現により樹状細胞(DC)でも CD4 と MHC Class I の発現が低下するが、G2A Nef 変異体では CD4 の発現のみがわずかに低下し、Nef が細胞膜に存在することが重要であることが示唆された。また、DC の分化に伴う生存率の低下は Nef 発現により増強される傾向にあり、これには細胞の形態変化が関与していると考えられた。

（磯貝まや（協力研究員)、横田恭子）

(3) HIV-Nef 特異的な RNA interference の確立

RNA interference(RNAi)による遺伝子特異的な発現抑制効果を利用したエイズ治療法開発をめざし、Nef が 3' LTR に重複する遺伝子領域を標的とするヘアピン構造 oligoDNA を合成した。これらを恒常的 Nef 発現 HeLa-CD4 細胞に導入して Nef の mRNA 発現をリアルタイム PCR で定量し、タンパク発現をウエスタンブロット解析した結果、Nef 遺伝子の 366 番目から 19bp の領域(Nef366)が、既知の Nef164 同様標的領域として最適であった。そこで Nef366 による RNAi 効果を初期培養マクロファージで解析するため、レンチウイルスベクターによる RNAi 発現系を確立した。

（山本拓也（名市大薬学部研究生)、奥山治実（名市大薬学部)、横田恭子）

(4) 樹状細胞による T 細胞の活性化の評価系の確立

EBV 感染あるいはインフルエンザワクチンを受けたドナーの末梢血 T 細胞を樹状細胞による抗原提示を介して活性化し、抗原特異的な活性化に伴う免疫機能分子の発現変化を Multicolor Flowcytometory で解析する系を確立した。更に、樹状細胞と T 細胞の共培養系において抗原特異的な反応を幅広く解析するため、IFN-γのプロモーター活性を検出するレンチウイルスベクターを構築した。このような樹状細胞を抗原提示細胞とした in vitro の系を用い、抗原特異的な T 細胞を幅広く検出することによって、ワクチン抗原の in vitro での評価系への応用を考えている。

（横田恭子、山本拓也（名市大薬学部研究生)、川名(立川)愛（東大医科研)、岩本愛吉（東大医科研)、森川裕子（北里大･生命研）Brigitte Autran（パリ大学 Pitie Salpetriere Hospital))

(5) HIV-Nef 発現による免疫不全発症の解明

HIVNef 発現による T 細胞免疫への影響を明らかにするため、OVA 特異的 T 細胞抗原受容体トランスジェニック(TG)マウスと、コクサッキー・アデノウィルス受容体 TG マウスをかけあわせた double TG マウスより精製した CD4+T 細胞に Nef 発現アデノウィルスを感染させ、FACS を用いて Nef 発現細胞と Nef 非発現細胞に分離し、T 細胞機能を解析した。この結果、Nef 発現細胞を T 細胞抗原刺激下で培養すると、抑制性 T 細胞に特異的な転写因子である Foxp3 の発現が誘導されることが判明した。Nef の発現によって抑制性 T 細胞分化を誘導する可能性が考えられた。

（藤猪英樹、阿戸学、高橋宜聖、橋本修一、加地友弘、竹森利忠）

2. ヒトマクロファージの結核菌の増殖制御機構 IL-10 による結核菌増殖抑制活性の活性化

ヒト単球由来 GM 型 Mφは、M 型 Mφと異なり結核菌の

増殖を促すことを既に報告した。今回、GM 型 Mφにおける結核菌増殖抑制活性の活性化を IFN-γは誘導できないが、IL-10 が誘導できることを見いだした。IL-10 処理 GM 型 Mφは、殺菌活性を有する M 型 Mφ同様、p38MAPK, ERK1/2, JNK のいずれも強い活性化が認められ、NRAMP1 蛋白の発現も著明に誘導された。これらの結果は、マウス Mφでは活性化の抑制因子として知られている IL-10 が、ヒト Mφではむしろ活性化因子として作用することを示唆している。

（赤川清子、山崎利雄（細菌第一部)、芳賀伸治（細菌第一部)、岸　文雄（鹿児島大、歯、分子遺伝）

3. C 型肝炎ウィルス感染に見られる short RNA に関する研究

C型肝炎患者血液中及び肝組織内にHCV ウイルス short RNA が存在しその量比がウイルスの感染性、活動性と逆相関することを明らかにした。この short RNA 産生維持機構の解析を通してウイルス複製のメカニズムを解析し、効率よいウイルス細胞培養系を確立する。C 型肝炎治療におけるインターフェロン（IFN）の治療効果判定に short RNA が有用か調べた。short RNA の量比はウイルスの感染性、活動性と逆相関し IFN 治療効果判定の正解率は 77.1%であった。short RNA は治療効果判定の有用な基準となることが明らかとなった。

（大島正道、清水洋子、土方美奈子（国立国際医療セ)、吉倉廣（cordex))

4. 内蔵リューシュマニア症防御機構に関する研究

内蔵リューシュマニア症は致死的原虫感染症である。ヒトの病態をよく反映する感染マウスモデルを用いて、感染免疫の成立機構を解析した結果、感染初期に脾臓の樹状細胞(DC)が IL-12 を産生し感染特異的 T 細胞免疫を誘導することが判明した。一方、T 細胞欠損マウスおよび、DC の T 細胞領域への移動に必要なケモカイン CCL19 / 21 を欠損する *plt/plt* マウスでは感染脾臓 DC からの IL-12 産生が障害され、感染感受性亢進が認められた。以上より、感染初期において、DC が脾臓 T 細胞領域へ遊走し、 T 細胞と相互作用することが、IL-12 産生誘導および感染免疫の成立に重要であることが考えられた。

（阿戸学、中野英樹、垣内史堂（東邦大)、Asher Maroof、Paul Kaye(London School of Hygiene and Tropical Medicine)

5. 脾臓周辺帯マクロファージの抗感染機能

脾臓周辺帯マクロファージ(MZM)は血中病原体の捕捉と排除に重要な役割を担っている。様々な感染で MZM の消失が報告され、その機序が注目されてきた。我々はケモカイン CCL19 と CCL21 を欠損する *plt/plt* マウス脾臓で MZM の著しい減少を見いだした。次に、正常マウスにケモカインシグナルの阻害剤である百日咳毒素を投与したところ、同様な MZM 減少が認められた。また、MZM は CCL19 と CCL21 に対して遊走活性を示し、脾臓内 CCL21+ 血管内皮細胞と局在していた。以上より、MZM の分布は CCL21 と CCL19 によって制御されることが判明した。

(阿戸学、中野英樹、垣内史堂(東邦大)、Paul Kaye(London School of Hygiene and Tropical Medicine)

6. マラリヤ感染防御を司る免疫細胞の同定

これまで我々は、1）UV 照射によってマラリアに対するマウス感染防御機能が減弱すること、2）マラリア感染マウスの脾臓には、UV 照射によって減弱した感染防御機能を高める免疫細胞が存在すること、を明らかにしてきた。この免疫細胞を同定する目的で、磁気細胞分離法により脾臓細胞を様々な細胞画分に分画し、マラリアに対する感染防御効果の有無を検討した。その結果、CD11b や Gr 1 を発現する細胞を除去したところ、感染防御能が最も顕著に抑制されることを見いだした。このことから、これら分子を発現する特殊なリンパ球亜集団、あるいは樹状細胞サブセットがマラリアに対する感染防御に関与する可能性が示唆された。

（山本紀一（臨時職員)、高橋宜聖、藤猪英樹、阿戸学、竹森利忠）

7. 住血吸虫感染防御に関する研究

ヒトの住血吸虫症の感染防御ワクチンの開発を目指して、マウスモデルで感染防御実験を行っている。in vitro 培養幼虫に DNA 合成阻害剤を加えることで、弱毒幼虫を作ることに成功した。この弱毒幼虫感染マウスは、その後の住血吸虫感染に対して、70%近い強い感染防御効果を示した。この感染防御効果をさらに強いものとする為、

いくつかのアジュヴァント効果のあるものを感作時に併用し、その効果を調べている。BCG と PPD を用いた実験では、単一でも併用でも免疫増強効果は認められなかった。現在、Alum、サポニン、FK565, FK156（フジサワ）などを用いて免疫増強効果を調べている。

（平山中己、朝日博子（寄生動物部)、吉成正裕（横浜市大医)、南陸彦（横浜市大医)、金澤保（産業医科大医）

V. 免疫機能に関する研究

1.免疫記憶に関する研究

(1) 免疫記憶の維持と抗体産生に関わる因子の解析

優性抑制型 Ras を過剰発現したトランスジェニックマウスの免疫記憶応答を解析したところ、記憶 B 細胞の産生と維持には変化が認められないものの、二次刺激に対する記憶 B 細胞の抗体産生分化が強く抑制されることを明らかにした。さらに、記憶 B 細胞で発現増強する Ras シグナル調節分子を見いだし、これを脾臓 B 細胞に過剰発現すると、in vitro での IgG 抗体産生能が増強することを明らかにした。

（高橋宜聖、稲嶺絢子（研究生)、橋本修一、小川七恵（実習生)、竹森利忠）

(2) 記憶 B 細胞、辺縁帯 B 細胞、B1 細胞と炎症性ケモカインの相互作用の解析

記憶 B 細胞で高発現する分子を探索した結果、D6 ケモカインレセプターおよび CCR1 が、記憶 B 細胞、脾臓辺縁帯 B 細胞、および腹腔 B1 細胞で高発現することを見出した。リガンドである CCL3 および CCL4 は辺縁帯 B 細胞および B1 細胞と直接結合するが、おそらく D6 の機能により細胞中に取り込まれ、遊走性を惹き起こさない可能性が示唆された。このことは、感染反応に伴い産生される CCL3 や CCL4 に反応する B 細胞亜群が限られている可能性を示唆する。

（橋本修一、道祖土陽一（研究生)、竹森利忠）

2. SMA における重篤感染症誘発因子の同定

脊髄性筋萎縮症(Spinal Muscular Atrophy: SMA)は、筋萎縮を主徴とし重篤な呼吸器感染症が死亡の主要因となる。我々は重篤な感染症の要因を明らかにする目的で SMA の原因遺伝子である SMN (Survival of Motor Neuron) の免疫系における役割を検討した。この結果 SMN が細胞死誘導因子と会合し、ミトコンドリアの呼吸鎖複合体の維持を調節することにより免疫系の維持に関与する可能性を明らかにした。

（加地友弘、高橋宣聖、竹森利忠）

3. BILL カドヘリン遺伝子欠損マウスにおける腸管病原性細菌感受性の検討

腸管病原性細菌のうちあるものは、E カドヘリンやインテグリンなどの細胞接着分子をレセプターとした細胞侵入性を有する。我々がリンパ球に発現するカドヘリン分子としてクローニングした BILL カドヘリンは腸、鼻腔、肺などの粘膜免疫組織上皮にも集中して発現している。この分子が腸管病原性細菌の細胞侵入に関与しているか否かを検討するために、BILL カドヘリン遺伝子欠損マウスの各種腸管病原性細菌に対する感受性を比較した。このうち、Salmonella 投与群に対する平均生存日数は野生型が 7.3±1.4 日、遺伝子欠損マウスが 10.3±1.9 日で有意差を認め、BILL カドヘリンが Salmonella の細胞侵入機構に関与している可能性が示唆された。

（大西和夫、廣瀬健二（細菌部)、窪田真澄（筑波大学大学院生命環境科学)、山口沙由理（非常勤職員））

4. プレ B 細胞受容体の機能に関する研究

抗体産生Ｂ細胞が抗体遺伝子の再構成を通して抗原認識多様性を生成する過程で重要な役割を果たすプレＢ細胞受容体の機能を解析している。この受容体の細胞内での挙動を可視化する実験系を構築するためにμH 鎖膜貫通領域に突然変異を導入し、Igα/Igβ非依存的に細胞表面に発現するμH-TM12 を作成した。さらにその C 末端に GFP を融合させることによりμH-TM12-GFP を作成した。この融合タンパク質を代替Ｌ鎖およびその突然変異体と共発現させることにより、細胞内および細胞表面でのプレ B 細胞受容体の挙動を可視化し、形成機構・機能発現を観察することが可能になった。代替Ｌ鎖分子の構造機能連関について現在詳細な検討を行っている。

（柳沢有紀(筑波大・院・生命環境化学)、Lill Martensson (Babraham Institute)、清水健之 (東京理大・生命研)、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection

Biology)、山口沙由理（非常勤職員)、大西和夫）

5．リンパ球減少症と骨髄不全症の病因解析ならびに疾病遺伝子解析

(1) 免疫不全マウスにおけるリンパ球減少症の病因解析

リンパ球減少症は薬物、放射線、ウイルス感染等の外因性の要因と造血細胞の内因的欠損によって分類されるが、病因の詳細は不明のままに残されている。我々は、Translin 遺伝子欠損マウス(TSN)を用いて、上記疾病の病因解析をおこなった。TSN マウスの末梢血では、ヒトの遺伝性疾患である重症複合免疫不全症モデルマウスと同様に白血球数が激減していた。リンパ球表面マーカーを用いた解析によると、白血球の減少は末梢血リンパ球が未分化な状態 ($B220^-$ $CD43^+$ $IL\text{-}7R^+$)で停止していることに起因するものであった。この現象は脾臓や骨髄では認められず、幼年期の末梢血で最も顕著に観察され、TSN マウスの易感染性と密接に関連していた。

（石田礼子、福田裕子、松田 潤一郎 (獣医科学部)、中原一彦(東京大学医学部)、葛西正孝）

(2)骨髄不全症の病因解析ならびに疾病遺伝子解析

我々は、遺伝子欠損動物を用いて、骨髄不全症の病因ならびに疾病遺伝子解析をおこなった。Translin 遺伝子欠損マウス(TSN)では幼年期に著しいリンパ球減少症が認められる。一方、約8-10ヶ月を経過したTSNマウスは、骨髄中の幼若骨髄系細胞と赤芽球が減少して重篤な骨髄不全に陥り、慢性骨髄性白血病や骨髄線維症で見られるような巨大脾腫(splenomegaly)を呈することが明らかとなった。この現象の説明として骨髄細胞死に因る可能性が浮上したが、断片化したクロマチン DNA を末端標識法で検出する TUNEL 法を用いた細胞化学的解析で否定された。　現在、TSN マウスに認められる転写因子の発現異常と骨髄不全症との関連を中心に研究を進めている。

（福田裕子、石田礼子、松田潤一郎 (獣医科学部)、中原一彦(東京大学医学部)、葛西正孝）

6．破傷風神経毒素に対する神経細胞表面受容体に関する研究

破傷風神経毒素 (T.Tn)は、運動神経細胞と結合し、細胞内に取り込まれ、逆行性輸送で中枢神経に運ばれ、宿主の死を誘導する毒素である。毒素の受容体分子としてガングリオシドの関与が報告されているが、これのみでは毒素は細胞内に取り込まれない。この毒素の取り込みと関与する受容体分子の同定を試みている。マウス由来の運動神経系の細胞株(NSC-34)がカナダのトロント大学のN. Cashman教授により樹立され、この細胞分与を受け、T.Tn との結合性を調べている。これまでの結果は、蛍光色素結合 T.Tn の結合性は認められなかった。これは細胞が未分化で、細胞表面分子の発現が十分で無い事が予想される。今後は、細胞の分化を促すバナデイト、NGF 等を用いて、細胞の分化を促し、T.Tn との結合性を調べる予定である。

（平山中己）

VI．品質管理に関する研究

1．体外診断薬依頼検査業務

平成17年度より急性A型肝炎診断薬検定業務を担当することとなった。アジアに位置する日本独自の事情を考慮し欧米での市販の血清パネルではなく独自の標準パネルを作成するため血清を収集している。現在ベトナムから約 500 検体収集した。今後スクリーニング予定である。

（大島正道、横田恭子、阿戸学、高橋宜聖、竹森利忠）

2．WHO 査察

11月 WHO 査察に対応して組織された検定業務評価小委員会委員長として副所長、検定担当部室長、検定係に協力して感染研における品質保証システムの管理と各種委員会の整備を行い、また 2004 年度 WHO 査察資料　I．検定に関わる委員会規定及び委員会名簿、II．感染研における品質保証システムの資料作製に参画した。

（竹森利忠）

その他

I．共同大型利用機器管理

平成 16 年度細胞自動解析装置の使用は 1,106 回、計 2,289 時間でその内訳は感染研 948 回、1,953 時間、感染研以外の研究機関 158 回、336 時間であった。機器は適切に管理され、実験申請時の書類も適切に保存され、また使用者に対する研修も適切に行われた。

（渡辺恵理(非常勤職員)、高橋宜聖、竹森利忠）

発 表 業 績 一覧

Ⅰ．誌上発表

1．欧文発表

2005 年

(1) Kasai, M., Fukuda, Y and Ishida, R. A gene-targeted mouse model for bone marrow failure syndrome. Blood , in press, 2005

(2) Takahashi, Y., Inamine, A., Hashimoto S., Haraguchi, S., Yoshioka, E., Kojima, N., Abe, R. and Takemori, T. Novel role of the Ras cascade in memory B cell response. Immunity, 23: 127-138, 2005

(3) Ohnishi, K., Sakaguchi, M., Kaji, T., Akagawa, K., Taniyama, T.,Kasai, M., Yokota-Tsunetsugu, Y., Ohshima, M., Yamamoto, K., Takasuka, N., Hashimoto, S.-I., Ato, M., Fujii, H., Takahashi, Y., Morikawa, S., Ishii, K., Sata, T., Takagi, H., Itamura, S., Odagiri, T., Miyamura, T., Kurane, I., Tashiro, M., Kurata, T., Yoshikura, H. and Takemori, T. Immunological detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus by monoclonal antibodies. J. J. Inf. Dis. 58: 88-94, 2005

(4) Inamine, A., Takahashi, Y., Tokuhisa, T., Miyae K., Takemori, T. and Abe, R. Two waves of memory B cell generation in the primary immune response. Int. Immunol. 17: 581-589, 2005

(5) Ohnishi, K., Melchers, F., Shimizu, T. Lymphocyte-expressed BILL-cadherin/cadherin-17 contributes to the development of B cells at two stages. Eur. J. Immunol. 35: 957-963, 2005

(6) Narita,T., Nishimura,T., Yoshizaki,K. and Taniyama,T. CIN85 associates with TNF receptor 1 via Src and modulates TNF-α-induced apoptosis Exp. Cell Res., 304: 256-264, 2005

(7) Akagawa, K.S., Komuro, I., Kanazawa, H., Yamazaki,T., Mochida, K. and Kishi, F.: Functional Heterogeneity of Colony-Stimulating Factor-Induced Human Monocyte-Derived Macrophages. Respirology (in press)

(8) Komuro, I., Yasuda, T., Iwamoto, A. and Akagawa, K.S.： Catalase plays a critical role in the CSF-independent survival of human macrophages via regulation of the expression of Bcl-2 family genes. J. Biol. Chem. (in press).

(9) Kamada, N., Hisamatsu, T., Okamoto, S., Sato, T., Matsuoka, K., Arai, K., Nakai, T., Hasegawa, A.,Inoue,N., Watanabe, N., Akagawa, K.S., Hibi, T.： Abnormally differentiated subsets of intestinal macrophage play a key role in Th1 dominant chronic colitis through excess production of IL-12 and IL-23 in response to bacteria, J. Immunol. (in press).

(10) Shoda, E. , Kawano,, E. , Aoki, K., and Akagawa, K. S..: Differentiation ability of monocytes from chronic myelomonocytic leukemia into macrophages and multinucleated giant cells. J. Clin. Exp. Hematopathol. (in press).

(11) Yoshida, K., Sunazuka, T., Nagai, K., Sugawara, A., Cho, A., Nagamitsu, T., Harigaya. Y., Otoguro, K., Akagawa, K., Omura, S. Macrolides with promotive activity of monocyte to macrophage differention. J. Antibiotics., 58: 79-81, 2005

(12) Asahi, H., Kanazawa, T., Hirayama, N., Kajihara, Y., Investigating serum factors promoting erythrocytic growth of Plasmodium falciparum. Experimental Parasitology, 109: 7-15, 2005

2004 年

(1) Takasuka, N., Fujii, H., Takahashi, Y., Sakaguchi, M., Hashimoto, S.-I., Ohnishi, K., Itamura, S. Morikawa, M. Tashiro, M., Takemori, T. and Tsunetsugu-Yokota Y. Analysis of anti-SRAS corona virus response in mice inoculated with UV-irradiated virus. Int. Immunol. 16: 1423-1430, 2004

(2) Sakaguchi, N., Takahashi, Y., Takemori, T., and Kuwahara, K., Fujita, S., Critical role of GANP in generation of high-affinity B cells against T cell-dependent antigen. 12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of FOCIS. p379-384, 2004

(3) Kuwahara, K., Fujita, S., Takahashi, Y., Xing, Y., Nakagata, N., Takemori, T., Aizawa, S. Sakaguchi, N. An essential role for the RNA-pr b GANP for somatic hypermutation of immunoglobulin gene in germinal center B cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 1010-1015, 2004

(4) Ato M, Nakano H, Kakiuchi T, Kaye PM. Localization of marginal zone macrophages is regulated by C-C chemokine ligands 21/19. J. Immunol., 173: 4815-4820, 2004

(5) Engwerda CR, Ato M, Stager S, Alexander CE, Stanley

AC, Kaye PM. Distinct roles for lymphotoxin-alpha and tumor necrosis factor in the control of Leishmania donovani infection. Am. J. Pathol., 165: 2123-2133, 2004

(6) Svensson M, Maroof A, Ato M, Kaye PM. Stromal cells direct local differentiation of regulatory dendritic cells. Immunity, 21: 805-816, 2004

(7) Engwerda CR, Ato M, Kaye PM. Macrophages, pathology and parasite persistence in experimental visceral leishmaniasis. Trends in Parasitology, 20:524-530, 2004

(8) Kaye PM, Svensson M, Ato M, Maroof A, Polley R, Stager S, Zubairi S, Engwerda CR. The immunopathology of experimental visceral leishmaniasis. Immunol. Rev., 201: 239-253, 2004

(9) Fuji, Y., Murase, Y., Otake, K., Yokota, Y., Omoto, S., Hayashi, H., Okada, H., Okada, N., Kawai, M., Okuyama, H., Imakawa, K.: A potential live vector, foamy virus, directed intra-cellular expression of ovine Interferon-τ exhibited the resistance to HIV infection. J. Vet. Med. Sci., 66: 115-121, 2004

(10) Iijima, S., Nitahara-Kasahara, Y., Kimata, K., Zhuang, W. Z., Kamata, M., Isogai, M., Miwa, M., Tsunetsugu-Yokota, Y., Aida, Y. Nuclear localization of Vpr is crucial for the efficient replication of HIV-1 in primary CD4+ T cells. Virology, 327:249-261, 2004.

(11) Oshima M, Muriaux D, Mirro J, Nagashima K, Rein A.. Effects of blocking individual maturation cleavages in murine leukemia virus Gag. J. Virol. 78: 1411-20, 2004

(12) Kusano,K., Nishimura,T., Ebara,S., Tachibana,S., Sato,S. Kuwaki,T. and Taniyama,T.: A Potential therapeutic role for small nonpeptidyl compounds that mimic human granulocyte colony-stimulating factor. Blood, 103: 836-842, 2004

(13) Kasai,M. A Significant Role for the Peripheral Blood in Juvenile Hematopoiesis Mol. Biol. Cell 15, 340a, 2004

(14) Sugiura, I, Sasaki, C, Hasegawa, T, Kohno, Sugio, T, Moriyama, H, Kasai, M and Matsuzaki, T Structure of human Translin at 2.2A resolution Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 60: 674-679, 2004

2．和文発表

2005 年

(1) 赤川清子 「結核の免疫」 結核第 4 版、医学書院（in press）

(2) 赤川清子 「呼吸器系の生物学－ヒト単球由来マクロファージの機能」 Aannual Review 呼吸器、17-25, 2005

(3) 谷山忠義 「マクロファジ活性化因子（MAF)、広範囲 血液・尿化学検査・免疫学的検査（第六版)－その数値をどう読むか－4」 Nippon Rinsho、63 巻、Suppl 8, 44-47, 20, 2005

(4) 谷山忠義 「インターロイキン-２(IL-2)およびIL-2 受容体、広範囲 血液・尿化学検査・免疫学的検査（第六版)－その数値をどう読むか－4」 Nippon Rinsho、63 巻、Suppl 8, 65-67, 2005

2004 年

(1) 大西和夫 「pre-BCR シグナルはいかにして用意されるか」 臨床免疫、41 巻 6 号、629-637, 2004

(2) 成田 雅、谷山忠義 「TNF 誘導アポトーシスに関与する新規アダプター蛋白 CIN85」 臨床免疫、Vol. 42: 300-305, 2004

(3) 赤川清子 「細菌感染症とマクロファージ」 Molecular Medicine 41: 991-998, 2004

(4) 赤川清子 「マクロファージ研究の最近の進展－はじめに」 医学のあゆみ 209: 451, 2004

(5) 赤川清子 「マクロライド新作用研究会１０年のまとめー宿主側から」 Vol 57 Suppl.A 38-46, 2004

(6) 小室 巌、赤川清子 「マクロファージ研究の最近の進展－HIV-1 増殖制御機構とマクロファージのヘテロジェナティー」 医学のあゆみ 209:453-457, 2004

(7) 岩田汐里、砂塚敏明、大村 智、赤川清子 「エリスロマイシン生体内代謝産物 EM201 の樹状細胞の分化および機能に対する影響」The Japanese Journal of Antibiotics Vol 57 Suppl.A 65-68, 2004

(8) 大澤瑞穂、砂塚敏明, 澤井哲夫, 大村智, 赤川清子 「エリスロマイシン（EM）生体内代謝産物 EM201 の IL-2 レセプターシグナル伝達への影響」 Vol 57 Suppl.A 92-94, 2004

Ⅱ．学会発表

1．国際学会

［The Immune System. Development, activation and manipulation. Tokyo, 2004］

(1) Takemori, T. “Memory B cell express their gene products at high levels, which exert an anti-apoptic effect in B cell lymphoma cell lines under pro-apoptotic culture conditions.”

［76th Annual Meeting of Association for research of vision and ophthalmology, 2004］

(2) Hori, J., Wang, MC., Murano, N., Takemori, T., Auma, M., Yagita, H. "PD-1 and PD ligans are necessary for corneal allograft survival."

(3) Murano, N., Wang, MC., Ohara, K., Takemori, T., Hori, J. "Dorect confirmation of migration of bone marrow cells into normal and inflamed cornea."

(4) Hori, J., Wang, MC., Takemori, T., Auma, M., Yagita, H. "Role of programmed death 1 and B7-H1 in survival of allogeneneic corneal transplants." 12th International Congress of Immunology, 2004

［第 12 回国際免疫学会　モントリオール, カナダ, 平成 16 年 7 月］

(5) 稲嶺絢子、高橋宜聖、馬場伸江、安部良　“ICOS / B7h Interaction is Required for the Recruitment of High Affinity B Cells into the Memory B Cell Compartment”

(6) Kazuo Ohnishi and Fritz Melchers “Non-Immunoglobulin Domain of Surrogate Light Chain Exerts Cell-Autonomous PreB Cell Receptor Signaling.”

［13th International Symposium on Molecular Cell Biology of macrophages, 2004］

(7) Ato M, Engwerda CR, Dianda L, Nakano H, kakiuchi T, Kaye PM. “In vivo production of IL-12 by dendritic cells in response to Leishmania donovani infection requires interaction with CD4+ T cells in the T cell area of spleen.”

［The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, Japan August 2004］

(8) K. Ohnishi, F. Melchers, T. Shimizu. “Targeted disruption of BILL-cadherin/cadherin-17 gene which is expressed in B lymphocytes and mucosal tissues.”

［4th International Peroxidase Meeting, October 28, 2004, Kyoto］

(9) Akagawa KS, H. Kanazawa, T. Yamazaki, S. Haga, F. Kishi. “Mechanisms of antibacterial activity of human monocyte-derived macrophages against Mycobacterium tuberculosis.”

［The International Symposium of NEW ASPECTS IN PULMONARY SURFACTANT BIOLOGY AND DISEASES. November 12, Osaka］

(10) Akagawa K.S. “Functional heterogeneity of colony-stimulating factor-induced human monocyte derived macrophages.”

［40th US-Japan Conference on tuberculosis and leprosy. December 8, 2004, Kyoto］

(11) Akagawa K.S., Kanazawa H., Yamazaki T., Haga H., Kishi F. “Relationship between anti-bacterial activity and NRANP1(SLC11A1) expression in Mycobacterium tuberculosis H37Rv infected human monocyte-derived macroophages.”

2．国内学会

［第３4 回日本免疫学会総会　札幌　平成 16 年 12 月］

(1) 大西和夫、阪口雅弘、加地友弘、横田恭子、大島正道、葛西正孝、谷山忠義、赤川清子、高須賀直美、橋本修一、山本紀一、阿戸学、藤猪英樹、高橋宜聖、竹森利忠　「SARS コロナウイルスに対するモノクローナル抗体の確立とウイルス抗原検出法への応用」

(2) 橋本修一、道祖土陽一、高橋宜聖、竹森利忠　「CCL3/CCL4 は辺縁帯 B 細胞のスフィンゴシン-1-リン酸依存性遊走性を間接的に調節する」

(3) 藤猪英樹、中山俊憲、谷口克、竹森利忠　「HIVnef 発現により誘導される成熟 T 細胞の機能異常」

(4) 高須賀直美、藤猪英樹、高橋宜聖、大島正道、阪口雅弘、大西和夫、橋本修一、竹森利忠、横田（恒次）恭子　「UV 不活化 SARS ウイルス全粒子ワクチンの経皮免疫は、強く持続的な液性免疫を誘導する」

(5) 堀純子、王明聡、宮下恵、種元桂子、高橋浩、竹森

利忠、八木田秀夫、東みゆき　「角膜アログラフトの免疫特権における Programmed death 1/B7-H1 経路の役割」

(6) 菊池智、足立（中嶋）はるよ、海老原あゆみ、高橋宜聖、上野川修一、八村敏志　「OVA の経口投与のみにより誘導された食物アレルギー性腸炎における CD4+T 細胞の機能解析」

(7) 倉岡雅征、土方僚子、臼井公人、明間洋子、橋口昌章、伊勢渉、高橋宜聖、紅露拓、高津聖志、上野川修一、八村敏志　「パイエル板 CD3ε-B220-IL-2Rα+細胞による IgA 産生誘導」

(8) 高橋宜聖、稲嶺絢子、安倍良、竹森利忠　「記憶 B 細胞の IgG1 抗原受容体（BCR）を介したシグナルは記憶 B 細胞特異的な生理活性を賦与する」

(9) 稲嶺絢子、加地友弘、高橋宜聖、安達貴弘、鍔田武志、安倍良、竹森利忠「記憶 B 細胞に発現増強する新規アポトーシス

(10) 加地友弘､高橋宜聖､竹森利忠　「Survival of motor neuron（SMN）蛋白質による新たな生存促進メカニズム」

(11) 笠原（仁田原）優子、飯島沙幸、横田恭子、間陽子「Importin ・を介した Vpr 新規核移行機序の HIV-1 標的細胞を用いた解析」

(12) 山本拓也､磯貝まや､横田(恒次)恭子　「HIV-1 nef を標的として siRNA 発現システムによる HIV-1 複製抑制効果に関する解析」

(13) 横田（恒次）恭子、石毛真行、村上正裕、竹森利忠「弱毒サルモネラ菌ワクチンの経口投与による抗 HIV 粘膜免疫効果の解析」

(14) 阿戸学，Engwerda CR，Maroof A，中野英樹，垣内史堂，Kaye PM　「CCL19/21 欠損 plt/plt マウスにおける Leishmania donovani 感染に対する免疫応答の障害」

(15) 柳沢有紀、Lill Martensson、清水健之、Fritz Melchers、大西和夫　「プレ B 細胞レセプターを構成する代替軽鎖の非免疫グロブリン領域の機能解析」

(16) 成田　雅、谷山忠義　「CIN85 の過剰発現は単純ヘルペスウィルスの増殖を抑制する」

(17) 赤川清子、金沢裕子、岸　文雄　「ヒトマクロファージの結核菌の増殖制御機構 IL-10 による結核菌増殖抑制活性の活性化」

(18) 小室　巌、岩本愛吉、赤川清子　「マクロライド誘導体のヒト単球由来マクロファージにおける M-tropic HIV-1 の増殖応答への影響」

［第 52 回日本ウィルス学会、横浜、平成 16 年 11 月］

(19) 横田（恒次）恭子、立川（川名）愛、山本拓也、磯貝まや、岩本愛吉、森川裕子　「樹状細胞を介したウイルス抗原特異的Ｔ細胞の活性化に関する in vitro 評価解析」

(20) 磯貝まや、横田（恒次）恭子　「HIV-1 Nef が樹状細胞の抗原提示機能に及ぼす影響について」

(21) 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、水谷哲也、森川茂、田口文広、田代真人、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、宮村達男　「高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の SARS 生ワクチンとしての応用」

(22) 笠原（仁田原）優子、飯島沙幸、横田恭子、間陽子「Importin ・により促進される Vpr 核移行機序の HIV-1 標的細胞を用いた解析」

(23) 木全清典、倉光球、我妻昭彦、横田恭子、間陽子「Vpr によって変化する HIV-1 mRNA 量比の定量解析」

(24) 高村史記､新倉昌浩､横田恭子､李天成､武田直和､宮村達男、保富康宏　「DNA ワクチン封入キメラ VLP 経口投与による粘膜誘導ワクチンの試み」

(25) 吉仲由之，山本典生，山本直樹，並木秀男，谷山忠義，楠慎一郎，堀江健二，ヌグェン・バンサー、小沢智　「SARS-コロナウイルスを中和する鶏卵抗体フィルターの開発」

［日本 RNA 学会、熊本、平成 16 年 8 月］

(26) 加地友弘，日向野紋子，高橋宜聖，竹森利忠「Survival of motor neuron (SMN)結合蛋白質は SMN の多様な機能を調節する」

［第 54 回日本アレルギー学会総会　横浜　平成 16 年 11 月］

(27) 足立（中嶋）はるよ、佐々木清美、海老原あゆみ、菊池智、八村敏志、石田剛、高橋宣聖、渡辺裕子、金森豊、松田浩珍、平野清美、下条直樹、河野陽一、上野川修一　「卵白アルブミン特異的 T 細胞受容体遺伝子トランスジェニックマウス（OVA23-3）が OVA の経口投与のみで起こす腸管炎症形成」

［第 13 回東京免疫フォーラム、東京、2004 年 5 月］
(28) 阿戸学、Stäger S, Engwerda CR, Maroof A, 中野英樹、垣内史堂、Kaye PM, 竹森利忠　「内臓リューシュマニア症マウスモデルにおける脾臓樹状細胞遊走の役割」

［第 79 回日本結核病学会、名古屋、2004 年 4 月］
(29) 谷山忠義、中山慶子、菅原勇、橋本直樹、橋本和治「モルモットを用いた遺伝子組み換え BCG（rBCG）の抗結核防御効果の検討」
(30) 赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治　「結核菌感染ヒトマクロファージにおける NRAMP1 の発現と MAP カイネースの活性化について」

［第 2 回沖縄若手研究者フォーラム、沖縄、2004 年 2 月］
(31) 大島正道、清水洋子、土方美奈子、吉倉廣　「C 型肝炎ウイルスにおける short RNA の相対量比と感染性の解析」

［第 11 回マクロライド新作用研究会、平成 16 年 7 月 16 日、東京］
(32) 小室　巖、砂塚敏明、大村　智、赤川清子　「マクロライド誘導体のヒト単球由来マクロファージにおける HIV-1 増殖応答に与える影響」

［第 20 回日本角膜移植学会、米子、平成 16 年 2 月］
(33) 堀純子、王明聡、村野奈緒、竹森利忠、東みゆき　「角膜アログラフト正着における programmed death ligand 1(B7-H1)及び B7-DC の役割」
(34) 村野奈緒、堀純子、王明聡、大原国俊、竹森利忠　「角膜への骨髄細胞への遊走」

［第 108 回日本眼科学会、福岡、平成 16 年 4 月］
(35) 堀純子、王明聡、村野奈緒、竹森利忠、東みゆき、八木田秀雄　「角膜移植の免疫特権における Programmed Death 1 と B7-H1 及び B7-DC の役割」
(36) 村野奈緒、堀純子、王明聡、大原国俊、竹森利忠　「角膜アログラフトにおける骨髄細胞の関与」

［第 38 回日本眼炎症学会、札幌、平成 16 年 7 月］
(37) 堀純子、王明聡、種元桂子、高橋浩、竹森利忠、東みゆき、八木田秀雄　「眼免疫特権における Programmed Death 1/B7-H1 経路の役割」

［RNA ウィルス研究の新展開 III、鈴鹿、平成 16 年］
(38) 広瀬敏治、郭潮潭、高須賀直美、竹森利忠、黒田和道、榎並正芳　「インフルエンザウイルスベクターを用いた結核ワクチン開発の試み」

2．和文発表
(1) 竹森利忠　「記憶 B 細胞産生維持にかかわるシグナル」　医学のあゆみ、207 巻 3 号、185-191、2003
(2) 大西和夫　「pre-BCR シグナルはいかにして用意されるか」　臨床免疫、41 巻 6 号、629-637、2004
(3) 高橋宣聖、藤猪英樹、橋本修一、竹森利忠　「MACS, FACS による細胞精製、ソーティング」　タンパク質研究のための抗体実験マニュアル、羊土社、124-138、2004

9.生物活性物質部

部長　上原至雅

概　要

生物活性物質部は、感染症の制圧をめざし安全かつ有効な予防・治療薬と診断法の開発に関する基礎研究を行うことを目的としている。当部が取り扱う主な生物活性物質は、真菌制御物質（第１室)、情報伝達制御物質（第２室)、生体防御調節物質（第３室）および抗生物質耐性菌制御物質（第４室）等であり、これらの物質に関連して、生化学的、遺伝学的、分子生物学的手法を用いた新しい活性評価系の開発、新規生物活性物質の探索、作用機序等の研究、ならびに病原真菌の病因の検索、診断・治療法の研究、細胞内情報伝達の制御、生体防御の制御機構、および薬剤耐性菌の機構・迅速検出・制御等の研究を行っている。平成 16 年度は以下の項目について研究が行われた。

I.　新しい活性評価系とスクリーニング及び生物活性物質の研究
II. 真菌の薬剤耐性機構と病原性因子及び感染防御に関する研究
III. 好中球機能解析及びその機能不全の解析
IV. バイオイメージング解析
V. サイトカイン LECT2 の解析
VI. ゲノム情報に基づく創薬と薬剤耐性に関する研究
VII. 我が国における輸入真菌症のサーベイランス

研究費としては、基盤的研究費、真菌感染症対策事業費、特別研究費のほかに厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業、医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業、難治性疾患克服研究事業)、創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業、文部科学省科学研究費補助金及び振興調整費等の支援を受けた。新興・再興感染症研究事業では、「輸入真菌症等真菌症の診断と治療法の開発と発生動向調査に関する研究」(上原ら）を行い、医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業では鈴木室長が主任者となり、感染症誘発の慢性疾患への対策研究を推進した。振興調整費(新興・再興感染症制圧のための共同戦略）では、鈴木室長がサブリーダーとして「感染症リスクアセスメント」に関する研究を推進した。

上原は、厚生労働省の薬事・食品衛生審議会臨時委員として医薬品第二部会員及び日本薬局方調査会調査員、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員などの任をつとめた。人事面では、平成 16 年 10 月 1 日付けで星野泰隆研究員が採用され、ゲノム情報に基づく創薬と薬剤耐性に関する研究を開始した。また、野口主任研究官は平成 16 年 6 月 1 日から 2 年間の予定で米国国立小児健康発達研究所・国立衛生研究所の客員研究員として研究研修に従事するため海外出張中である。

国際交流の一環として、新見室長は日本学術振興会「外国人招へい研究者（短期)」により、Dr E Lamping （ニュージーランド、オタゴ大学）を招へいし、「日和見真菌クリプトコックス・ネオフォルマンスの薬剤耐性機構」の共同研究を行った。鈴木室長は（独) 日本学術振興会、ヒューマンサイエンス振興財団、（財) 公定書協会、(財) 医療機器センター、(独) 科学技術振興機構の支援事業により、William Nauseef 教授（米国・アイオワ大学感染症・炎症)、Stanley Hazen 教授（米国・クリーブランド大学)、David Jayne 顧問（英国・ケンブリッジ大学 Addenbrookes 病院)、David Scott 教授（英国・ノービッチ大学)、Richard Watts 教授(英国・ノービッチ大学)、Caroline Savage 教授（英国・バーミンガム大学)、Antony Kettle 教授（ニュージーランド・オタゴ大学)、Jim Koopman 教授(米国・ミシガン大学医学部)、Angela McLean 教授（英国・オックスフォード大学）および Stephen Eubank 研究員（米国・国立ロスアラモス研究所)、Farhana Nakhooda 氏（シンガポール・APC）を招へいし、国際研究交流を推進した。また、感染症リスクアセスメントに関する第一回国際シンポジウム (International Symposium on Trends in Transmission Models for Infectious Diseases)を日英米の研究者を中

心として開催した。

以下に本年度の主な調査・研究の業績を記す。

業　績

調査・研究

I. 新しい活性評価系とスクリーニング及び生物活性物質の研究

1. 酵母の薬剤排出ポンプ阻害剤の探索

アゾール剤耐性は主に排出ポンプの機能亢進が原因であり、新規アゾール剤ボリコナゾールに対しても排出ポンプ発現株は高度耐性を示す。ポンプ阻害剤をアゾール剤と併用すれば、薬剤は細胞外に汲み出されることなく真菌細胞内の有効濃度が保たれ、耐性菌の増殖を阻止することが期待される。主要な輸送体が破壊されアゾール高度感受性の*S. cerevisiae*に病原真菌の各ポンプ遺伝子を導入・発現したアゾール高度耐性株をそろえている。アゾール剤の sub-MIC 共存下で、微生物培養ろ液抽出物の中にこれらの株の排出ポンプ阻害活性を示す物質を探索中である。

[高野幸枝、田辺公一、新見昌一、上原至雅；玉川大学、富山県立大学、メルシャン（株）、海洋バイオテクノロジー、ニムラ・ジェネティック・ソリューションズ]

2. 癌細胞のシグナル伝達の解析と制御物質の探索

(1) MEK 阻害剤による anoikis 感受性誘導機構

MEK 阻害剤がヒト乳癌細胞 2 株に対し非接着状態でのみ apoptosis、即ち anoikis 感受性を誘導し、その感受性誘導に BH3-only protein である BimEL が重要である事を報告した。MEK 阻害剤は ERK による BimEL のリン酸化、分解促進を阻害し BimEL レベルを上昇させる。anoikis 感受性となる癌細胞株ではもとの Bim レベルが低く、ERK の活性化により BimEL を低く保つことが anoikis 回避の主要機構であると考えられた。他の癌細胞でも MEK 阻害剤により anoikis 感受性となるものがあり、特に大腸癌では調べた株全てで anoikis 感受性が誘導された。いずれの細胞でも anoikis 感受性の誘導は ERK 活性化レベルよりも BimEL の増加と相関した。以上から Bim は anoikis 誘導の重要な決定因子であり、MEK 阻害剤感受性予測の指標となることが示唆された。

[深澤秀輔、野口耕司、村上裕子、上原至雅]

(2) polyHEMA 細胞培養法による癌化シグナル抑制物質の探索

新規抗癌剤リードの発見をめざし、足場非依存性増殖阻害を指標に天然物の中に探索を行っている。一方、真菌由来の新規テルペノイド anicequol の作用を解析し、大腸がん細胞 DLD-1 等に anoikis を誘導する活性が見出されたので、誘導体の開発研究を開始した。各種化学反応合成で得られた 10 種類以上の誘導体について構造活性相関を解析した結果、これまでに報告のない新規化合物の中に anicequol より選択性の高い anoikis 誘導物質を同定した。

[上原至雅、福田恵子、小野基子、深澤秀輔；五十嵐康宏、古米　保（富山県立大）；沖　俊一（玉川大）]

(3) プロテインキナーゼ阻害物質の探索

文科省総合がん「制がん剤スクリーニング委員会」においてプロテインキナーゼ阻害剤の評価を担当しており、今年度は 65 検体の評価を行った。その結果、有効と判定されたのは 7 検体であった。このうち、変形菌由来のビスインドールアルカロイド化合物に強い阻害活性が認められたので、関連構造の化合物について活性評価を行ったところ、ひとつの新規構造の化合物に強い Src チロシンキナーゼ阻害活性と抗がん活性を見出した。

[上原至雅、福山まり、村上裕子、深澤秀輔；石橋正己（千葉大薬）；小宮山寛機（北里研）；矢守隆夫（癌研）]

3. 持続性感染に関わるウイルス蛋白質複合体の解析

(1) EB ウイルス EBNA1 と相互作用する TAF-Iα、βの機能解析

昨年までの解析で、ヒストンシャペロンとして知られ、アセチル化反応阻害活性、細胞周期調節の活性等を持つ template-activating factor (TAF)-I が EBNA1 に結合することが分かった。そこでその作用機構の解析を行った。TAF-I は、EBNA1 の転写活性を抑制し、ゲルシフトアッセイでは、EBNA1 の DNA 結合能を抑制することが判明した。TAF-I による EBNA1 の機能抑制は、ウイルスゲノム複製制御あるいは細胞の防御機構に関係する可能性が考えられた。

[山越　智、村上裕子、上原至雅、深澤秀輔]

(2) カポジ肉腫ウイルスの遺伝子 LANA の機能解析

前報で LANA は宿主分子 Daxx と結合することを報告したが、共焦点顕微鏡で両者の局在を調べた。カポジ肉腫ウイルス感染 PEL 細胞で LANA は特徴的なドットとして核内に観察されたが、Daxx も同様で LANA と共局在していた。LANA を発現させた HeLa 細胞では両者とも核全体に均一に共局在していた。LANA のない細胞では Daxx は細胞全体に分布しており LANA は Daxx を核に移動させることがわかった。また、Daxx は転写因子 Ets1 に結合しその活性を抑制するので、Ets1 に依存して発現する VEGF レセプターについて調べた。内皮細胞に LANA を発現させてフローサイトメトリーで調べたところ、VEGF レセプター１は対照の細胞の約２倍発現していた。

[村上裕子、山越　智、上原至雅、深澤秀輔]

(3) HHV8 LANA と Brd4 の結合についての解析

LANA と結合することが報告されている RING3 と同じ BET ファミリーに属する Brd4 が LANA と結合するか検討した。Flag タグを付けた LANA 及び HA タグを付けた Brd4 を HEK293T 細胞に発現させ、免疫沈降法により調べたところ LANA と Brd4 が結合することがわかった。HHV8 感染細胞である BCBL-1 細胞においても LANA と Brd4 が結合していることを確認した。LANA 及び Brd4 それぞれの欠損変異体を作成し、HEK293T 細胞に発現させて結合部位を検討した結果、LANA はその C 末端側で、Brd4 はその N 末端側で互いに結合することがわかった。結合に必要な最少の部位を明らかにするため、さらにアミノ酸残基を欠損した変異型蛋白質を作成して検討している。また Brd4 の機能に対する LANA の影響についても検討している。

[高橋直子、村上裕子、山越　智、上原至雅、深澤秀輔]

II. 真菌の薬剤耐性機構と病原性因子及び感染防御に関する研究

１．真菌の薬剤耐性機構と病原性因子の解析

(1) *Candida glabrata* の ABC タンパク質 Cdr1p のリン酸化による機能調節

Candida glabrata の ABC タンパク質 Cdr1p は、栄養条件や細胞外ストレスに応じて、PKA または類似のリン酸化活性をもつキナーゼによって 307 番目と 484 番目のセリンがリン酸化されると考えられている。両部位のアラニン変異は薬剤排出活性を大きく低下させるため、この部位のリン酸化状態が薬剤排出活性を調節していると推察される。質量分析法による Cdr1p のリン酸化部位の同定およびリン酸化と薬剤排出機能との相関を明らかにすることが今後の課題である。

[田辺公一、新見昌一、上原至雅；Kyoko Niimi、Erwin Lamping、Richard D. Cannon、Brian C. Monk（オタゴ大学）]

(2) 分泌小胞を蓄積する出芽酵母の特性

出芽酵母の主要な ABC タンパク質遺伝子を破壊した株（AD1-8u$^-$）に *sec6-4* 遺伝子を導入した。この変異株（AD1-8u-sec6-4 ）を制限温度下で培養すると、分泌小胞は細胞膜と正常な融合ができなくなり、細胞内に多量に蓄積する。我々は、*sec6-4* 表現型の原因が Sec6 の L633P single point mutation にあることを明らかにし、*sec6-4* 変異酵母株が種々の培養条件下で分泌小胞を蓄積する様子を透過型電子顕微鏡により詳細に観察した。さらに GFP 融合 Sec6-4 変異タンパク質および mRFP 融合の細胞膜 ABC タンパク質 CaCdr1p が制限温度においては細胞内に局在することを確認した。

[Erwin Lamping、田辺公一、新見昌一、上原至雅、Brian C. Monk、Richard D. Cannon （オタゴ大学）]

(3) *Candida albicans* におけるミカファンギン低感受性機構

ミカファンギンは真菌細胞壁 β-1,3-glucan の合成に関わる酵素を阻害する新規抗真菌剤である。*C. albicans* における本剤低感受性の機構を解明するため、in vitro で低感受性株を分離した。低感受性株の *GSC2* および *RHO1* がコードするアミノ酸配列は親株と完全に一致したが、*GSC1* については一方のアレルの ORF 中に、一カ所アミノ酸変異が生じていた。このアミノ酸変異を有する *GSC1* の発現量を調節して、変異 *GSC1* とミカファンギン感受性の関連性を検討している。

[平井明香、高野幸枝、梅山　隆、田邊公一、上原至雅、新見昌一]

(4) *Candida albicans* における CaHsl1p キナーゼを介したシグナル伝達経路の解析

カンジダ症の原因菌 *Candida albicans* は酵母形・菌糸形の形態を持つ二形性真菌である。出芽酵母では形態に関与する *HSL1* の相同遺伝子の遺伝子破壊株を作製し、通常の培地における細胞の異常伸長および血清刺激による菌糸伸長速度の増加を観察した。これらの表現型は CaCdc28p(Y18F)の導入や *CaSWE1* の破壊により抑制され、さらに、*CaHSL1* 遺伝子破壊株において CaSwe1p のリン酸化が減少し、CaCdc28p のチロシンリン酸化が上昇することから、この経路が細胞の伸長に関わっていることが示唆された。また、マウスモデルを用いて病原性への関与を明らかにした。

[梅山　隆、金子亜希、永井有紀、花岡　希、田邊公一、高野幸枝、新見昌一、上原至雅]

(5) *Candida albicans* における *CDC28* 発現抑制による形態変換への影響

C. albicans は二形性真菌であり、形態変換が病原性に深く関与していることが明らかにされている。我々は、細胞周期と形態変換との関連を調べるために、サイクリン依存性プロテインキナーゼ *CDC28* の発現抑制株を作製した。*CDC28* の発現を抑制すると、極端な細胞の伸長および肥大が観察された。また、菌糸誘導をしない培地においても菌糸特異的に発現する遺伝子の発現が確認された。さらに、菌糸形成を制御する様々な転写因子の発現低下が確認され、細胞周期の中心的役割を果たしている *CDC28* は菌糸関連遺伝子の転写制御にも関与していることが示唆された。

[梅山　隆、上原至雅、新見昌一]

(6) *Candida albicans* におけるダブルタグ法を用いたセプチン複合体の精製

C. albicans において蛋白精製を容易にするために、新たに発現ベクターを構築した。出芽部位に出現するセプチンの構成因子 Cdc11p の C 末端に 6xHis および FLAG タグをタンデムに付加し、FLAG 抗体アガロースおよびニッケルレジンの二段階の精製によって Cdc11p 複合体を回収する方法を確立し、得られた複合体の構成因子として既知のセプチン構成因子を質量分析で確認した。また、同定された各々の蛋白質にダブルタグを付加した株を作製・精製を行い、いずれの株においても複合体を形成する蛋白質が検出され、ダブルタグを用いた二段階精製の有効性を示すことが出来た。

[金子亜希、梅山　隆、花岡　希、B. C. Monk（オタゴ大学)、上原至雅、新見昌一]

(7) *Candida albicans* における CaYvh1p プロテインフォスファターゼの解析

二重特異性蛋白脱リン酸化酵素をコードしている CaYVH1 遺伝子の破壊株は親株と比較して顕著な成育の遅延が観察された。また、血清を用いた菌糸誘導では、発芽管誘導には影響を与えないが菌糸伸長に差のあることを見いだした。マウスに対する感染実験では *CaYVH1* 遺伝子欠失株は野生株に比べて病原性が低下した。また、*ACT1* プロモーター制御下で CaYvh1p を過剰発現させると生育・菌糸伸長の速度が速くなり、病原性が強くなった。以上のことから細胞の増殖や菌糸伸長、病原性に関わることを明らかにした。

[花岡　希、梅山　隆、上野圭吾、上原至雅、新見昌一]

(8) *Candida albicans* におけるプロテインフォスファターゼの網羅的遺伝子破壊

公開されている *C. albicans* のゲノム情報より 29 種類のプロテインフォスファターゼを見出した。そのうち、22 種類の CaPPase についての破壊に成功した。破壊株の増殖や形態変換能、各種抗真菌剤に対する感受性等の表現型を中心に網羅的な解析を行った結果、いくつかの欠失株に特徴的な表現型が認められたが大半は顕著な表現型を示さなかった。これら破壊株の表現型をより詳細に解析することによって、形態変換・病原性に関するシグナル伝達経路の解明につながることが期待できる。

[花岡　希、梅山　隆、上野圭吾、上原至雅、新見昌一]

(9) *Candida albicans* の脂肪酸不飽和化酵素の解析

酵母においては脂肪酸不飽和化酵素による脂肪酸組成変化は、環境への応答に重要な役割を担っている。*C. albicans* の脂肪酸不飽和化酵素をコードする遺伝子（*CaFAD2* および CaFAD3）を導入した *S. cerevisiae*

株の脂肪酸組成の GC 分析により CaFad2p はオレイン酸不飽和化酵素、CaFad3p はリノール酸不飽和化酵素であることが判明した。それぞれの遺伝子破壊株において形態変換能には顕著な差が観察されなかったが、脂肪酸組成に変化を生じ、*CaFAD2* および *CaFAD3* が *C. albicans* においても機能していることが示された。

[梅山　隆、新見昌一；根岸由美子、梶原　将（東工大院・生命理工）；村山琮明、生方公子（北里大・北里生命科学研究所）]

２．真菌感染防御に関する研究

(1) *Cryptococcus neoformans* 感染に対する生体防御におけるミエロペルオキシダーゼの役割

昨年にひきつづき、我々が作製した MPO ノックアウト(MPO-KO)マウスを用い、クリプトコッカス感染に対する生体防御における MPO の役割を解析した。

[鈴木和男、高野幸枝；倉　文明、渡辺治雄（細菌部）、荒谷康昭、小山秀機（横浜市大・木原研）；Nobuyo Maeda（米国・ノースキャロライナ大）]

(2) 真菌 *C. albicans* 由来物質誘導の動脈炎発症マウスモデルにおける好中球の役割

C. albicans を完全合成培地で培養した培養上清より精製した C. Albicans Water Soluble fraction (CAWS) をマウスの腹腔に 5 日間連続投与することによって動脈炎を誘発するモデルを用い、血管炎発症への好中球の関与について解析を行った。CAWS 単回投与後、早期に末梢白血球、特に好中球数は有意に増加し、刺激に対する反応性も増加する傾向を認め、血漿中の炎症性サイトカイン IL-1β などが CAWS 接種後短時間で産生されていることを既に報告したが、好中球がこれらのサイトカインを産生し、またサイトカインによっては CAWS によって産生が増強されている可能性が示された。サイトカインの産生に引き続いて、MIP-2、G-CSF、可溶性 ICAM-1 の産生を認めた。さらに、CAWS 投与 16 時間後に胸腔から単離した大動脈では、非投与のそれに比較して有意に高い ICAM-1 のメッセージを発現しており、血管炎発症につながるマーカーと考えられた。血管炎発症にいたる最初のステップにおける好中球の役割は重要と考えられる。

[大川原明子、鈴木和男；大原関利章、高橋啓、山田仁美、村田久雄、直江史郎（東邦大・医・大橋）；三浦典子、大野尚仁（東薬大・免疫）；柏村信一郎、岡村春樹（兵庫医大・先端医学研）]

(3) cDNA マイクロアレイによる血管炎惹起物質 *Candida albicans* 由来菌体外多糖 CAWS 投与による脾細胞に発現する遺伝子解析

病原性真菌 *C. albicans* の菌体外多糖画分（CAWS）の投与が血管炎を誘発し、系統差がある。血管炎発症に高感受性である DBA/2 マウスでは CBA/J マウスに比べ mRNA レベルで 4 倍以上の発現が認められた遺伝子が 63 clone,1/4 以下の発現であった遺伝子が 268 clone であった。DBA/2 では myeloperoxidase (MPO) や neutrophilic granule protein などの好中球関連遺伝子が上昇し、CBA/J マウスでは成長因子や接着分子の発現上昇が認められた。

[鈴木和男；亀岡洋祐（遺伝子資源）；三川浩輝、三浦典子、大野尚仁（東薬大・免疫）]

III. 好中球機能解析及びその機能不全の解析

(1) MPO-ANCA 関連糸球体腎炎モデルマウスにおける脾臓腫大は血管炎進行に関わる

ANCA 関連糸球体腎炎を自然発症するモデルマウス（SCG/Kj）の加齢に伴う経時的変化の指標として、脾臓細胞のポピュレーション、サイトカイン産生、脾臓内に局在する好中球について解析を行い、腎炎発症における免疫学的背景を明らかにした。

[大川原明子、鈴木和男、；太刀川仁、相澤義房（新潟大・院医）；徳中一寛（日本化薬）]

(2) MPO-ANCA 関連半月体形成性腎炎自然発症モデル SCG/Kj マウスの遺伝的解析

SCG/Kj マウスは、MPO-ANCA の上昇と pauci-immune 型半月体形成性腎炎を自然発症する興味深いモデルである。SCG/Kj の腎炎発症機構と免疫学的形質の支配遺伝子の解明を試み、染色体マップが特定された。

[鈴木和男、大川原明子；濱野慶朋、広瀬幸子（順天堂大・医）；徳中一寛（日本化薬）]

(3)ANCA 関連腎炎･血管炎に対するヒト免疫グロブリン(IVIg) 治療効果の検討

昨年にひきつづき、ANCA 関連腎炎・血管炎に対するヒト免疫グロブリン(IVIg) 治療効果を検討した。ACNA 関連急速進行性糸球体腎炎・血管炎症候群 13 例にヒト免疫グロブリンで初期治療を行った。我が国における各施設での本療法の 30 症例の実施状況を集計し、単独効果の判定可能例と全体例に分け、予後を検討したが、いずれも優位な予後改善効果を得ている。今後さらなる症例の追加による我が国での実態が明らかに成りつつある。

[鈴木和男；猪原登志子、小野孝彦（京都大・院医）；今井圓裕（大阪大・院医）；山縣邦彦（筑波大・院医）；武曾恵理（北野病院）]

(4) 川崎病類似マウス系統的動脈炎モデルにおけるヒト免疫グロブリンの治療効果の組織学的検討

川崎病類似マウス系統的動脈炎モデルマウスによりヒト IVIg 製剤を用いて薬剤の至適投与法・投与時期を検討した。さらに、MPO-ANCA 含有量の異なる IVIg 製剤による治療効果の差異についても予備的に検討した。その結果、MPO-ANCA 高濃度 IVIg 製剤では、末梢好中球数が減少し､MPO-ANCA 低濃度 IVIg 製剤でも動脈炎発生率が低下し両者の間に差異はなかった。

[大川原明子、村山　研、鈴木和男；大原関利章、高橋啓、山田仁美、直江史郎（東邦大・医・大橋）；三浦典子、大野尚仁（東京薬大・薬）；山下潤二、土田和徳、金城義明、金子健二（日本製薬）]

(5) 活性化好中球増多による MPO-ANCA 関連糸球体腎炎を発症する新たなモデルマウス

BSA の連続投与によって MPO-ANCA 関連糸球体腎炎を発症するモデルマウス系を確立し、その発症に活性化好中球が関わっていることを明らかにした。このマウスは半月体形成性腎炎の治療法開発のためのモデルとして有用と考えられる。

[大川原明子、鈴木和男；板橋美津世、湯村和子（東京女子医大・医）；山下潤二、金城義明（日本製薬・大阪研）]

(6) 血管炎発症機構の解析：MPO-ANCA の血管内皮細胞への作用

血管炎モデルマウスを作製し、myeloperoxidase（MPO）に対する自己抗体（MPO-ANCA）による血管炎発症メカニズムについて in vivo イメージング解析を行った。MPO-ANCA 投与により、血流速度の低下、血流の逆流、白血球の接着が見られ、通常血管外には漏れでない血漿成分が、MPO-ANCA 投与により血管外に漏出し、MPO-ANCA 濃度依存的に ICAM-1 の発現があがった。Fab 抗体でも同様の反応が見られた。この結果は、MPO 抗体が直接血管内皮細胞に作用していることを示唆している。

[鈴木和男、大川原明子、長尾朋和；松村実美子、南谷晴之（慶応大・理工）；越尾 修（帝京大・医）；馬渕綾子（ニュージランド・オタゴ大）]

(7) MPO リーダーペプチド内の多型と炎症性疾患との関連

ミエロペルオキシダーゼ（MPO）は好中球の殺菌・殺ウイルス作用を担い、炎症反応で重要な役割を果たしている。MPO コード領域に Val53Phe（V53F）の変異があり、頻度は Phe 型がほぼ 0.112 と推定される。この変異は成熟 MPO には影響せず、成熟過程に影響する可能性がある。炎症性疾患としてリウマチ、MPO-ANCA 関連腎炎、C 型肝炎と健常対照での変異頻度の解析を行った。53F の出現頻度は C 型肝炎で 9.9%と対照 9.6%と差はなかった。リウマチ群全体では 10.7%であったが、病状進行度Ⅲ、Ⅳでは 12.5%で、Ⅰ、Ⅱでは平均 7.5%と重症例で増加するが有意の差ではない。MPO-ANCA 関連腎炎群では 53F 保持率は 38.5%と高く、アレル頻度は 0.205 を示し、有意ではないが関連が示唆された。

[鈴木和男；亀岡洋祐、伊東玲子、橋本雄之（遺伝子資源）；鈴木哲朗（ウイルス２）；笠間　毅（昭和大・医）；猪原登志子（京大・院医）；武曾恵理（北野病院）]

(8) 活性化好中球における CD69 分子の表面局在

血管炎の発症の要因の一つとして、活性化した好中球の影響が考えられている。活性化した好中球の細胞膜表面に局在してくる分子の一つに CD69 分子があり、好中球活性化による本分子の局在変化を解析した。炎症性サイトカインや走化性因子などの好中球刺激剤を用い、in

vitro における好中球の CD69 分子の細胞膜への表出を、解析した結果、好中球の CD69 分子が、炎症性サイトカイン、走化性因子に反応した局在変化を示すことから、好中球の炎症反応の過程に関与している可能性が示唆された。

[鈴木和男、長尾朋和；村山　研、新井孝夫（東京理科大・理工）；長谷川明洋、中山俊憲（千葉大・院医）；大原関利章、高橋啓、山田仁美（東邦大・医・大橋）；三浦典子、大野尚仁（東薬大・免疫）]

IV. バイオイメージング解析

(1) 斜光照明蛍光顕微鏡による好中球の CD69 分子の細胞膜表面移行のイメージング

好中球は、最も早く炎症局所に動員され、炎症の惹起・促進に重要な役割を果たしていると考えられるが、その分子メカニズムはあまり解明されていない。活性化好中球の細胞内に存在する分子として知られる CD69 が活性化によりその細胞表面に CD69 分子を発現する現場を、斜光照明蛍光顕微鏡を用いてイメージング解析した。

[鈴木和男、村山　研；新井孝夫（東京理科大・理工）；山岸　舞、坂本明彦、船津高志（東京大・医薬）；長谷川明洋、中山俊憲（千葉大・院医）]

(2) 活性酸素誘導による血小板血栓形成における CD69 機能のイメージング解析

昨年にひきつづき検討した。光化学反応によって産生される活性酸素によって誘導される血小板血栓形成に CD69 が関与していることを明らかにした。これまでわれわれが樹立した CD69 ノックアウトマウスでは、コラーゲン抗体誘導の関節炎の発症が有意に抑制され、浸潤している好中球の役割が示唆されている。CD69-KO と wild type との間で血小板血栓によって血流が停止するまでの時間の比較から、CD69-KO の方が血流停止により長い時間を要した。また、これには血小板と好中球の関与が示唆され、in vitro の好中球―血小板との関係が示唆された。

[鈴木和男、村山　研、野津朋子；永井篤志（東京女子医大）；長谷川明洋、中山俊憲（千葉大・院医）]

(3)　MPO-ANCA による腎微小血管傷害のイメージング

昨年度にひきつづき、免疫異常による腎臓血管傷害のイメージング解析を検討した。好中球活性化による血管傷害機構を in vivo で解析するシステムを開発し、腎微小血管傷害の誘導とその血流動態を In-vivo Imaging によって観察することが可能になった。腎微小血管傷害の誘導とその血流動態の観察について検討し、anti-mMPO 抗体投与により、血流停止、広範囲にわたる腎表面血流の悪化が観察された。in vitro の培養系でも同様の状態が可能かをひきつづき検討している。

[鈴木和男；松村実美子、南谷晴之（慶応大・理工）]

(4) Quantum Dot 標識抗体による活性化好中球表面への MPO の表出の解析

量子ドット（Quantum dot: QD）は直径 4 ナノメートル前後の超微粒子で、その量子サイズ効果による蛍光は高輝度かつ耐光性に優れていることが知られている。そこで、MPO 抗体を量子ドットにて標識し、活性化好中球表面への MPO の表出を解析した。また、血管炎患者好中球においては、無処理での表出が検出された。

[大川原明子、鈴木和男、村山　研；星野昭芳、安原正人、山本健二（国立国際医療センター研）；猪原登志子（京都大・院医）；宇野賀津子（パスツール医学研）；武曾恵理（北野病院）；三浦典子、大野尚仁（東京薬大）]

V. サイトカイン LECT2 の解析

(1) LECT2 ノックアウトマウスでの骨の解析

LECT2 はコンドロモジュリン II としても知られ、軟骨細胞、骨芽細胞の増殖を促進することが報告されている。そこで、LECT2 ノックアウトマウスの骨の解析を行った。全身の骨格について異常は見られなかったが、大腿骨骨端部の骨形態計測により LECT2 ノックアウトマウスでは野生マウスに比べ海綿骨の密度が低いことが明らかとなった。その理由の 1 つとして破骨細胞の数の増加が考えられた。

[山越　智、鈴木和男]

(2) 発生における LECT2 の発現と血中濃度の変化

LECT2 はヒト、マウスの胎児、成体の組織では肝臓特異的発現をすることが分かっている。mRNA の発現を

調べたところ胎生 11.5 日の胎児肝ですでに発現しており、その発現は出産後低下するがその後も恒常的に発現することが分かった。また、血中 LECT2 濃度は誕生直後、10ng/ml 程度だったものが、次第に増加し 8 日後には約 200ng/ml にまで上昇するが、その後低下し、8 週齢あたりで 60-80ng/ml の濃度で安定することが分かった。

[山越　智、鈴木和男]

(3) マウス脳における LECT2 の発現解析

昨年度にひきつづき、LECT2 の脳での役割を検討した。ヒト脳には、LECT2 の発現が確認されているところから、マウス脳での LECT2 発現を *in situ* hybridization により、発現部位を調べ、海馬付近に強く発現しているのを確認した。また、*in situ* と免疫組織染色により LECT2 の脳での mRNA 発現および局在を検討した。

[山越　智、鈴木和男；輿水洋平、大富美智子（東邦大・理）]

VI. ゲノム情報に基づく創薬と薬剤耐性に関する研究

１．ゲノム情報に基づく創薬に関する研究

(1) *Nocardia farcinica* IFM 10152 のシデロフォア nocobactin に関して

IFM 10152 株のゲノム解析の結果、*Mycobacterium tubeculosis* の生産するシデロフォアである mycobactin の生合成遺伝子クラスターと相同性の高いクラスター（nbt クラスター）の存在が明らかになり、mycobactin と類似したシデロフォアを生産している可能性が示唆された。そこで、本菌株からシデロフォアの単離を行い、その活性、化学構造およびその遺伝子クラスターとの関係を解析した。その結果、mycobactin 類縁化合物である nocobactin NA の生産を確認した。nocobactin NA の化学構造は、nbt クラスターにコードされているペプチド合成酵素のドメイン解析から予想される基質とよく一致し、本菌株における nbt クラスターが、nocobactin NA の生合成遺伝子であることが強く示唆された。

[星野泰隆、石川　淳、三上　襄（千葉大）、深井俊夫（東邦大）]

(2) コウモリグアノから分離された放線菌が生産する抗生物質のスクリーニング

81 株を 3 種類の培地によって培養し、そのアセトン抽出物の抗菌活性をディスク法により調べたところ、38 株から何らかの抗菌物質が検出され、そのうち 5 株からは抗真菌物質が検出された。また、放線菌ゲノム情報に基づいて設計された放線菌属の判別を可能とする PCR プライマーを用いて調べた結果、81 株中 59 株が *Streptomyces* 属であると考えられ、他は希少放線菌属であると考えられた。

[石川　淳、岡村好倫（ニムラジェネティックソリューションズ）]

(3) *Streptomyces griseus* IFO 13350 のゲノム塩基配列の決定

ストレプトマイシン生産菌 *S. griseus* のゲノム塩基配列の決定をホールゲノムショットガン法を用いて行い、53 個の contig(1kb 以上)からなるドラフト配列を得た。

[石川 淳、大西康夫（東京大学）、堀之内末治（東京大学）、山下敦士（北里生命科学研究所）、服部正平（北里生命科学研究所）]

２．薬剤耐性に関する研究

(1) MRSA におけるアルベカシン耐性化機構の解析

アルベカシン感受性臨床分離 MRSA 株の single cell isolates 39 株について、アルベカシン濃度勾配培地を用い、アルベカシンに対する耐性度が 4〜>100 倍上昇した株を取得した。これら全ての耐性株はアルベカシンに対するアセチル化、リン酸化修飾活性が上昇していた。サザンブロッティングにより染色体上の二機能酵素遺伝子を検出した結果、親株と耐性化株ではバンドサイズが異なり、また耐性株間では類似のパターンを示した為、アルベカシン耐性株の二機能酵素遺伝子周辺領域で同様のゲノムの再編成が起こっている可能性が示唆された。現在、二機能酵素遺伝子発現との関連を検討中である。

[石野敬子、勝又義法、石川　淳]

(2) 二機能酵素の蛋白質立体構造解析

アミノグリコシド耐性に関わる二機能酵素はアミノグリコシドアセチル化およびリン酸化の 2 種類の活性を有

するユニークな蛋白質である。この二機能酵素の修飾機構およびアルベカシン耐性化への関与について立体構造的に検討するために、野生型二機能酵素、アルベカシン耐性化株から分離したリン酸化修飾活性の上昇した変異型酵素、およびアセチル化活性の上昇した変異型酵素について、カナマイシン・アフィニティークロマトグラフィーを用いて大量精製を行なった。

[石野敬子、額賀路嘉（城西国際大学）]

(3) コアグラーゼ血清型別とコアグラーゼ遺伝子構造との比較

前年度までに､アミノグリコシド耐性 MRSA の分類として、コアグラーゼ遺伝子（*coa*）3 ' 末端繰返し領域 PCR-*AluI* RFLP の有用性を示してきた。臨床分離株（285 株）を用い、31 種類の coa3 ' PCR-*Alu*I RFLP に加え、5 ' 可変領域の遺伝子配列を利用した分類（13 種）との比較を行なった結果、これらの遺伝子配列による分類と 8 種の血清型との対応が認められた。

[石野敬子、土崎尚史（日本微生物クリニック)、勝又義法]

(4) *Nocardia farcinica* IFM 10152 の *rpoB2* 遺伝子のリファンピシン耐性への関与

IFM 10152 株のゲノム解析により見出された RNA ポリメラーゼβサブユニット遺伝子のパラログである *rpo*B2 の機能を解析するために、*rpoB2* 遺伝子を *Streptomyces lividans* TK21 において発現させたところ､リファンピシン耐性の上昇(約 2 倍)が観察された。

[石川　淳、武田健二郎]

VII. 我が国における輸入真菌症のサーベイランス

(1) 輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究

ア. 輸入真菌症のサーベイランス

輸入真菌症は病原性がきわめて強い地域流行性の深在性真菌症である。海外流行地域への渡航により感染し、帰国後に発症する症例が増加している。過去の発生総数はコクシジオイデス症 42 例、ヒストプラスマ症 43 例、パラコクシジオイデス症 18 例である。このうち 2004 年度はコクシジオイデス症 5 例、ヒストプラスマ症 3 例が発生し、パラコクシジオイデス症その他の輸入真菌症の報告はなかった。

イ. 我が国のヒストプラスマ症に関する調査

国内発生が疑われるヒストプラスマ症について、各地の鍾乳洞、風穴などのコウモリの生息する洞窟から採取したグアノサンプルからヒストプラスマの分離を試み、そのような環境に接する機会の多い洞窟探検家の血清中の抗ヒストプラスマ抗体価を測定した。その結果、ヒストプラスマは検出されず、洞窟探検家および非洞窟探検家対照から抗ヒストプラスマ抗体は検出されなかった。従って、我が国の洞窟環境がヒストプラスマに汚染されている可能性は低いものと考えられた。

ウ. コウモリグアノ中の菌相解析

調査した約 80%の洞窟から *Trichosporon* が分離され、7 種の新種が含まれていた。*Trichosporon* は夏型過敏性肺臓炎の原因抗原であり、入洞に伴う呼吸器症状との関連性を明らかにするため、入洞経験者と未経験者の血清中抗 *Trichosporon* 特異抗体を測定した。入洞経験者は未経験者に比べて有意に高い抗体価を示した。しかし、ある地方の入洞未経験者は経験者と差がなかった。グアノから分離された *Trichosporon* 株の血清型と入洞者血清の特異抗原への反応性には相関性が認められたことから、入洞者は *Trichosporon* 抗原に感作されていると推定された。

[上原至雅、鈴木和男、新見昌一；亀井克彦（千葉大真菌医学研究センター)、菊池　賢（東京女子医大・感染対策科)、槙村浩一（帝京大医真菌研究センター)、渋谷 和俊（東邦大学医学部・病院病理学研究室)、上　昌広（国立がんセンター中央病院・薬物療法部）杉田　隆（明治薬科大学・微生物学教室）]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1)　Niimi, M., Niimi, K., Takano, Y., Holmes, A.R., Fischer, F.J., Uehara, Y. and Cannon R.D.: Regulated overexpression of *CDR1* in *Candida albicans* confers multidrug resistance. J. Antimicrob. Chemother. 54:　999-1006, 2004.

2)　Kaneko, A., Umeyama, T., Hanaoka, N., Monk, B.C., Uehara, Y. and Niimi, M.: Tandem affinity purification of the

Candida albicans septin protein complex. Yeast 21: 1025-1033, 2004.

3) Niimi, K., Harding, D.R.K., Parshot, R., King, A., Lun, D.J., Decottignies, A., Niimi, M., Lin, S., Cannon, R.D., Goffeau, A. and Monk, B.C.: Chemosensitization of fluconazole resistance in *Saccharomyces cerevisieae* and pathogenic fungi by a D-octapeptide derivative. Antimicrob. Agents Chemother. 48: 1256-1271, 2004.

4) Niimi, M., Wada, S., Tanabe, K., Kaneko, A., Takano, Y., Umeyama, T., Hanaoka, N., Uehara, Y., Lamping, E., Niimi, K., Tsao, S., Holmes, A.R., Monk, B.C. and Cannon, R.D.: Functional analysis of fungal drug efflux transporters by heterologous expression in *Saccharomyces cerevisiae*. Jpn. J. Infect. Dis. 58: 1-7, 2005.

5) Umeyama, T., Kaneko, A., Nagai, Y., Hanaoka, N., Tanabe, K., Takano, Y., Niimi, M. and Uehara, Y.: *Candida albicans* protein kinase CaHsl1p regulates cell elongation and virulence. Mol. Microbiol. 55: 381-395, 2005.

6) Wada, S., Tanabe, K., Yamazaki, A., Niimi, M., Uehara, Y., Niimi, K., Lamping, E., Cannon, R.D. and Monk, B.C.: Phosphorylation of *Candida glabrata* ATP-binding cassette transporter Cdr1p regulates drug efflux activity and ATPase stability. J. Biol. Chem. 280: 94-103, 2005.

7) Kobayashi, T., Ikeno, S., Hosokawa, N., Uehara, Y., Hori, M. and Tsuchiya, K.: Destruxin E, a cyclodepsipeptide antibiotic, reduces cyclin D1 levels and inhibits anchorage-independent growth of v-Ki-ras-expressed pMAM-ras-REF cells. Biol. Pharm. Bull. 27: 587-590, 2004.

8) Watanabe, F., Fukazawa H., Masutani, M., Suzuki, H., Teraoka, H., Mizutani, S., and Uehara, Y.: Poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibits ATM kinase activity in DNA damage response. Biochem. Biophys. Res. Commun. 319: 596-602, 2004.

9) Asano, T., Yoshikawa, T., Usui, T., Yamamoto, H., Yamamoto, Y., Uehara, Y. and Nakamura, H.: Benzamides and benzamidines as specific inhibitors of epidermal growth factor receptor and v-Src protein tyrosine kinases. Bioorg. Med. Chem. 12: 3529-3542, 2004.

10) Asano, T., Nakamura, H., Uehara, Y. and Yamamoto, Y.: Design, synthesis, and biological evaluation of aminoboronic acids as growth-factor receptor inhibitors of EGFR and VEGFR-1 tyrosine kinases. Chembiochem. 5: 483-490, 2004.

11) Asano, T., Yoshikawa, T., Nakamura, H., Uehara, Y. and Yamamoto, Y.: Synthesis and biological evaluation of benzamides and benzamidines: structural requirement of a pyrimidine ring for inhibition of EGFR tyrosine kinase. Bioorg. Med. Chem. Lett. 14: 2299-2302, 2004.

12) Noguchi, K., Fukazawa, H., Murakami, Y. and Uehara, Y.： Nucleolar Nek11 is a novel target of Nek2A in G1/S-arrested cells. J. Biol. Chem. 279: 32716-32727, 2004.

13) Fukazawa, H., Noguchi, K., Masumi, A., Murakami, Y. and Uehara, Y.： BimEL is an important determinant for induction of anoikis sensitivity by mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase kinase (MEK) inhibitors. Mol. Cancer Ther. 3: 1281-1288, 2004.

14) Suzuki, S., Honma, K., Matsuyama, T., Suzuki, K., Toriyama, K., Yamamoto, K., Miyazaki, K., Nakamura, M., Yu, K. and Kumatori, A.: Critical roles of Interferon regulatory factor-4 in $CD11b^{high}CD8\alpha$- dendritic cell development. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 101: 8981-8986, 2004.

15) Saito, T., Okumura, A., Watanabe, H., Asano, M., Ishida-Okawara, A., Sakagami, J., Sudo, K., Hatano-Yokoe, Y., Abo, T., Iwakura, Y., Suzuki, K. and Yamagoe, S.: Increase of Hepatic NKT Cells in LECT2-Deficient Mice Contributes to Severe Concanavalin A-Induced Hepatitis. J. Immunol. 173: 579-585, 2004.

16) Ishida-Okawara, A., Ito-Ihara, T., Muso E., Ono, T., Saiga, K., Nemoto, K. and Suzuki, K.: Neutrophil contribution to the crescentic glomerulonephritis in SCG/Kj mice. Nephrol. Dial. Transplant. 19: 1708-1715, 2004.

17) Shiohara, A., Hoshino, A., Hanaki, K., Suzuki, K. and Yamamoto, K.: On the cyto-toxicity caused by quantum dots. Microbiol. Immunol. 48: 669-676, 2004.

18) Ito, M., Nagata, N., Yumoto, F., Yamagoe, S., Suzuki, K., Adachi, K. and Tanokura, M.: ^{1}H, ^{13}C, ^{15}N resonance assignments of the cytokine LECT2. J. Biomol. NMR 29: 543-544, 2004.

19) Ovejero, C., Cavard, C., Perianin, A., Hakvoort, T., Vermeulen, J., Godard, C., Fabre, M., Chafey, P., Suzuki, K.,

Romagnolo, B., Yamagoe, S. and Perret, C.: Identification of the leukocyte cell-derived chemotaxin2 (LECT2) as a direct target gene of s-catenin in the liver. Hepatology 40: 167-176, 2004.

20) Suzuki, K., Muso, E. and Nauseef, W.: Contribution of Peroxidases in Host-defense, Diseases and Cellular Functions. Jpn. J. Infect. Dis. 57: S1-2, 2004.

21) Suzuki, K. and T. Okazaki.: Contribution of myeloperoxidase in vasculitis development. Jpn. J. Infect. Dis.57: S2-3, 2004

22) Muso, E., Ito-Ihara, T., Ono, T., Imai, E., Yamagata, K., Akamatsu, A. and Suzuki, K.: Intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy in MPO-ANCA related polyangiitis with rapidly progressive glomerulonephritis in Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 57: S17-18, 2004.

23) Kameoka, Y., Persad, A.S. and Suzuki, K.: Genomic variations in myeloperoxidase gene in the Japanese population. Jpn. J. Infect. Dis. 57: S12-13, 2004

24) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M., Maeda, N. and Koyama, H.: In vivo role of myleloperoxidase for the host defense. Jpn. J. Infect. Dis. 57: S15, 2004.

25) Hoshino, A., Fujioka, K., Oku, T., Suga, M., Sasaki, Y.F., Ohta, T., Yasuhara, M., Suzuki, K. and Yamamoto, K.: Physicochemical Properties and Cellular Toxicity of Nanocrystal Quantum Dots Depend on their Surface Modification. Nano Letters 4: 2163-2169, 2004.

26) Hoshino, A., Fujioka, K., Oku, T., Suga, M., Nakamura, S., Yamaguchi, Y., Suzuki, K., Yasuhara, M. and Yamamoto, K.: Quantum Dots Targeted to the Assigned Organelle in Living Cells. Microbiol. Immunol. 48: 669-675, 2004.

27) Nagi-Miura, N., Shingo , Y., Adachi, Y., Ishida-Okawara, A., Oharaseki, T., Takahashi, K., Naoe, S., Suzuki, K. and Ohno, N.: Induction of Coronary Arteritis with Administration of CAWS (*Candida albicans* Water-Soluble Fraction) Depending on Mouse Strains. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 26: 527–543, 2004.

28) Sato, Y., Watanabe, H., Kameyama, H., Kobayashi, T., Yamamoto, S., Takeishi, T., Hirano, K., Oya, H., Nakatsuka, H., Watanabe, T., Kokai, H., Yamagoe, S., Suzuki, K., Oya, K., Kojima, K. and Hatakeyama, K.: Serum LECT2 level as a prognostic indicator in acute liver failure. Transplant Proc. 36: 2359-2361, 2004.

29) Oharaseki, T., Kameoka, Y., Kura, F., Persad, A.S., Suzuki, K. and Naoe, S.: Susceptibility loci to coronary arteritis in animal model of Kawasaki disease induced with *Candida albicans*-derived substances. Microbiol. Immunol. 49: 181-189, 2005.

30) Ishikawa, J., Yamashita, A., Mikami, Y., Hoshino, Y., Kurita, H., Hotta, K., Shiba, T. and Hattori, M.: The complete genomic sequence of *Nocardia farcinica* IFM 10152. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 101: 14925-14930, 2004.

31) Kageyama, A., Hoshino, Y., Watanabe, M., Yazawa, K. and Mikami, Y.: Clinical isolates of *Nocardia brasiliensis* from Japan exhibit variable susceptibility to the antibiotic imipenem. Mycopathologia 158: 275-278, 2004.

32) Hoshino, Y., Mukai, A., Yazawa, K., Uno, J., Ishikawa, J., Ando, A., Fukai, T. and Mikami, Y.: Transvalencin A, a Thiazolidine Zinc Complex Antibiotic Produced by a Clinical Isolate of *Nocardia transvalensis*. I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. J. Antibiotics 57: 797-802, 2004.

33) Hoshino, Y., Mukai, A., Yazawa, K., Uno, J., Ando, A., Mikami, Y., Fukai, T., Ishikawa, J. and Yamagushi, K.: Transvalencin A, a Thiazolidine Zinc Complex Antibiotic Produced by a Clinical Isolate of *Nocardia transvalensis*. II. Structure Elucidation. J. Antibiotics 57: 803-807, 2004.

34) Ishiyama, H., Hashimoto, A., Fromont, J., Hoshino, Y., Mikami, Y. and Kobayashi, J.: Halichonadins A-D, new sesquiterpenoids from a sponge *Halichondria* sp. Tetrahedron 61: 1101-1105, 2005.

35) Sakagami, H., Ishihara, M., Hoshino, Y., Ishikawa, J., Mikami, Y. and Fukai, T.: Cytotoxicity of nocobactins NA-a, NA-b and their ferric complexes assessed by semiempirical molecular orbital method. In Vivo 19: 277-82, 2005.

36) Tsuda, M., Yamakawa, M., Oka, S., Tanaka, Y., Hoshino, Y., Mikami, Y., Sato, A., Fujiwara, H., Ohizumi, Y. and Kobayashi, J.: Brasilibactin A, a Cytotoxic Compound from Actinomycete *Nocardia brasiliensis*. J. Nat. Prod. 68: 462-464, 2005.

37) Ishino, K., Ishikawa, J., Ikeda, Y., and Hotta, K.: Characterization of a bifunctional aminoglycoside-modifying enzyme with novel substrate specificity and its gene from a clinical isolate of methicillin-resistant *Staphylococcus* aureus with high arbekacin resistance. J. Antibiotics 57: 679-686, 2004.

２．和文発表

1) 新見昌一：深在性真菌症、感染症の事典、国立感染症研究所学友会編、朝倉書店 2004.

2) 新見昌一 :真菌性髄膜炎、最新版家庭医学大全科 法研 2004.

3) 新見昌一：薬剤耐性遺伝子のパン酵母における発現と機能解析、日本医真菌学雑誌 45, 63-69, 2004.

4) 新見昌一：その他の真菌感染症、ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御、倉田 毅・編 同文書院 2005.

5) 上原至雅、村上裕子、深澤秀輔：プロテインキナーゼ阻害活性の検定、特集：抗がん剤探索のバーチャル研究所-文科省がん特定領域における抗がん剤スクリーニング-、癌と化学療法、31、491-494、2004.

6) 上原至雅：図説分子標的治療の標的分子、特集：癌の分子標的治療–最新の治療戦略–、日本臨床 62 巻第 7 号、1206-1208、2004.

7) 上原至雅：分子標的としての増殖因子レセプター、最先端の癌研究と治療の新展開、編集/黒木登志夫、珠玖洋、実験医学（羊土社）, 22 巻 14 号（増刊）62（1960）-68（1966）2004.

8) 長尾朋和、村山 研、越尾 修、大野尚仁、三浦典子、高橋 啓、馬渕綾子、南谷晴之、鈴木和男：腎臓血管傷害のイメージング、PharmaMedica22: 185-189, 2004.

9) 鈴木和男: バイオイメージングが切り開く新たな診断・治療評価技術、医学のあゆみ 210 巻 171.

10) 長尾朋和、鈴木和男: 血管炎初期反応のイメージング、医学のあゆみ 210 巻 196-199.

11) 大川原明子、猪原登志子、武曾恵理、小野孝彦、雑賀寛、根本久一、鈴木和男：糸球体腎炎の発症、進行における好中球活性化の役割 –SCG/Kj マウスを用いた解析-腎とフリーラジカル 第 7 集 66-72、東京医学社 2004.

12) 石野敬子: β-ラクタム系抗生物質、畜産技術 12 月号 pp42, 2004.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Watanabe, F., Fukazawa, H., Masutani, M., Suzuki, H., Teraoka, H., Mizutani, S. and Uehara, Y.: Poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibits ATM kinase activity in DNA damage response. The 53rd Fujihara Seminar (formerly called as the Oji Seminar until 1998) on the title of "New Challenges in Research of ADP-ribose Metabolism" at Grand Hotel New Oji, July 26 – 29, 2004, Tomakomai.

2) Uehara, Y., Murakami, Y. and Fukazawa, H.: Targetng kinase in the discovery of anticancer drugs. The 9th International Symposium on Cancer Chemotherapy December 2, 2004, Tokyo.

3) Fukazawa, H., Noguchi, K., Murakami, Y. and Uehara, Y.: BimEL is an important determinant for induction of anoikis sensitivity by MEK inhibitors. American Society for Cell Biology 44th Annual Meeting. December 4-8, 2004, Washington DC, USA.

4) Suzuki, K., Muso, E., Kobayashi, S., Ito-Ihara, T., Scott, D., Watts, R., Flossmann, O., Lane, S. and Jayne, D.: Japan-UK Vasculitis Epidemiology Study–First Meeting for Joint Project, Sep 28, 2004, Emmanuel College, Cambridge, UK.

5) Suzuki, K., Muso, E., Nauseef, W.M.: Contribution of peroxidases in host-defense, diseases and cellular functions. The 4th International Peroxidase Meeting, Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Oct 27-30, 2004, Kyoto.

6) Suzuki, K. and Okazaki, T.: Contribution of myeloperoxidase in vasculitis development. The 4th International Peroxidase Meeting, Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Oct 27-30, 2004, Kyoto.

7) Muso, E., Ito-Ihara, T., Ono, T., Imai, E., Yamagata, K., Akamatsu, A. and Suzuki, K.: Intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy in MPO-ANCA related polyangiitis with rapidly progressive glomerulonephritis in Japan 2004. The 4th International Peroxidase Meeting, Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Oct 27-30, 2004, Kyoto.

8) Kameoka, Y., Persad, A.S. and Suzuki, K.: Genomic variations in myeloperoxidase gene in the Japanese population. The 4th International Peroxidase Meeting, Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Oct27-30, 2004, Kyoto.

9) Ito-Ihara, T., Ishida-Okawara, A., Muso, E., Liu, N., Saiga, K., Nemoto, K., Suzuki, K., Kita, T. and Ono, T.: SCG/Kj Mice, a Model of ANCA-Associated Cescentic Glomerulonephritis, Develop Cescent Formation through Neutrophil Activation and Fibrin Precipitation. The 4th International Peroxidase Meeting, Oct27-30, 2004, Kyoto.

10) Okawara, A., Miura, N., Oharaseki, T., Ohno, N., Takahashi, K., Okamura, H. and Suzuki, K.: Effect of Arteritis Inducer, *C. albicans* Water-Soluble Mannoprotein-β-Glucan Complex (CAWS), on Neutrophil Activation in Mouse. The 4th International Peroxidase Meeting , Oct 27-30,2004, Kyoto.

11) Tachikawa, H., Okawara, A., Tokunaka, K., Aizawa, Y. and Suzuki, K.: Cytokine Levels of Serum and Immunological Properties in the Spleen during Developing Glomerulonephritis Associated with MPO-ANCA in SCG/Kj Mice. The 4thInternational Peroxidase Meeting, Oct27-30, 2004, Kyoto.

12) Yumura, W., Itabashi, M., Ishida-Okawara, A., Yamashita, J., Kaneshiro, Y., Nihei, H. and Suzuki, K.: A Novel Model Mouse of MPO-ANCA-Associated Glomerulonephritis with Increased Neutrophil Contribution. The 4th International Peroxidase Meeting, Oct 27-30, 2004, Kyoto.

13) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M., Maeda, N. and Koyama, H.: In vivo role of myleloperoxidase for the host defense. The 4th international Peroxidase Meeting, Oct 27-30, 2004, Kyoto.

14) Hoshino, A., Ishida-Okawara, A., Ito-Ihara, T., Muso, E., Yasuhara, M., Dohi, T., Yamamoto, K. and Suzuki, K.: Fluorescent labeling of cells and biomolecules with nanocrystal quantum dots-MPO expressed on surface of activated neutrophils with Quantum dot-conjugated antibody. The 4th International Peroxidase Meeting, Oct 27-30, 2004, Kyoto.

15) Ito-Ihara, T., Ishida-Okawara, A., Liu, N., Hiasa, S., Saiga, K., Nemoto, K., Kita, K., Muso, E., Suzuki, K. and Ono, T.: SCG/kj mice, a model of ANCA-associated crescentic glomerulonephritis, develop crescent formation through neutrophil activation, tissue factor expression and fibrin precipitation. International Symposium on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb 8, 2005, Tokyo.

16) Takahashi, K., Oharaseki, T., Naoe, S., Miura, N., Ohno, N., Murayama, K., Okawara, A. and Suzuki, K.: The effect of human immunoglobulin (h-IG) in mice vasculitis model caused by CAWS. International Symposium on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb 8, 2005, Tokyo.

17) Yumura, W., Itabashi, M., Ishida-Okawara, A., Yamashita, J., Kaneshiro, Y., Nihei, H. and Suzuki, K.: A Novel Model Mouse of MPO-ANCA-Associated Glomerulonephritis with Increased Neutrophil Contribution. International Symposium on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb 8, 2005, Tokyo.

18) Yasuda, H. and Suzuki, K.: Modeling on social spread from immunity. International Symposium on Trends in Transmission Models for Infectious Diseases. 2005 Modeling Biology Focusing on Social Risk Assessment, Feb 15, 2005, Tokyo.

19) Adachi, H., Kondo, K., Doi, H., Kojima, F., Ishino, K., Hotta, K., Umezawa, Y. and Nishimura, Y.: Synthesis and biological activity of CMP-KDO synthetase inhibitors in lipopolysaccaride biosynthesis of Gram-negative bacteria. World Conference on Magic Bullets - To Celebrate Paul Ehrlich's 150th Birthday, Sep 9-11, 2004, Nürnberg, Germany.

2. 国内学会等

1) 上野圭吾、花岡 希、梅山 隆、上原至雅、新見昌一：病原性真菌 *Candida albicans* における蛋白質脱リン酸化酵素をコードする *CaYVH1* の機能解析 第 77 回日本細菌学会、平成 16 年 4 月 1-3 日、大阪

2) 花岡 希、梅山 隆、上野圭吾、上原至雅、新見昌一：二形性真菌 *Candida albicans* におけるプロテイン

フォスファターゼの網羅的遺伝子破壊　第 77 回日本細菌学会、平成 16 年 4 月 1-3 日、大阪

3) 新見昌一、金子亜希、梅山　隆、上原至雅：出芽酵母を用いた *Cryptococcus neoformans* ABC 輸送体 CneMdr1p の機能発現とアゾール剤耐性　第 77 回日本細菌学会、平成 16 年 4 月 1-3 日、大阪

4) 下川　修、根津尚史、新見昌一：*Candida albicans* ステロール 14 位脱メチル化欠損株における酢酸塩による細胞死の機序　第 77 回日本細菌学会総会、平成 16 年 4 月 1-3 日、大阪

5) 新見昌一：真菌の薬剤耐性機構　第 57 回日本細菌学会九州支部総会特別講演　平成 16 年 9 月 3-4 日、福岡

6) E Lamping、BC Monk、M Niimi、RD Cannon：Genetic tools for functional hyper-expression of membrane proteins in *Saccharomyces cerevisiae*　第 37 回酵母遺伝学フォーラム　平成 16 年 9 月 9-11 日、島根

7) 田辺公一、和田俊一、山崎亜希子、新見昌一、上原至雅、K Niimi、E Lamping、RD Cannon、BC Monk：*Candida glabrata* の ABC タンパク質 Cdr1p のリン酸化は薬剤排出活性と ATP 加水分解活性を調節する 第 37 回酵母遺伝学フォーラム　平成 16 年 9 月 9-11 日、島根

8) 金子亜希、梅山　隆、上原至雅、新見昌一：*Candida albicans* における TAP 法を用いたタンパク質複合体精製法の確立　第 37 回酵母遺伝学フォーラム　平成 16 年 9 月 9-11 日、島根

9) 梅山　隆、新見昌一、上原至雅：病原性真菌 *Candida albicans* の *CDC28* 発現抑制による形態変換への影響：第 37 回酵母遺伝学フォーラム、平成 16 年 9 月 9-11 日、島根

10) 花岡　希、梅山　隆、上野圭吾、上原至雅、新見昌一：二形性真菌 *Candida albicans* における CaYVH1 プロテインフォスファターゼの解析　第 37 回酵母遺伝学フォーラム、平成 16 年 9 月 9-11 日、島根

11) E. Lamping, BC Monk, AR Holmes, K Niimi, S Tsao, K Nakamura, M Niimi, RD Cannon : A membrane protein hyper-expression system and its application in the search for new antifungal drugs 第 48 回日本医真菌学会総会、平成 16 年 9 月 25-26 日、横浜

12) 新見昌一：酵母を利用した病原真菌遺伝子の機能解析と創薬へのアプローチ　第 48 回日本医真菌学会総会シンポジウム　平成 16 年 9 月 25-26 日、横浜

13) 根岸由美子、梅山　隆、新見昌一、梶原　将、村山琮明：*Candida albicans* の脂肪酸不飽和化酵素の解析　第 48 回日本医真菌学会総会、平成 16 年 9 月 25−26 日、横浜

14) 田辺公一、和田俊一、山崎亜希子、K Niimi、E Lamping、RD Cannon、BC Monk、上原至雅、新見昌一：病原真菌 *Candida glabrata* の ABC タンパク質 Cdr1p のリン酸化は薬剤排出活性と ATP 加水分解活性を調節する　第 27 回日本分子生物学会年会、平成 16 年 12 月 8-11 日、神戸

15) 根岸由美子、村山琮明、梅山　隆、新見昌一、生方公子、梶原　将：*Candida albicans* 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子破壊株の作製と機能解析　第 6 回真菌症フォーラム、平成 17 年 1 月 29 日、東京

16) 上原至雅：創薬を考える：わが国の抗がん剤の研究開発を活発にするために「基礎研究者からの提言：微生物のリード探索の研究開発から」第 63 回日本癌学会総会シンポジウム　平成 16 年 9 月 29 日、福岡

17) 上原至雅：癌化シグナル抑制物質の探索から創薬へ　梅澤濱夫博士生誕 90 周年記念講演会「癌・感染症との闘い」　平成 16 年 10 月 1 日、東京

18) 村上裕子、山越　智、深澤秀輔：カポジ肉腫ウイルスの遺伝子 LANA の機能解析。第 52 回日本ウイルス学会学術集会総会、平成 16 年 11 月 21-23 日、横浜

19) 深澤秀輔、野口耕司、村上裕子、上原至雅：MEK 阻害剤による anoikis 感受性誘導　日本薬学会第 125 年会シンポジウム、平成 17 年 3 月 29-31 日、東京

20) 村山研、長尾朋和、鞍馬秀輝、長谷川明洋、船津高志、南谷晴之、新井孝夫、中山俊憲、鈴木和男：血管炎における活性化好中球の CD69 分子　第 34 回京都腎臓免疫研究会、平成 16 年 5 月 22 日、京都.

21) 宇野賀津子、猪原登志子、田原佐知子、田中麻理、米本智美、塚本達雄、深津敦司、鈴木和男、岸田綱太郎、武曾恵理：腎炎患者における末梢血リンパ球分画の IL12/IL18 への反応性の検討　第 34 回京都腎臓免疫研究会、平成 16 年 5 月 22 日、京都.

22) 猪原登志子、小野孝彦、深津敦司、北徹、鈴木和男、武曾恵理：ANCA 関連腎炎・血管炎に対するヒト免疫グロブリン(IVIg)治療 15 例における治療効果と６ヶ月予後の検討　第 47 回日本腎臓病学会学術総会、平成 16 年 5 月 27 日、栃木.

23) 大原関利章、横内　幸、若山　恵、三浦典子、鈴木和男、大野尚仁、直江史郎、村田久雄、高橋　啓：カンジダ誘導マウス動脈炎モデルにおける動脈炎成立過程の組織学的検討　第 93 回日本病理学会総会、平成 16 年 6 月 9－11 日、札幌.

24) 鈴木和男：活性化好中球による血管炎発症への関与―MPO-ANCA による糸球体内皮細胞傷害―　生体防御機能異常ワークショップ 2004、平成 16 年 6 月 17－18 日、沖縄.

25) 長尾朋和，松村実美子，馬渕綾子，越尾修，南谷晴之，鈴木和男：MPO-ANCA の糸球体内皮細胞への作用　生体防御機能異常ワークショップ 2004、平成 16 年 6 月 17－18 日、沖縄.

26) 荒谷康昭，倉　文明，渡辺治雄，高野幸枝，鈴木和男，小山秀機：ミエロペルオキシダーゼと真菌感染　生体防御機能異常ワークショップ 2004、平成 16 年 6 月 17－18 日、沖縄.

27) 荒谷康昭、倉　文明、渡辺治雄、高野幸枝、鈴木和男、小山秀機：ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスの生体防御能　第 26 回 日本フリーラジカル学会学術集会、平成 16 年 6 月 24－25 日、山形.

28) 大原関利章、高橋　啓、三浦典子、大川原明子、村山　研、土田和徳、金城義明、金子健二、大野尚仁、鈴木和男：川崎病類似マウス系統的動脈炎モデルにおけるヒト免疫グロブリンの治療効果の検討　第 40 回日本小児循環器学会総会、抄録、平成 16 年 6 月 30 日－7 月 2 日、東京.

29) 村山研、長尾朋和、鞍馬秀輝、長谷川明洋、船津高志、南谷晴之、新井孝夫、中山俊憲、鈴木和男：血管炎における活性化好中球の CD69 分子　第 15 回日本生体防御学会、平成 16 年 7 月 8－10 日、長崎.

30) 長尾朋和、松村実美子、馬渕綾子、越尾修、南谷晴之、鈴木和男：MPO-ANCA による糸球体内皮細胞の粘着分子 Up-regulation　第 15 回日本生体防御学会、平成 16 年 7 月 8－10 日、長崎.

31) 鈴木和男：免疫グロブリンの血管炎抑制効果と人工化　第 11 回代替血液学会、平成 16 年 7 月 13－14 日、札幌.

32) 大川原明子、三浦典子、大原関利章、高橋 啓、岡村春樹、大野尚仁、鈴木和男：「血管炎を誘導する CAWS 投与初期のマウス好中球活性化とサイトカインの変動　第６９回日本インターフェロン・サイトカイン学会、平成 16 年 7 月 29－31 日、三沢.

33) 小野孝彦、猪原登志子、劉寧、北徹、雑賀寛、根本久一、武曾恵理、大川原明子、鈴木和男：好中球活性化、活性酸素産生とフィブリン沈着を介した SCG/Kj マウスにおける半月体形成機序　第 16 回腎とフリーラジカル研究会、平成 16 年 9 月 11 日、京都.

34) Youhei Koshimizu, Satoshi Yamagoe, Kazuo Suzuki, and Michiko Ohtomi : "Expression and localization of LECT2 in mouse brain"（LECT2 のマウス脳での発現と局在）　第 27 回日本神経科学会・第 47 回日本神経化学会合同大会、平成 16 年 9 月 21－23 日、大阪.

35) 大原関利章、高橋　啓、山田仁美、三浦典子、大川原明子、村山　研、土田和徳、金城義明、金子健二、大野尚仁、直江史郎、鈴木和男：川崎病類似マウス系統的動脈炎モデルにおけるヒト免疫グロブリンの治療効果の組織学的検討　第 45 回日本脈管学会総会、平成 16 年 10 月 28－30 日、札幌.

36) 星野昭芳、村山研、大川原明子、猪原登志子、三浦典子、大野尚仁、安原正人、山本健二、鈴木和男：Quantum Dot 標識抗体による活性化好中球表面への MPO の表出の解析　　第 13 回バイオイメージング学会学術集会、平成 16 年 11 月 4－6 日、京都.

37) 山岸　舞、村山　研、坂本明彦、新井孝夫、鈴木和男、船津高志：斜光照明蛍光顕微鏡による好中球の CD69 分子の細胞膜表面移行のイメージング　第 13 回バイオイメージング学会学術集会、平成 16 年 11 月 4－6 日、京都.

38) 大原関利章、高橋　啓、三浦典子、大川原明子、村山　研、土田和徳、金城義明、金子健二、大野尚仁、鈴木和男：川崎病類似動脈炎モデルにおけるヒト免疫グロブリンの治療効果の検討　第 24 回日本川崎病研究会、平成 16 年 11 月 12－13 日、京都.

39) 大川原明子、三浦典子、大原関利章、高橋 啓、柏村信一郎、岡村春樹、大野尚仁、鈴木和男：血管炎を誘導する CAWS 投与初期のマウス好中球活性化とサイトカインの変動　第 34 回日本免疫学会総会、平成 16 年 12 月 1−3 日、札幌.

40) 太刀川　仁、大川原明子、徳中一寛、相澤義房、鈴木和男：MPO-ANCA 関連糸球体腎炎モデルマウスにおける脾臓腫大は血管炎進行に関わる　第 34 回日本免疫学会総会、平成 16 年 12 月 1−3 日、札幌.

41) 長尾朋和、松村実美子、馬渕綾子、越尾修、南谷晴之、鈴木和男：血管炎発症機構の解析;MPO-ANCA の血管内皮細胞への作用　第 34 回日本免疫学会総会、平成 16 年 12 月 1−3 日、札幌.

42) 村山研、長尾朋和、長谷川明洋、大原関利章、高橋啓、三浦典子、大野尚仁、南谷晴之、新井孝夫、中山俊憲、鈴木和男：血管炎における活性化好中球の CD69 分子　第 34 回日本免疫学会総会、平成 16 年 12 月 1−3 日、札幌.

43) 三川浩輝、亀岡洋祐、三浦典子、大野尚仁、鈴木和男：cDNA マイクロアレイによる血管炎惹起物質 *C. albicans* 由来菌体外多糖 CAWS 投与による脾細胞に発現する遺伝子解析　第 34 回日本免疫学会総会、平成 16 年 12 月 1−3 日、札幌.

44) 亀岡洋祐、伊東玲子、笠間　毅、鈴木哲朗、猪原登志子、武曾恵理、橋本雄之、鈴木和男：ミエロペルオキシダーゼのリーダーペプチド内の多型と炎症性疾患との関連　日本分子生物学会第 27 回年会、平成 16 年 12 月 8−11 日、神戸.

45) 伊東玲子、亀岡洋祐、Persad Amanda、池田文恵、仁保喜之、橋本雄之、鈴木和男：マロリーワイズ症候群患者で観察されたミエロペルオキシダーゼ欠損を起こす遺伝子変異　日本分子生物学会第 27 回年会、平成 16 年 12 月 8−11 日、神戸.

46) 三川浩輝、亀岡洋祐、三浦典子、大野尚仁、鈴木和男：cDNA マイクロアレイ解析による血管炎に関与する炎症性分子の遺伝子発現　日本分子生物学会第 27 回年会、平成 16 年 12 月 8−11 日、神戸.

47) 山岸　舞、村山　研、坂本明彦、新井孝夫、鈴木和男、船津高志：斜光照明蛍光顕微鏡による好中球の CD69 分子の細胞膜表面移行のイメージング　第 42 回日本生物物理学会、平成 16 年 12 月 13−15 日、京都.

48) 猪原登志子、古宮俊幸、宇野賀津子、田原佐知子、辻井知美、塚本達雄、岸田綱太郎、星野昭芳、山本健二、鈴木和男、小野孝彦、深津敦司、北徹、武曾恵理：MPO-ANCA 関連急速糸球体腎炎の血中サイトカインと活性化好中球の動態　第 8 回京都免疫ワークショップ学術集会、平成 17 年 2 月 12 日、大阪.

49) 篠原　弘靖, 星野　麻也, 三浦　典子, 安達　禎之, 鈴木　和男, 大野　尚仁：*Candida albicans* water-soluble fraction （CAWS） の血管炎惹起能における培養条件の影響　日本薬学会第 125 年会、平成 17 年 3 月 29 日-31 日、東京.

50) 木村聡一郎、石野敬子、石井良和、堀田国元、白戸克明、Jimena Alba, 山口惠三：本邦におけるメタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌の動向と分子遺伝的検討.　第 52 回化学療法学会総会、平成 16 年 6 月 3 日、4 日、宜野湾

51) 星野泰隆、向井　啓、矢沢勝清、宇野　潤、石川　淳、深井俊夫、三上　襄：病原性放線菌 *Nocardia transvalensis* の産生する亜鉛原子を含んだ新規抗真菌活性物質について. 日本放線菌学会 2004 年度大会、平成 16 年 7 月 1-2 日、淡路島

52) 星野泰隆、向井　啓、矢沢勝清、石川　淳、深井俊夫、三上　襄：　病原性放線菌 *Nocardia farcinica* IFM 10152 株の生産する病原性因子シデロフォアについて. 第 48 回日本医真菌学会総会、平成 16 年 9 月 25-26 日、横浜

53) 石野敬子、土崎尚史、勝又義法、石川淳、堀田国元：MRSA における AG 耐性動向～コアグラーゼ遺伝子型と血清型との比較～.　第 2 回薬剤耐性菌研究会、平成 16 年 11 月 12-13 日、伊香保

54) 石川　淳, 栗田晴代, 武田健二郎, 星野泰隆, 三上襄: 病原性放線菌 *Nocardia farcinica* における rpoB パラログのリファンピシン耐性への関与. 日本分子生物学会第 27 回年会, 平成 16 年 12 月 8-11 日, 神戸

55) 石川　淳, 池田治生, 大村　智, 大利　徹, 瀬戸治男,上原至雅：創薬ターゲットとしての放線菌ゲノム. 日本薬学会 125 年会シンポジウム, 平成 17 年 3 月 28-31 日, 東京

56) 深井俊夫、坂上宏、星野泰隆、石川 淳、三上 襄：

病原性放線菌 *Nocardia farcinica* IFM 10152 株の生産するシデロフォアの細胞毒性について．日本薬学会第125 年会、平成 17 年 3 月 28-31 日、東京

10.細胞化学部

部長　西島正弘

概　要

細胞化学部の目的は､「感染症その他の特定疾病に関する細胞化学的及び細胞生物学的研究に関することをつかさどる」ことであり、細菌、ウィルス、プリオン等の病原体による感染症の発症要因をその宿主細胞の面から解析する方向で研究に取り組んでいる。特に、病原体の感染とその生体防御の様々な局面において重要な役割を担っている宿主細胞膜の機能解明を当部の研究主軸にしている。更に、感染症の分子レベルからの基礎研究の成果に立脚して、疾病の予防、診断、治療のための応用研究も行っている。

当部での主要研究課題としている高等動物細胞の膜構造とその機能解析の遺伝生化学的･細胞生物学的研究は、感染症研究を含む医学・生物学分野での幅広い応用面を有する課題である。本年度も、ホスファチジルセリン（PS）の生合成機構とシンドビスウィルス増殖における役割、スフィンゴ脂質の代謝と機能、マラリア原虫の細胞内寄生体およびその宿主細胞における脂質代謝、C 型肝炎ウイルス感染における膜脂質代謝、マクロファージ活性化と生体防御機構の解明、がん化に伴う細胞膜変化の解明など、幅広い分野で数多くの成果を挙げた。

プリオンに関する研究では、プリオン病の早期診断法の開発や異常プリオン産生の分子機構に関する研究を行った。さらに、平成 13 年 12 月からウェスタンブロティング法による牛海綿状脳症(BSE)の行政検査を担当し、平成 16 年度は 28 件の確定検査を行った。また、平成 12 年度から開始された科学技術振興事業団重点研究支援課題「プロテオーム解析（プロテオミクス）による感染症研究」は、引き続き当部を主軸に順調に行われた。

西島は､厚生労働省の薬事･食品衛生審議会臨時委員、薬事バイオテクノロジー部会員、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の救済・審査・安全業務運営評議会　審査･安全業務委員会委員、GLP 評価委員会委員などの任を果たした。なお、北川隆之室長は平成 17 年 3 月 31 日付けで辞職し、岩手医科大学共同研究部門薬学研究センター教授に就任した。同氏の益々の研究発展と活躍を期待する次第である。

本年度も当研究部の研究に対し、経常研究費に加え、文部科学省、科学技術振興事業団（戦略的基礎研究推進事業)、HS 財団などから多くの研究費を頂く栄に浴した。

以下に本年度の研究成果を記す。

業　績

調査・研究

Ⅰ. 生体高分子の生化学的・物理化学的研究

1. C型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究

（1）C型肝炎ウイルスコアタンパク質と DDX1 分子の相互作用

C型肝炎ウイルス(HCV) コアタンパク質発現培養肝細胞を用い、脂肪滴構成タンパク質の網羅的解析から、ATPase/RNA ヘリカーゼである DDX1 分子の局在が特徴的に見られた。さらなる解析より、HCV コアタンパク質と DDX1 分子は複合体を形成し、その結合に HCV コアタンパク質 N 末端の５アミノ酸が重要であることが明らかとなった。さらに、DDX1 の ATPase 活性は、HCV コアタンパク質の存在下で顕著に増加することが明らかとなった。

［深澤征義、佐藤慈子、大澤智子、山河芳夫、西島正弘（細胞化学部）鈴木哲朗、宮村　達男（ウイルス２部)］

（2）C 型肝炎ウイルスのコア蛋白発現が培養肝細胞の脂質分子種組成に及ぼす効果について

C 型肝炎ウイルスのコア蛋白発現により肝脂肪化から肝癌発症へとつながる脂質代謝変動が示唆されている。本研究ではコア蛋白を発現する Huh7 培養肝細胞の脂質分子種組成をマススペクトロメトリーを用いて解析し、コア蛋白の発現により多価不飽和脂肪酸を含むホスファチジルエタノールアミン分子種が有意に減少することを

見い出した。コア蛋白の発現が肝脂質代謝の調節に重要な影響を与えていると思われる。機序解明に向け更に詳細な検討をおこなっている。

[田中康仁、矢部邦章、加藤健吾、佐藤慈子、深澤征義、西島正弘:鈴木哲朗、宮村達男（ウイルス２部): 田口　良(東京大学医学部メタボローム)]

2. プリオン病に関する研究

（１）プリオン病の発症過程におけるマウス脳のプロテオーム変動

マウス順化スクレーピー病原体（帯広１株）を接種したマウス脳を用いて異常型プリオンタンパク質（PrP^{sc}）の蓄積と相関して変動するタンパク質を経時的、網羅的に解析しつつある。既に、脳での PrP^{sc} の増加が顕著となる 100 日目以降で“Glial Fibrilary Acidic Protein (GFAP)の増加やvacuolar ATPase の A-subunitの減少などを明らかにして来た（平成１３年度年報)。本年度は更に解析を進めた結果、異常型プリオンタンパクの増加に伴って抗酸化ストレスタンパク質群の顕著な増加が認められ、PrP^{sc} の蓄積が何らかの酸化ストレスを細胞に与えていることが推定された。また、神経軸索の伸展に関わると考えられている CRMP-2 (Collapsin response mediator protein-2) のアイソマーが PrP^{sc} の増加に比例して増加していることなどが判った。

[大内史子、萩原健一、中村優子、山河芳夫]

（２）BSE 異常型プリオンの生体内分布（II）

ウシ海綿状脳症(BSE)に罹患している事が新たに確認された３頭のウシについて、病原体である異常型プリオンタンパク質（PrP^{BSE}）の生体内分布をウエスタンブロット法で検索した。前回の調査されたウシでは中枢神経系・神経節及び、自然感染例の BSE 例ではそれまでに感染性が無いとされている回腸遠位部で PrP^{BSE} が検出されていた。今回、調べた感染牛ではそれらの部位に加えて一部の末梢神経（腰神経、大腿神経）にも PrP^{BSE} が検出された。検出された PrP^{BSE} の量は中枢神経系の 1/1000 程度と微量ではあるが、食肉からの末梢神経の除去は事実上不可能である事を考えると正確な BSE 検査により感染したウシを食物連鎖から完全に排除することが重要であると思われる。

[山河芳夫、萩原健一、中村優子、樋口好美＊、佐多徹太郎＊]＊感染病理部

（３）コレステロール生合成阻害剤による異常型プリオン蛋白質産生の抑制についての研究

PrP^{sc} に感染しているマウス神経芽腫細胞 neuro 2a（ScN2a 細胞）を用いた研究から、コレステロール生合成経路の後期過程をつかさどる 24-デヒドロコレステロール還元酵素の阻害剤である U18666A が PrP^{C} から PrP^{sc} への変換を抑制することを見いだした。ED_{50} はおよそ 25nM であり、この値は、抗プリオン薬として治験が試みられているキナクリンの ED_{50} 値の 1/20～1/40 に相当する。U18666A で処理した ScN2a 細胞では、総コレステロール量の有意な低下は無く、また、コレステロール生合成の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素の mRNA 量の変動も認められなかった。一方、24-デヒドロコレステロール還元酵素の阻害によって蓄積が予想されるデスモステロールを培地に添加すると PrP^{sc} の産生が抑制された。このことから、U18666A の PrP^{sc} の変換抑制の機構は中間体であるデスモステロール等の（一過性の）増量を介している可能性が考えられた。U18666A は、中枢神経系のコレステロール生合成研究においてラット等の実験動物へ投与された過去の事例がある。今後、作用機作の検討を培養細胞レベルにおいて継続するとともに、個体レベルでの坑プリオン薬としての効果を検討する。

［萩原健一、中村優子、西島正弘、山河芳夫］

（４）プリオン病の発症に及ぼすプリオンタンパク質由来のペプチド（P9FD）の影響

PrP^{sc} に持続感染しているマウス神経芽腫細胞（ScN2a）においてプリオンタンパク質由来のペプチド P9FD の添加により PrP^{sc} の蓄積が強く阻害されることを明らかにしてきた(平成 14､15 年度)。本年度は､P9FD の抗プリオン薬として有効性を検討することを目的として、PrP^{sc} 感染マウスに P9FD を脳内接種し、発症、死亡するまでの期間を比較して P9FD の延命効果について検討した。結果、P9FD 非投与群では 168±4 日でプリオン病を発症、死亡したのに対し、PrP^{sc} 接種後 60 日目に P9FD を投与した群では 174±5 日、また、PrP^{sc} 接種

後120日目にP9FDを投与した群では181±5日であり、わずかながら生存日数の延長がみられた。今後、P9FDによる PrP^{sc} 分解の促進機構を明らかにすることにより、より効果的なプリオン病発症遅延効果が得られると期待される。

[中村優子、萩原健一、西島正弘、山河芳夫]

Ⅱ. エンドトキシンに関する研究

1. エンドトキシンによるマクロファージ活性化機構に関する研究

グラム陰性菌細胞壁由来のリポポリサッカライド（LPS）はしばしば致死的なエンドトキシンショックを引き起こすが、免疫反応を様々に誘導し賦活化することもまた知られている。ところで、LPSの活性部位であるlipid A の部分加水分解産物 monophosphoryl lipid A（MPL）はLPSと異なり細胞毒性が弱いこと、LPSによるエンドトキシンショックを抑制することなどが知られている。しかしながら、その分子メカニズムは未だ不明である。Caspase-1はこのエンドトキシンショックに関与していることから、我々はMPL刺激とCaspase-1活性の関係に着目し、マウスマクロファージのcaspase-1はlipid Aにより活性化されMPLでは活性化されない事をあきらかにしてきた。さらにcaspase-1の活性化に必須と報告されている caspase-11 遺伝子はlipid AとMPLのどちらの刺激でも活性化する事を明らかにしてきた。MPLはTLR-4を介したMyD88/NFκB経路を活性化する一方でLPSとは異なりcaspase-1の活性化に関わる未知の経路を活性化しないことが示唆された。以上の現象が種特異的な現象かどうかを検証する目的で、本年度に於いて我々はマクロファージに分化させた人由来 THP-1 細胞を利用した。その結果、マウスマクロファージと同様に MPL 刺激では caspase-1 の活性化による IL-1beta の産生は認められなかった。本研究では LPS と同一のレセプター（TLR-4）を介しながら、MPL が人とマウスどちらのマクロファージに対して異なる活性化パターンを示す事を明らかにした。本研究の結果は炎症性疾患の発症機構の解明に寄与することが期待される。

[桶本和男、川崎清史、西島正弘]

2. リピドA修飾とToll-like receptor認識に関する研究

サルモネラ菌などのグラム陰性病原細菌は宿主組織内で生存するためにリポ多糖などの表層成分の修飾を行いリモデリングすることが知られている。PmrCはホスホエタノールアミン転移酵素であり、リポ多糖リピドA部位のリン酸基のホスホエタノールアミン修飾を行う。本修飾と Toll-like receptor 認識との関りを解明するために、PmrCを大腸菌に強制発現させて修飾型リポ多糖を産生させて、ホスホエタノールアミン型リピドAを精製した。TLR4発現細胞株を精製リピドAで刺激してNF-κB活性化を測定したところ、非修飾型と修飾型では活性化の差は認められなかった。従って、ホスホエタノールアミン修飾によって宿主細胞による細菌認識は調節されないことが示唆された。

[川崎清史、西島正弘]

Ⅲ.生体膜の代謝・機能の解析とその感染症研究への応用

1. 動物培養細胞の膜変異株等を用いた膜機能の解析

1-1. 動物細胞におけるホスファチジルセリンの代謝及び生物学的役割に関する研究

（1）ホスファチジルセリンの生合成調節機構に関する研究

哺乳動物細胞のホスファチジルセリン（PS）合成酵素（PSS）にはPSS1及びPSS2の二種類が知られている。これら酵素が異なる既存リン脂質を基質とすることが明らかになっているが、基質特異性へのアシル鎖の関与を含め、合成される PS の分子種の異同についての知見は得られていない。そこで、これら酵素のどちらか一方のみ或いは双方を発現した CHO 細胞 PS のアシル鎖の相違について、質量分析法により解析を行った。その結果、いずれの細胞においても同様な分子プロファイルを示し、顕著な差は認められなかった。したがって、二種の酵素により合成される PS 分子種には顕著な違いがないか、或いは、合成された後リモデリング等により同様なプロファイルを示すものと考えられた。

[大沢智子、齊藤恭子、西島正弘；久下　理（九州大学大学院理学研究院）；田口　良（東京大学大学院医学研究科）]

（2）シンドビスウィルス（SINV）の遺伝子発現におけ

る宿主細胞膜ホスファチジルセリン（PS）の関与

SINV の遺伝子発現における PS の関与を詳細に調べるため、ウィルス構造遺伝子を lacZ 遺伝子に置換した SINV レプリコン RNA を CHO 細胞 PS 合成変異株に導入し、β−ガラクトシダーゼ産生量と同蛋白質をコードするサブゲノミック RNA 量、及び SINV レプリカーゼ量の時間変化を解析した。RNA 導入１５時間後、低 PS 含量の細胞ではβ−ガラクトシダーゼ発現量が PS 含量正常細胞の半分に低下したが、サブゲノミック RNA 量、及びレプリコン RNA から翻訳されるレプリカーゼ量にそのような低下は見られなかった。従って PS 含量の低下により、サブゲノミック RNA の翻訳が特異的に阻害されることが示唆された。サブゲノミック RNA が翻訳されるために必要な構造変化、あるいはリボソームへの輸送の過程に、PS が関与することが考えられた。

[齊藤恭子、西島正弘；久下　理（九州大学大学院理学研究院）]

1-2. 高等動物細胞におけるスフィンゴ脂質の代謝と機能に関する研究

（１）CERT によるセラミド膜間転移の分子種選択性

主要膜リン脂質の一つであるスフィンゴミエリン(SM)の生合成では，小胞体で合成されたセラミドがゴルジ体に移行して SM へと変換される．我々は、細胞内セラミド選別輸送の欠損 CHO 細胞変異株を分離し、その欠損遺伝子を同定する手法を通じて、セラミド選別輸送を担う特異的因子 CERT を発見し、CERT にはセラミドを小胞体から引き抜き、ゴルジ体へと渡す機能があることを昨年度までに明らかにした。

本年度は、人工膜を用いた膜間脂質転移アッセイによって CERT の基質選択性を詳細に解析した。その結果、CERT は、(1)セラミドの４つの立体化学異性体のうち、天然型の D-erythoro-セラミドのみを認識し、(2)スフィンゴシン、SM、コレステロールなどの他の脂質は認識できない。ただし、ジアシルグリセロールはわずかに認識する、(3)ジヒドロ型およびファイト型セラミドは認識し、また、様々なアミド鎖長のセラミドも認識することが明らかとなった。

[熊谷圭悟、花田賢太郎]

（２）CERT のセラミド結合比

短鎖の蛍光性セラミド類似体を基質として用いることで、CERT とセラミド基質との結合パラメーターを解析することを可能にした。そして、その解析結果から、CERT は、C5-DMB-セラミドを 1:1 の結合比で結合し、その見かけの解離定数は約 200 nM であることが明らかとなった。なお、細菌表層リポ多糖(LPS)の構造の一部がセラミドに類似していることが他の研究グループから示唆されているが、CERT と蛍光性 LPS との有意な結合は観察できなかった。

[熊谷圭悟、桶本和男、西島正弘、花田賢太郎]

（３）CERT のアンタゴニスト

我々は以前、セラミド輸送の選択的な阻害剤・(1R,3R)-HPA12 を開発していた。CERT 遺伝子に欠損をもつ CHO 細胞変異株で残存するセラミド-SM 変換が(1R,3R)-HPA12 処理によってさらに減少することはないが、この変異株に CERT cDNA 導入して回復したセラミド-SM 変換は、(1R,3R)-HPA12 によって回復前レベルにまで阻害された。さらに、人工膜を用いた膜間脂質転移測定系において、(1R,3R)-HPA12 は、CERT が触媒するセラミド転移を濃度依存的に阻害し、一方、HPA12 立体異性体などの対照実験では阻害は見られなかった。これらの結果から、(1R,3R)-HPA12 は CERT のアンタゴニストであると結論した。

[熊谷圭悟、安田智、花田賢太郎；小林修（東京大学薬学部）]

（４）CERT に存在する FFAT モチーフの役割

小胞体膜蛋白質の VAP と相互作用するペプチド配列モチーフが海外の研究グループによって示された。FFAT モチーフと名付けられたこの配列は、CERT 蛋白質の中央領域にも存在する。エピトープ付加した VAP および CERT を発現した細胞のジギトニン可溶化試料において、VAP は CERT と共免疫沈降され、それは CERT の FFAT モチーフの存在に依存した。また、生細胞中における CERT の小胞体-ゴルジ体セラミド輸送機能が、FFAT モチーフの変異によって損なわれた。これらの結果は、FFAT モチーフに依存した CERT と VAP の相互作用は、効率的な小胞体-ゴルジ体セラミド輸送に

重要であることを示唆している。
[河野美幸、花田賢太郎]

（５）光増感処理細胞における新合成セラミドの蓄積

光増感剤を用いた光動力学療法(PDT)処理によってアポトース死を起こしている細胞では、新合成されたセラミドが蓄積する。PDT 処理によって、スフィンゴミエリン合成酵素活性が減少し、新合成セラミドからスフィンゴミエリンへの変換が強く阻害されていた。一方、セラミド新合成の高進、セラミド分解の阻害、スフィンゴミエリン分解の高進は認められなかった。スフィンゴ脂質合成阻害剤処理によってセラミド新合成を阻害すると PDT 処理依存性のアポトースが抑制された。よって、PDT 処理によってセラミドから複合スフィンゴ脂質への変換が阻害されたためにセラミドが蓄積し、それがアポトース細胞死を起こす一因となっていると結論した。
[花田賢太郎； Vladislav Dolgachev, M. Sharjeel Farooqui, Olga I. Kulaeva, Michael Tainsky , Biserka Nagy, Duska Separovic(ユージン・アップルバウム薬学衛生科学大学)]]

（６）星状細胞の酸化ストレス感受性のセラミドによる高進

星状細胞において、過酸化水素処理によるアポトーシス死感受性がセラミド処理によって高まることを見出した。星状細胞をカンナビノイドに短期曝した場合、CB1 受容体依存性に細胞内のセラミドレベルが上昇して細胞死を誘発することが知られているが、数日間の長期処理をした場合は、セラミドレベル上昇はもはや起こらず、また、セラミドによる酸化ストレス感受性高進もなくなることを見出した。
[花田賢太郎; Arkaitz Carracedo, María Diez, Manuel Guzman, and Guillermo Velasco (コンプルテンス大学)； Math J.H. Geelen (ユトレヒト大学)]

（７）スフィンゴ脂質減少がコレシストキニン受容体に及ぼす影響

コレシストキニン(CCK)は、食餌栄養吸収の制御などに関与している消化管ペプチドホルモンであり、その受容体 CCKR は、G 蛋白質共役型受容体のひとつである。CCKR 発現細胞におけるコレステロールのレベルが減じると、CCKR の細胞内輸送には影響を与えずに、CCK の結合やシグナル伝達が減少した。一方、スフィンゴ脂質のレベルが減少すると、CCK の結合やシグナル伝達は正常であるが受容体の細胞内への取り込みが阻害された。CCKR の機能と動態はこれら２種類の膜脂質によって別々に制御されていることを示唆した。
[花田賢太郎； Kaleeckal G. Harikumar, Vishwajeet Puri, Raman Deep Singh, Richard E. Pagano, and Laurence J. Miller (メイヨークリニック)]

（８）ジフテリア毒素の細胞膜移動のスフィンゴ脂質による制御

膜受容体に結合したジフテリア毒素は酸性条件下でコンフォメーションを変えて宿主細胞の膜を越えて細胞質に侵入する。細胞のスフィンゴ脂質含有量が減少するとジフテリア毒素への感受性が高まることを見出し、この感受性の増加は、毒素の膜を横切る移動過程が促進されるためであると示唆した。
[花田賢太郎; Bjørn Spilsberg, Kirsten Sandvig (ノルウェー放射線病院)]

1-3. 脂肪滴形成欠損変異株の性状解析

脂肪滴はほぼ全ての細胞に認められるオルガネラで、エネルギー産生・膜脂質代謝などに関わっていると考えられているがその形成過程については不明な点が多い。我々は CHO 細胞より脂肪滴形成の欠損した細胞を分離しその性状解析を行った結果、変異株では脂肪酸合成の初発酵素アセチル CoA カルボキシラーゼ活性に欠損を有していることが明らかとなった。
［深澤征義、西島正弘］

２．抗感染症薬を指向した脂質代謝阻害剤の研究

（１）真菌イノシトールホスホセラミド合成酵素の阻害剤探索法

イノシトールホスホセラミド(IPC)関連脂質は、真菌類などには存在するが哺乳動物細胞には存在しない脂質群である。IPC 合成を司る酵素・IPCS は、真菌の生育に必須の遺伝子産物であり、その阻害剤は新たな抗真菌剤候補として注目されるが、ハイスループット化に適した

IPCS 活性アッセイ法の報告はなかった。我々は、放射性短鎖セラミド・[^{3}H]C_2-ジヒドロセラミドを基質として酵素反応を行い、96 チャネル分注ヘッドの自動分注器を用いて、酵素反応液を同心円状に TLC 展開することで未反応の反応基質と反応生成物を分離し、酵素活性を 96 穴フォーマットで検出できるスクリーニング系を構築した。これにより比較的多量な検体をスクリーニングにかけることが可能となった。

[花田賢太郎、西島正弘；田端祐二、南達哉、大山真、大澤福市、星子繁（明治製菓）]

（２） IPCS 阻害剤候補物質の評価系の構築

哺乳動物由来のスフィンゴミエリン合成酵素(SMS)遺伝子が同定され、少なくとも 2 種類の遺伝子産物(SMS-1, SMS-2)がそれぞれにホスファチジルコリン(PC)からホスホコリンをセラミドに転移して SM を合成する反応を触媒する活性を持つことが示された。そこで、IPCS 阻害剤候補の特異性を予備的に評価する実験系として、IPCS/SMS 同時検出系を構築した。ヒト由来 SMS-1 または SMS-2 を出芽酵母で発現させ、細胞破砕液を酵素源、蛍光標識セラミド類似体 C_6-NBD-セラミドを基質とすることで、IPCS と SMS の活性を簡便に同時検出可能となり、この系は IPCS 阻害剤候補の特異性評価に実際に利用できた。

[冨重斉生、花田賢太郎]

Ⅳ. 細胞膜の構造･機能と細胞病態変化の分子解析

（１）動物細胞の表面には 10 数種類の糖輸送タンパク質（GLUT)ファミリーが存在し、促進拡散型の糖輸送を仲介する。これらは 12 回膜貫通型の糖タンパク質であるが、輸送特性や組織発現には特異性があり、生理的な役割や機能調節機構はそれぞれ異なると考えられる。また、がん、糖尿病などのヒト疾患にも関与することが示唆されているが、病態分子機構は未だ不明な点が多い。我々は、腫瘍性のヒト由来細胞株に発現する GLUT1 と GLUT3 が異なる細胞膜ドメインに分布することを最近明らかにした。GLUT1 は界面活性剤に難溶性のラフト膜ドメインに分布し、細胞骨格系の F-アクチンと共分布した。ラフト膜分布の分子制御機構について更に検討した結果、GLUT1 のアミノ酸配列中に制御シグナルが存在することを見いだした。最近、GLUT1 はヒト T 細胞白血病ウイルス（HTLV-1)の新規受容体であることが判明し、GLUT1 の膜分布機構の解析は感染症治療薬の新たな分子標的探索においても有用と思われる。

長い間、皆様より頂いたご支援、ご協力に深く感謝します。

［北川隆之、池田有美、佐京智子］

（２）Far Eastern Blotting を用いた MALDI-QIT-TOF-MS (matrix-assisted laser desorption/ ionization quadrupole ion trap time-of-flight mass spectrometry)による脂質分子種一斉分析法の開発

微量試料の脂質分子種分析を簡便迅速に行うため、MALDI-QIT-TOF-MS に Far Eastern Blotting (脂質ブロッティング) を応用した。薄層クロマトグラフィー(TLC)により分離した脂質を PVDF 膜に転写し、試料プレートに接着後マトリックス液をのせ、ポジティブモード MS 測定を行った。TLC による分離に従ってホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、トリグリセリドの各分子種に由来するシグナルを検出した。今後レーザーを当てる位置の自動的スキャンとデータ取込の自動化された装置の開発が期待されるが、この方法による脂質分子種簡便分析の可能性を示す事ができたと考えている。

[田中康仁、矢部邦章、西島正弘： 田口　良（東京大学医学部メタボローム)]

（３）MALDI-QIT-TOF-MS による脂質分子種の定量的分析法の確立

MALDI-QIT-TOF-MS により脂質の各分子種を定量する方法を検討した。分子種の違いと測定条件の違いにより、各分子種のイオン化効率は著しく異なる。また脂質極性基部分の異なるものが混在する場合、イオン化されにくいものは殆ど検出できない。このため分析に先立ち各脂質を極性基に従い分画し、DHBA マトリックスによりポジティブイオンモード分析を行った。合成モデル脂質分子とジミリストイルホスファチジルエタノールアミン等の規準脂質分子とのシグナル強度の比率を求めることにより同一脂質分子種であれば一定範囲内で定量性

を示した。またこの方法では異なる脂質分子種間の存在比は求まらない事が確認された。

[田中康仁、矢部邦章、西島正弘]

Ⅴ． 行政検査実績

項目：ウシ海綿状脳症のウエスタンブロット法による確認検査

期間：平成１６年４月１日～平成１７年３月３１日

検体数：２８検体うち陽性３検体

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

01) V. Dolgachev, M. Sharjeel Farooqui, O. I. Kulaeva, M. Tainsky, B. Nagy, K. Hanada, and D. Separovic: De novo ceramide accumulation due to inhibition of its conversion to complex sphingolipids in apoptotic photosensitized cells. J. Biol. Chem., 279, 23238-23249, 2004

02) A. Carracedo, M.J.H. Geelen, M. Diez, K. Hanada, M. Guzmán, and G. Velasco: Ceramide sensitizes astrocytes to oxidative stress: protective role of cannabinoids. Biochem..J., 380, 435-440, 2004

03) Y. Tanaka, M. Takizawa, S. Igimi, and F. Amano: Enhanced release of prostaglandin D_2 during re-incubation of RAW 264.7 macrophage-like cells after treatment of both lipopolysaccharide and non-steroidal anti-inflammatory drugs. Biol. Pharm. Bull., 27, 985-991, 2004

04) K. Kawasaki, R. K. Ernst, and S. I. Miller: 3-O-deacylation of lipid A by PagL, a PhoP/PhoQ-regulated deacylase of Salmonella typhimurium, modulates signaling through Toll-like receptor 4. J. Biol. Chem., 279, 20044-20048, 2004

07) K. Kawasaki, R. K. Ernst, and S. I. Miller: Deacylation and palmitoylation of lipid A by Salmonellae outer membrane enzymes modulate host signaling through Toll-like receptor 4. J. Endotoxin Res., 10, 439-444, 2004

08) A. Volchuk, M. Ravazzola, A. Perrelet, W. S. Eng, M. De Liberto, O. Varlamov, M. Fukasawa, T. Engel, T. H. Söllner, J. E. Rothman, and L. Orci: Countercurrent distribution of two distinct SNARE complexes mediating transport within the Golgi stack. Mol. Biol. Cell, 15, 1506-1518, 2004

09) M. Fukasawa, O. Varlamov, W. S. Eng, T. H. Sollner, and J. E. Rothman: Localization and activity of the SNARE Ykt6 determined by its regulatory domain and palmitoylation. Proc Natl Acad Sci U S A, 101, 4815-4820, 2004

10) Y. Kondo, J. Hamada, C. Kobayashi, R. Nakamura, Y. Suzuki, R. Kimata, T. Nishimura, T. Kitagawa, N. Imura and S. Hara: Overexpression of hypoxia-inducible factor 1α in renal and bladder cancer cells increases tumorigenic potency, J. Urology, 173, 1762-1766, 2005

11) Y. Inoue, Y. Yamakawa, A. Sakudo, T. Kinumi, Y. Nakamura, Y. Matsumoto, K. Saeki, T. Kamiyama, T. Onodera, M. Nishijima: Infection route-independent accumulation of splenic abnormal prion protein. Jpn J Infect Dis., 58(2), 78-82, 2005

12) H. Furuoka, A. Yabuzoe, M. Horiuchi, Y. Tagawa, T. Yokoyama, Y. Yamakawa, M. Shinagawa and T. Sata: Effective antigen-retrieval for immunohistochemical detection of abnormal isoform of prion protein in animals. Acta NeuroPathol., 109, 263-271, 2005

13）K. G. Harikumar, V. Puri, R. D. Singh, K. Hanada, R. E. Pagano, and L. J. Miller: Differential effects of modification of membrane cholesterol and sphingolipids on the conformation, function, and trafficking of the G protein-coupled cholecystokinin receptor. J. Biol. Chem., 280, 2176-2185, 2005

14) K. Kumagai, S. Yasuda, K. Okemoto, M. Nishijima, S. Kobayashi, and K. Hanada: CERT mediates intermembrane transfer of various molecular species of ceramides. J. Biol. Chem., 280, 6488-6495, 2005

15) B. Spilsberg, K. Hanada, and K. Sandvig: Diphtheria toxin translocation across cellular membranes is regulated by sphingolipids. Biochem. Biophys. Res. Commun., 329, 465-473, 2005

16) H. Kishida, Y. Sakasegawa, K. Watanabe, Y. Yamakawa, M. Nishijima, Y. Kuroiwa, N. S. Hachiya, and K. Kaneko: Non-glycosylphosphatidylinositol(GPI)-anchored recombinant prion protein with dominant-negative mutation inhibits PrP^{sc} replication in vitro. J. Protein Folding Disord, 11, 14-20, 2004

17) T. Ohsawa, M. Nishijima, and O. Kuge: Functional analysis of Chinese hamster phosphatidylserine synthase 1 through systematic alanine mutagenesis. Biochem. J., 381, 853-859, 2004

18) Q. Lao, O. Kuge, T. Fukamachi, T. Kakegawa, H. Saito, M. Nishijima, and H. Kobayashi: An IκB-β COOH Terminal Region Protein Is Essential for the Proliferation of CHO Cells Under Acidic Stress. J. Cell. Physiol., 203, 186-192, 2005

19) K. Kawasaki, R. K. Ernst, and S. I. Miller: Inhibition of Salmonella enterica serovar Typhimurium lipopolysaccharide deacylation by aminoarabinose membrane modification. J. Bacteriol., in press

20) K. Kawasaki, R. K. Ernst, and S. I. Miller: Purification and characterization of deacylated and/or palmitoylated lipid A species unique to Salmonella typhimurium. J. Endotoxin Res., in press

21) Q. Lao, T. Fukamachi, H. Saito, O. Kuge, M. Nishijima, and H. Kobayashi: Requirement of an IκB-β COOH terminal region protein for acidic-adaptation in CHO cells. J. Cell. Physiol., in press

２． 和文発表

1) 花田賢太郎: 膜脂質セラミドを輸送する分子装置: CERT の発見, 実験医学, 22, 966-969, 2004

2) 花田賢太郎: セラミドの細胞内選別輸送を担う分子装置・CERT, 生化学, 76, 562-570, 2004

3) 花田賢太郎: 解明され始めた脂質の細胞内選別輸送メカニズム, ファルマシア, 40, 640-644, 2004

4) 花田賢太郎: セラミドの細胞内選別輸送,「脂質生物学がわかる」(清水孝雄・編), 羊土社, 東京, 132-136, 2004

5) 萩原健一, 山河芳夫: 非定型 BSE プリオン, 感染・炎症・免疫, 34(3), 44-46, 2004

6) 花田賢太郎, 西島正弘: ホ乳動物細胞におけるリン脂質生合成研究の新展開: 制御と輸送, 実験医学, 23, 828-834, 2005

7) 川崎清史, 西島正弘: アラニンスキャニングによる MD-2 の機能解析, エンドトキシン研究, 7, 123-128, 2004

8) 西島正弘: 脂質の分類と分離・精製技術の基礎,「脂質生物学がわかる」(清水孝雄・編), 羊土社, 東京, 28-34, 2004

II. 学会発表

1. 国際学会

01) K. Hanada: Nonvesicular ER-to-Golgi trafficking of ceramide by CERT having a PI4P- recognising PH domain, The 3rd Japanese Biochemical society Biofrontier Symposium, New Aspect of Phospholipid Biology 2004, 2004.5.12, Kamakura, Japan

02) K. Hanada: Molecular machinery for intracellular trafficking of ceramide, American Society for Biochemistry and Molecular Biology 2004 Annual Meeting, 2004.6.15, Boston, USA

03) K. Hanada: Pickup and delivery of ceramide by CERT, Sapporo Sphingolipid Symposium, 2004.7.22, Sapporo, Japan

04) K. Hanada: Molecular machinery for non-vesicular trafficking of ceramide in mammalian cells, Gordon Research Conference on Glycolipid and Sphingolipid Biology, 2004.7.26, Hyogo, Japan

05) K. Hanada: Discovery of the molecular machinery CERT for ER-to-Golgi trafficking of ceramide, 5th International Conference on Lipid Binding Proteins, 2004.9.28, Zao, Japan

06) K. Hanada: Molecular machinery for intracellular trafficking of ceramide, The 8th Membrane Forum, 2004.11.24, Nagoya, Japan

07) K. Kawasaki, R. K. Ernst, and S. I. Miller: Lipid A deacylation by PagL: regulation of TLR4 signaling, 8th Biennial Conference of the International Endotoxin Society, 2004.11, Kyoto Japan

08) K. Okemoto, K. Kawasaki, and M. Nishijima: Dephosphorylation of lipid A selectively reduces its activity to induce IL-1β production, 8th Biennial Conference of the International Endotoxin Society, 2004.11.15-18, Kyoto, Japan

09) Y. Yamakawa, K. Hagiwara, K. Nohtomi, Y. Nakamura, Y. Higuchi, Y. Sato, T. Sata, and Expert Committee for BSE Diagnosis, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan: BSE inspection in Japan and finding of atypical PK-resistant prion protein (PrPRES) in an apparently healthy 23-month-old-holstein steer in Japan: First International

Conference of the European Network of Excellence NeuroPrion " Prion 2004" 2004.5.24-28, Paris

10) M. Fukasawa, S. Sato, Y. Yamakawa, T. Natsume, T. Suzuki, I. Shoji, H. Aizaki, T. Miyamura, and M. Nishijima: Proteomic profiling of lipid droplet proteins in HCV core-expressing hepatoma cell lines, 11th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004.10.5, Heidelberg, Germany

11) M. Shirakura, I. Shoji, T. Ichimura, R. Suzuki, T. Suzuki, Y. Sugiyama, T. Shimoji, K. Murakami, S. Sato, M. Fukasawa, Y. Yamakawa, M. Nishijima, and T. Miyamura: Proteomic analysis of Hepatitis C virus core-interacting proteins using a novel tandem affinity purification tag and mass spectrometry, 11th International Symposium on Hepatitis C virus and Related Viruses, 2004.10.5, Heidelberg, Germany

2. 国内学会

01) 花田賢太郎: 脂質セラミドの細胞内選別輸送を担う分子装置，日本膜学会第 26 年会，2004.5.20（東京）

02) 花田賢太郎: 膜脂質の合成と細胞内選別輸送，九州大学生体防御医学研究所セミナー，2004.5.28（福岡）

03) 山河芳夫: BSE 検査の現状, 特別課程食肉検査コース, 2004.6.18, 国立保健医療科学院

04) 花田賢太郎: 解明され始めた脂質セラミドの細胞内選別輸送メカニズム，第 13 回内毒素研究会，2004.6.26（東京）

05) 花田賢太郎: 代謝は輸送を必要としている: セラミド選別輸送装置の発見，第 2 回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム，2004.8.25（東京）

06) 北川隆之: 動物細胞の糖輸送タンパク質: 構造、機能、発現変化と細胞内局在性, 第 3 回 HTLV/ATL シンポジウム，文部科学省「がん」特定領域研究班，東京大学医科学研究所, 2004.9 (東京)

07) 北川隆之，佐京智子，池田有美: 動物細胞糖輸送タンパク質の発現と細胞膜分布，第 26 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 2004.10 (東京)

08) 花田賢太郎: ' Molecular machinery for intracellular trafficking of the lipid ceramide '（脂質セラミドの細胞内選別輸送を担う分子装置），第 77 回日本生化学会大会，2004.10.14（横浜）

09) 熊谷圭悟，西島正弘，花田賢太郎: セラミド輸送タンパク質 CERT の基質特異性，第 77 回日本生化学会大会，2004.10.15（横浜）

10) 萩原健一，中村優子，日下芳友，納富香子，大内史子，西島正弘，山河芳夫: Neuroblastoma N2a cells stably expressing MHM2-tagged prion protein (PrP) for the analysis of the conformational conversion of PrP, 第 77 回日本生化学会大会, 2004.10.15（横浜）

11) 深澤征義, O. Varlamov, W. S. Eng, T. H. Sollner, J. E. Rothman: Localization and Activity of the SNARE Ykt6 Determined by its Regulatory Domain and Palmitoylation（SNARE Ykt6 分子の細胞内局在と活性の制御について），第 77 回日本生化学会大会，2004.10.15（横浜）

12) 天野富美夫，唐橋久恵，品川雅子，田中康仁: LPS とシクロヘキシミドで誘導されるマクロファージのアポトーシスにおけるアラ キドン酸遊離の解析，第 77 回日本生化学会大会，2004.10.16（横浜）

13) 花田賢太郎：細胞内セラミド輸送メカニズムの解明を目指して，京都大学ウイルス研究所コロキウム「膜輸送研究の新展開」，2005.2.14（京都）

14) 佐々木裕子，川上隆雄，大内史子，山河芳夫，佐々木次雄: プロテオミクス解析を用いた Mycoplasma penetrans の抗原蛋白ならびに膜蛋白の解析，微生物ゲノム研究のフロンテイア, 2005.3.5-6 (かずさ)

15) 西島正弘: 感染症のプロテオーム解析– プリオンと C 型肝炎ウイルス，大阪大学蛋白質研究所セミナー「プロテオミクス：創薬へのアプローチ」, 2005.3.15 (大阪)

16) 佐藤慈子，深澤征義，山河芳夫，夏目徹，鈴木哲朗，勝二郁夫，相崎英樹，鈴木亮介，宮村達男，西島正弘: プロテオミクスの手法を用いたC型肝炎ウイルスの病原性に関与する宿主因子の探索，日本薬学会第 125 年会，2005.3.29（東京）

17) 齊藤恭子，西島正弘，久下理（細胞化学部、九大院理）：シンドビスウィルスレプリカーゼによる遺伝子発現における宿主細胞膜ホスファチジルセリンの関与，日本薬学会第 125 年会, 2005.3.30（東京）

18) 川崎清史: サルモネラ菌リポ多糖の脱アシル化制御，日本薬学会 125 年会, 2005.3.30 (東京)

19) 手島玲子，天野富美夫，田中康仁，澤田純一: 肥満

細胞への各種不飽和脂肪酸の脱顆粒，カルシウム応答について， 日本薬学会第 125 年会，2005. 3. 30（東京）

11.昆虫医科学部

部長　小林睦生

概　要

平成 16 年，当該部の研究は，定員 8 名（部長を含む）以外に，客員研究員 7 名，協力研究員 5 名，流動研究員 3 名，研究生 1 名，実習生 1 名，臨時職員 1 名の協力で推進された．

研究内容としては，ウエストナイル熱，日本脳炎，デング熱などの媒介蚊に関する調査研究を行い，都市部の蚊の発生状況および日本脳炎およびウエストナイルウイルス(WNV)の保有状況を培養細胞および PCR 法を併用して調べた．成田空港周辺での媒介蚊調査では，15 種以上の蚊が捕集され都市部の種構成と大きく異なっていたが，WNV は全て陰性であった．首都圏の 16 ヶ所にドライアイスを誘引源とするトラップを設置し，毎週 1 回調査を行った．その結果，都市部で捕集された蚊の内，アカイエカ種群（アカイエカおよびチカイエカ含む）とヒトスジシマカの 2 種が全体の 99%以上を占め，地方都市の水田地帯等で捕集した場合の種構成と大きく異なっていた．アカイエカ種群のチカイエカはビルの地下の湧水槽や浄化槽で発生している種で，外部形態でアカイエカと区別が出来ない．本年，既報の複眼の個眼数の差および ITS2 の塩基配列以外に，アセチルコリン分解酵素の遺伝子配列に着目した新たな分子分類法を確立し，アカイエカおよびチカイエカの 1 個体 6 本の足からの DNA を解析し同定することが可能となった．この方法で，都市部で捕集されたアカイエカ種群を分析した場合，アカイエカの占有率が 70%以上を示す地域，また，反対にチカイエカが 70%以上を占める地域など大きく種構成が異なることが明らかとなった．蚊の吸血源動物の種類を明らかにすることは，ウイルスの伝播等の疾病疫学を考える上で重要である．トラップの捕集蚊には，非常に低率で腹部に血液を持った蚊が含まれている．その血液より DNA を抽出し，チトクローム b 遺伝子の配列より吸血源動物の同定を行う方法を確立し，全国的に採集されたアカイエカ，チカイエカ，ヒトスジシマカ，キンイロヤブカ等の解析を試みた．その結果，首都圏のアカイエカおよびチカイエカは，野鳥およびほ乳動物の両方から吸血する傾向が高いこと，野鳥ではカモ類およびスズメが，ほ乳動物では人，イヌ，ネコの吸血嗜好性が高いことが明らかとなった．これらの結果から，都市部のアカイエカ種群は WNV を人に伝播する可能性が高いことが強く示唆された．また，地下の密閉空間で主に活動していると考えられていたチカイエカは，人吸血性と考えられていたが，実際，地上の開放空間で野鳥から活発に吸血している事実が示された．また，ヒトスジシマカ，キンイロヤブカ，コガタアカイエカはほ乳動物嗜好性が高いことが示された．

捕集蚊からのウイルスの検出に関して，WNV や JE と異なる昆虫由来と考えられるフラビウイルスがアカイエカより検出され，全塩基配列を決定した．これらのウイルスが媒介蚊でどのような役割を果たしているか興味ある問題で，今後の研究の発展に期待したい．

アカイエカは成虫で越冬することが知られているが，実際，都市部のどのような環境で越冬しているか分かっていなかった．厳冬期に都市部の暗渠で越冬蚊の調査を行い，入り口から 10-20m の範囲に集中して越冬しているアカイエカ成虫を確認した．多数の成虫が越冬している場所が確認された場合，冬期に薬剤処理を行うことによって，効率よくアカイエカの防除が可能となると考えられた．

都市部で採集されたアカイエカ種群の殺虫剤抵抗性の発達状況を調査し，アカイエカおよびチカイエカにピレスロイド系薬剤に対する抵抗性の発達が確認され，抵抗性の発達にシトクロム P450 酸化酵素系の関与および作用点であるナトリウムチャンネル分子の Ser999 の変異が関係していることが明らかとなった．

我が国の路上生活者に寄生が認められているコロモジラミから塹壕熱の病原体である *Bartonella quintana* の遺伝子を複数検出したが，今回，ネパールのストリートチ

ルドレン由来のコロモジラミおよびアタマジラミを入手し，塹壕熱病原体遺伝子の検出を試みた．その結果，複数の子供由来の２種シラミから *B. quintana* 遺伝子を検出した．アタマジラミからの同病原体遺伝子の検出は世界的に初めてである．

冬期に高病原性鳥インフルエンザが流行した鶏舎周辺で採集したオオクロバエおよびケブカクロバエからH5N1 のウイルス遺伝子が検出され，鶏卵に接種することによって，ウイルスの分離に成功した．分離されたH5N1 は京都の養鶏場から分離されたウイルスの塩基配列と 99%以上一致した．この事実は，H5N1 の流行鶏舎周辺では，ウイルスを持ったクロバエ類が半径 1～2 km ほどの範囲を飛び回っていることを示しており，冬期においても鶏舎周辺では，ハエ類の防除対策の重要性が示唆された．

疾病媒介蚊の分布要因解析や有毒節足動物であるゴケグモ類の調査において，地理情報システム(GIS)の応用による分布地点の図化が，対策立案や地域住民への啓発に効果的であることが知られている．ヒトスジシマカおよびセアカゴケグモの分布に関して GIS を応用し，分布域の拡大要因の解析およびその将来予測等に貢献している．また，デジタル化した航空写真を用いて，都市部の調査地点周辺の環境を評価し，それらの結果を基により広範な地域の分布を予測する方法を確立すべく検討している．ヒトスジシマカに認められる寄生原虫 *Ascogregarina taiwanensis* の生活史，オーシストの耐乾燥性，スポロゾイトの蚊消化管内での放出時間などは既に報告してきた．また，ヤマトヤブカ，オオクロヤブカからも同属の原虫を分離し，宿主特異性が高いことが示された．タイのネッタイシマカ由来の原虫を含めて，SSUrDNA 遺伝子構造から４種原虫の遺伝的位置関係を明らかにした．なお，将来これらの原虫を利用した新しい防除法の確立を目指している．

疾病媒介昆虫類の生態，分布，形態および分子分類，病原体の検出および分離，殺虫剤抵抗性の発達状況調査およびその分子機構，媒介昆虫類の分布解析に関する地理情報システムの応用など広範な研究が行われている．

これらの調査研究は，厚生労働科学研究，ヒューマンサイエンス振興財団，文部科学省科学研究費，環境省の地球環境保全試験研究等の助成を受けて行った．

業　績

調査・研究

Ⅰ．衛生昆虫類の媒介生態・分類に関する研究

(1)ドライアイストラップによる都市域における疾病媒介蚊の発生状況調査(2004 年度)

都市域の 16 調査地，18 ヶ所で蚊成虫の定期調査を行った．主要な蚊は前年度の調査結果と同様ヒトスジシマカとアカイエカ群であった．総捕獲数は前年度よりも 1.4～1.6 倍多かった．アカイエカ群雌成虫の複眼の個眼数を調べた結果，チカイエカが広範囲に分布しており，しかも地上に出現して活発に吸血活動していることが明らかとなった．アカイエカとチカイエカの季節消長に調査地による違いがあることが示唆された．

［津田良夫，比嘉由紀子，倉橋　弘，林　利彦，星野啓太，駒形　修，伊澤晴彦，葛西真治，佐々木年則，冨田隆史，澤邉京子，二瓶直子，小林睦生］

(2)ドライアイストラップで捕獲された昆虫相による生息環境の類型化

2004 年４月から 11 月までのドライアイストラップ採集によって，蚊科 3,709 頭，蚊以外の昆虫類 7,467 頭，合計 11,176 頭が採集された．蚊以外の双翅目昆虫の中から捕獲個体数の多い６科を選び，その構成割合の類似度によってクラスター分析を行った．18 の採集地は大きく３つのグループに分けられた．捕獲される昆虫相の違いから各グループに属する採集地の周辺環境についてその違いをある程度推察することができた．

[津田良夫, 比嘉由紀子, 倉橋　弘, 林　利彦, 星野啓太, 駒形　修, 伊澤晴彦, 葛西真治, 佐々木年則, 冨田隆史, 澤邉京子，二瓶直子，小林睦生]

(3)成田空港周辺の媒介蚊相調査（2003，2004 年）

成田空港の東西方向に３調査地を選び，２シーズンにわたって蚊相調査を実施し，フラビウイルスの検出を試みた．調査地間の種類数やその構成割合に違いがあることが示され，これらの違いはその背景にある地域的な蚊相の違いを反映していると考えられた．同一調査地に設置した 10 台のトラップ間で見られた捕獲個体数の変異を分析した結果，多数の成虫が捕獲されるトラップの設置場所が固定しているのではなく調査日によって異なっ

ていることが示された.

[津田良夫, 比嘉由紀子, 葛西真治, 星野啓太, 林　利彦, 澤邉京子, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 二瓶直子, 駒形　修, 倉橋　弘, 冨田隆史, 小林睦生]

(4)高病原性鳥インフルエンザ流行地におけるクロバエ類の生態調査

京都府丹波町のクロバエ類調査の結果，オオクロバエが高密度で生息していることがわかった．鳥インフルエンザ流行の１年後に山口県阿東町と京都府丹波町で季節移動開始直後のクロバエ類の調査を実施した．これらの地域では３月に京都府丹波町で観察された密度とほぼ同程度の密度でオオクロバエが生息していることがわかった．山口県阿東町集団の雄成虫の翅破損度は京都府丹波町の集団よりも有意に大きかった．沖縄本島北部国頭村与那に 12 月下旬に設置したトラップ調査で，オオクロバエが冬季に沖縄本島にも分布していたことが確認された.

[津田良夫，林　利彦，倉橋　弘，比嘉由紀子]

(5)イーストを用いた二酸化炭素発生装置の改良と屋内吸血性蚊の定期採集成績

イーストを用いた二酸化炭素発生装置の改良を行い，イーストと砂糖の分量が異なる複数のボトルを組み合わせることによって，目的にあった二酸化炭素の発生パターンを実現することができた．またインドネシア・スラバヤ市での定期調査によってこれまで考案してきた二酸化炭素発生装置が３日間は屋内吸血性蚊成虫の誘引効果があることがわかった．デング熱の流行地におけるネッタイシマカ成虫の生息密度としてトラップ１台１日当たり 0.16 雌という値が得られた.

[津田良夫；斉藤康秀(麻布大)]

(6)チカイエカの地上での活動状況

Gravid トラップと CO_2 トラップを用いて成虫採集を行いチカイエカの地上での活動状況を調べた．調査地として新宿区落合中央公園，国立感染症研究所構内，長崎大学医学部キャンパスの３ヶ所を選んだ．個眼数によってアカイエカとチカイエカを区別しチカイエカのアカイエカに対する相対密度を求めたところ，３地域とも CO_2 トラップで捕獲されたチカイエカの相対密度の方が Gravid トラップよりも高いことがわかった. チカイエカの地上における生存率や産卵場所選択性がアカイエカとは異なることが示唆された.

[津田良夫，比嘉由紀子；高木正洋，川田　均（長崎大）]

(7)屋上緑化されたビルにおける昆虫相調査

東京ガス環境エネルギー館の屋上緑化部と建物内部の昆虫相調査を行い，どのような昆虫類が屋上緑化部を経由して屋内にまで侵入するのかを調べた．2003 年 12 月～2004 年 11 月の調査で合計 39 種類の節足動物が捕獲された．これらの昆虫・クモ類は大きく (1)主要発生源が１階にありそこから上階に分布を広げた種類, (2)屋上緑化部に主な生息場所があり下階に分布を広げた種類に分けられた．屋上緑化部を経由して屋内にまで侵入した種類は，周辺地域から屋上緑化部まで移動する移動力，屋上緑化部での繁殖力，屋内を食物探索の場とする性質を有していた.

[津田良夫，林　利彦]

(8)数種トラップの蚊成虫捕獲効率の比較

実験室内に吊した大型ケージの中にトラップを設置し，雌成虫を放逐して 24 時間に捕獲される割合を調べた．誘引源として二酸化炭素を用いた CDC 型トラップと Gravid トラップを用い，３種類の蚊，アカイエカ，チカイエカ，ヒトスジシマカを用いて実験を行った．ドライアイスを用いた場合トラップ周辺に飛来した成虫の 35～57%の個体が捕獲された． Gravid トラップでは産卵のために飛来した雌の 13～14%が捕獲された. ドライアイストラップと Gravid トラップによる捕獲効率は，アカイエカとチカイエカでほぼ等しかった.

[津田良夫，比嘉由紀子；高木正洋，川田　均（長崎大）]

(9)都市域の総合公園で発生する蚊の季節変化

都立林試の森公園は旧林野庁林業試験場の跡地に作られた面積 12ha の総合公園で, 2003 年 5 月から公園内の蚊成虫および 90 個の雨水マスを対象として幼虫の発生状況を調べている．2004 年 5 月中旬までの 1 年間の定期調査の結果，536 頭の成虫と 7,896 頭の幼虫が採集された．採集された成虫はほとんどがヒトスジシマカで他

にオオクロヤブカが 2 匹採集されたのみであった．雨水マスの約 20%には常に水が溜まっていた．採集された幼虫は次の 4 種類であった；アカイエカ（6,569 頭），ヤマトクシヒゲカ（653 頭），ヒトスジシマカ（625 頭），トラフカクイカ（49 頭）．

[津田良夫]

(10)蚊の発生源としての公園の雨水マス調査

東京都および長崎市の公園で蚊の幼虫発生状況を調べた．東京都では神田川水系に沿って荒川区から羽村市まで東西約 42km の範囲に位置する 37 の公園について，また長崎市では市内の 20 の公園で雨水マスの幼虫発生状況を調べた．長崎市の公園は平均面積が 3,760 平方メートルで神田川水系の公園（9,922 平方メートル）よりも小さく，面積当たりの雨水マスの数は約 1/3 であった．しかしながら水の溜まっている雨水マスや幼虫の発生している雨水マスの割合は長崎の公園の方がやや高かった．

[津田良夫]

(11)都市化がもたらすデング熱媒介蚊の生態遺伝的変化

インドネシア・スラバヤ市のプテモン地区でデング熱媒介蚊の定期調査を行った．ドライアイスが入手しにくい地域であるので，調査にはイーストによる発酵を利用した二酸化炭素発生装置を考案して用いた．この装置が設置後 3 日間は屋内性蚊成虫に対する誘引効果があることがわかった．8 台のトラップによる 18 回の採集でネッタイシマカ 74 頭（23 雌，51 雄），ネッタイイエカ 650 頭（456 雌，194 雄）が捕獲された．ネッタイシマカ成虫の平均生息密度はトラップ 1 台 1 日当たり 0.16 頭であった．

[津田良夫，澤邉京子；江下優樹（大分大）；高木正洋（長崎大）]

(12)都市部におけるアカイエカ越冬個体の観察

アカイエカ成虫が都市環境のどのような場所で越冬しているかよく分かっていない．そこで 2005 年 2 月に埼玉県 K 市の暗渠 2 ヶ所の調査を行った．その結果，,入り口から 10m ほどからアカイエカが壁面および天井に静止しているのが観察され，10-20m の範囲に越冬蚊が集中して静止していた．2 ヶ所の暗渠で計 200 匹以上を採集することが出来，分子的にアカイエカとチカイエカを分類する方法によって，採集蚊は全てアカイエカと同定された．確実な越冬場所が確認された場合には冬期の薬剤散布も有効な防除法と考えられる．

[小林睦生，葛西真治，伊澤晴彦，林　利彦，二瓶直子，津田良夫]

(13)東北地方におけるヒトスジシマカの分布域拡大と関連する要因について

2004 年の調査は，一関市，北上市，宮古市，釜石市，大船渡市，能代市，八森町，深浦町，鰺ヶ沢町，弘前市，および 2003 年に初めて分布が確認された盛岡市で行われた．能代市では多数のヒトスジシマカが採集されたが，同市以北の日本海側の地域ではヤマトヤブカおよびトウゴウヤブカしか採集出来なかった．ヒトスジシマカが初めて確認された盛岡市の寺院を調査したが，同蚊を採集することは出来なかった．なお，北上市と釜石市の墓地の花立てで初めてヒトスジシマカ幼虫を採集した．これらの蚊が新天地で越冬・定着出来るかを継続して調査する必要がある．

[小林睦生，二瓶直子，比嘉由紀子，津田良夫]

(14)衛星画像判読による動物媒介性疾患の監視体制整備のための基礎的研究

近年の世界的な緩急の環境変化等に伴って，新興・再興感染症の実態とその消長を，迅速かつ広域にしかも安全かつ正確に把握できるシステムを構築し，リスク地域を推測する必要がある．そのため，マラリア，デング熱その他の疾病媒介節足動物等の生態や分布地域の景観の判別に役立つ衛星画像によるリモートセンシング RS を用いて GIS を構築し，防除対策の立案を検討している．なお，本研究は宇宙航空研究開発機構と国立感染症研究所の共同研究として実施している．

［二瓶直子，小林睦生；島田政信，田殿武雄,渡部　学,太田和夫,渡部章人(宇宙航空研究開発機構・地球観測利用推進センター)］

(15)セアカゴケグモの分布域の監視体制の検討

1995 年大阪湾沿岸でセアカゴケグモが発見されて以来，生息地域の拡大･生息密度の地域差を明らかにして，

生息密度と咬症との関係を基に監視システムの構築を検討している．また生息確認地域の拡大の年・方向・距離あるいは移動手段を GIS で検討してきた. 近年その生息地が衛星画像で予測していたように，大阪府の内陸部や他府県の人工改変による大型開発地などに飛び火的に拡散し，しかも従来の予測を上回る密度に達している．そこで，分布域の拡大が顕著なセアカゴケグモについて，最新の分布図を作成し，咬症事故発生の可能性を検討している．

［二瓶直子；吉田政弘(いきもの研究社)；小林睦生；金田弘幸(パスコ GIS 総研)］

(16)ソロモン諸島国のマラリアリスクの推定

民族紛争や地形的特徴から現地調査が困難で,マラリア検査も不十分なソロモン諸島国について,既往の土壌・森林分類図等をデジタル化して,マラリアのリスクマップを作成してきた.ガダルカナル島について *Pf*マラリア感染率を標高と森林分類別データから GIS で予測して,危険率が低率(＜10%),中率(10－20%＜),高率(20%＜)の地域に分けてリスクを推定すると,面積では低率地域が最も広いが,集落数や人口から推測すると高率地域に集中し,全集落の 74.3%,全人口の 77.2%に達していることが分かった.

[二瓶直子,小林睦生；望月貫一朗,金田弘幸(パスコ)]

(17)空中写真判読による住宅地周辺の蚊相の推定

近年わが国への侵入が懸念されている蚊媒介性疾患をモニタリングするためには，住宅地周辺の蚊相を推測し媒介蚊防除対策を立案する必要がある．そこで，2003 年に首都圏，富山県，大阪府，沖縄県等の住宅地周辺の定点で CO_2 トラップで捕集された蚊の数や種類を参考に，空中写真を用いて蚊の生息環境を検討し，蚊の生息予測図を作成している．関東地方の蚊相に影響を及ぼす環境については，地形，標高，集落の密集度，低・中・高層住宅，人口密度，緑地の有無，河川・湖沼からの距離などの土地条件を指標にして検討している．

[二瓶直子,津田良夫,小林睦生；望月貫一朗((株)パスコ)]

(18)無弁翅ハエ類の分類・生態学的研究

日本産フンコバエ類は現在まで約 70 種が確認されているが，そのうち 40 種について国内の新分布地を追加確認した．また従来日本から記録のあった種のうち *Crumomyia glabrifrons, C. glacialis, Norrbomia hispanica, Ischiolepta denticulata, I. vaporariorum* の５種は，保存されていた帯広畜産大学の標本を調べた結果同定の誤りであることが判明し，日本からの記録を削除した．また国立科学博物館の依頼で赤坂御用地内のフンコバエ相を調べ，7 属 16 種を確認した．これは 2000 年に皇居の調査で得られた結果とほぼ同様であった．都心に残された大規模緑地として皇居と赤坂御用地のファウナは非常に類似していることが判明した．

［林　利彦］

(19)大分県におけるメマトイ類の *Thelazia* 幼虫自然感染に関する研究

2003 年１月から 2004 年７月に大分県下 6 ヶ所においてメマトイ類を採集した．カッパメマトイ 551 個体，マダラメマトイ 373 個体，ツバメメマトイ 303 個体，クロメマトイ 287 個体，オオマダラメマトイ 244 個体，合計 1,758 個体であった. そのうち 1,224 個体を解剖し，カッパメマトイ，オオマダラメマトイ，マダラメマトイから *Thelazia* 類幼虫を検出した．感染率はそれぞれ 1.9 %，2.11 %，3.25 %であった．大分県下の人体感染症例より得た東洋眼虫 *Thelazia callipaeda* 成虫とカッパメマトイ，オオマダラメマトイ，マダラメマトイから見い出した第３期幼虫（一部第２期幼虫）の DNA を抽出し，ITS1 領域を比較した結果，両者の配列は一致した．

[林　利彦；　青木千春, 大塚　靖, 高岡宏行（大分大学）]

(20)衛生上重要なクロバエ科昆虫の分類学的研究

ナミビア自然史博物館所蔵のナミビア産クロバエ科昆虫標本 7,098 個体を同定し，68 種を確認した．各種の分布および成虫が衛生上重要なもの，幼虫が獣医学的，法医学的に重要であるかの生態学的知見を考察した．*Hemigymnochaeta* 属の２種と *Isomyia* 属の１種が新種であったので，これらの種のオス外部生殖器を図示し，記載した．31 種はナミビアからの新記録種であった．全種が同定できるように重要な特徴を示した図を付した検索表を作成した．

［倉橋　弘；　A. H. Kirk-Spriggs(ナミビア自然史博物館)］

Ⅱ．衛生昆虫類の生理・生化学・遺伝学的研究

(1)本邦野外捕集蚊からのウエストナイルならびに日本脳炎ウイルスの検出

ウエストナイル（WN）ウイルスのわが国への侵入監視と蚊媒介性アルボウイルスの活動域の把握を目的とし2003 年から国内サーベランスを開始した．2003-2004 年（合計 20 種 7,485 個体 348 プール）の WN および JE ウイルスの TaqManRT-PCR による遺伝子検出の結果では WN ウイルスのわが国への侵入は確認されず，JE ウイルスに関しては常在の可能性と，ブタとコガタアカイエカ以外の感染環を示唆する結果を得た．

［星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，比嘉由紀子，小林睦生；高崎智彦，小滝　徹（ウイルス第一部）；澤邉京子］；

(2)新規蚊媒介性フラビウイルスの遺伝子構造解析ならびに性状解析

2003-2004 年の 2 年間で合計 46 種 19,445 個体(1,095 プール）の捕集蚊から既知のアルボウイルス遺伝子の検出と分離を行ったが，その検出過程で新規フラビウイルスの存在を見出した．遺伝子構造解析およびウイルス学的性状解析の結果，本ウイルスは非常に起源的な系統分類学位置に存在する新規フラビウイルスであることが明らかになり，本ウイルスの国内生息蚊における保有状況もほぼ全国的に把握できた．

［星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，比嘉由紀子，小林睦生，矢野和彦，澤邉京子］

(3)日本に分布するウエストナイルウイルス感受性蚊の吸血源動物種

日本にも生息しているウエストナイル（WN）ウイルス感受性蚊のヒトへのウイルス媒介能を蚊の吸血嗜好性から考察する目的で吸血源動物種の同定を PCR 法により行った. アカイエカ種群の蚊は鳥類もほ乳類も吸血し，キンイロヤブカ，コガタアカイエカ，ヒトスジシマカの多くはほ乳類を好んで吸血した. わが国において WN ウイルス媒介種として重要な蚊種はアカイエカ種群であり，鳥類種の中で主要な吸血源動物であったカモやスズメが本ウイルスの増幅動物として有力であることも示唆された.

［澤邉京子，伊澤晴彦，比嘉由紀子，星野啓太，佐々木年則，津田良夫，小林睦生］

(4)アカイエカ種群の吸血嗜好性

個眼数の比較と ITS2 およびアセチルコリン分解酵素遺伝子の配列を基にした分子判定法に基づきアカイエカとチカイエカを判別し,首都圏捕集アカイエカ種群蚊の約 3 割はチカイエカであり，地上部へもかなりの頻度で出現していることが明らかになった．国内産アカイエカ種群蚊（アカイエカ，チカイエカ，ネッタイイエカ）はいずれも鳥類およびほ乳類を吸血する米国タイプであり，アカイエカは鳥類嗜好性であり，チカイエカはほ乳類嗜好性であるとする従来の認識を新たにする結果を得た．

［澤邉京子，比嘉由紀子，葛西真治，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，小林睦生］

(5)フタトゲチマダニ唾液腺由来カリクレイン-キニン系インヒビターの同定および機能解析

ライム病やピロプラズマ病を媒介する吸血性ダニであるフタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* 唾液腺から，分子内に Kunitz 型プロテアーゼインヒビター構造を２つ持つ新規生理活性蛋白質を同定した．この唾液腺分子は, 血液凝固第 XII/XIIa 因子および高分子キニノゲン上の異物結合部位に特異的に結合することで，内因系凝固反応およびカリクレイン-キニン系活性化を強く阻害することが明らかになった．

［伊澤晴彦；加藤紀子，岩永史朗（神戸大）；鎮西康雄，油田正夫（三重大)］

(6)*Anopheles stephensi* の初代培養

Anopheles 属のカにおける原虫やウイルスおよび生理機能研究に有用な細胞系樹立を目的とし，マラリア媒介蚊である *Anopheles stephensi* の初代培養を試みた．本種産下卵を表面殺菌し無菌的に孵化させた新生幼虫を培養に用い，基本培地として６種類の培地を検討した．そのうち，MM 培地に 10%牛胎児血清(FBS)を添加した培地において，組織片からの vesicle 形成（一層の上皮性

細胞で構成される球状構造）が高頻度に観察され，それらが成長したことから構成細胞が増殖しているものと考えられた．

［星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子］

(7)日本産ハマダラカ属 hyrcanus 種群の遺伝子分類と近年の北海道における分布域の推定

わが国でもかつて熱帯熱および三日熱マラリアを流行させたと推察されているオオツルハマダラカ，あるいはシナハマダラカの hyrcanus グループの蚊の国内分布は 1970 年代後半以降調査されていない. 我々は分子分類に基づく同定方法を確立し，その結果から，北海道に生息する本グループのハマダラカの現在の分布域と優先種は 1970 年代とは大きく異なることを明らかにした. 現在さらに全国レベルで調査を行っている．

［澤邉京子，比嘉由紀子，星野啓太，伊澤晴彦，津田良夫，二瓶直子，小林睦生］

(8)アカイエカ種群の分子分類法の確立

形態学的識別が困難なアカイエカとチカイエカを簡易に判別する手法の確立に取り組んだ．有機りん系殺虫剤の作用点であるアセチルコリン分解酵素の遺伝子に着目し，両亜種の遺伝子解析を行ったところ，種に共通した変異領域が確認された．亜種特異的にデザインしたプライマーを用いて, 9 都道府県 38 地域より採集した個体を用いて確認作業を行った結果，ゲノム PCR による両種の判別が可能であることを確認した．今後，チカイエカの地上行動性の調査や吸血源の同定など，チカイエカのウエストナイル熱媒介蚊としての重要性を評価するための研究に応用できると考察された．

［葛西真治，津田良夫，比嘉由紀子，駒形　修，冨田隆史，小林睦生］

(9)ヤブカ族蚊寄生性 *Ascogregarina* 属原虫の系統分類学的考察

日本・東南アジアに分布するヤブカ族蚊（ヒトスジシマカ，オオクロヤブカ，ヤマトヤブカ，ネッタイシマカ）に種特異的に寄生する *Ascogregarina* 属原虫の存在を確認した（順に *A. taiwanensis*，*A. armegerei*，*Ascogregarina* spp.，*A. culisis*）．蚊体内から得た各オオシストの走査電子顕微鏡像から，サイズならびに表面構造に有意な差異を見出し，SSUrDNA 遺伝子構造解析から 4 種原虫の遺伝学的位置関係を明らかにした．

［Roychoudhury, S.，伊澤晴彦, 星野啓太, 佐々木年則，澤邉京子，小林睦生］

(10)クロバエ類からの高病原性鳥インフルエンザウイルスの検出と分離

2004 年京都府丹波町での高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）流行時に捕集したクロバエ類から HPAI ウイルス遺伝子の検出と分離を試みた．2 種クロバエ（オオクロバエとケブカクロバエ）から A/H5 亜型の遺伝子断片が検出され，陽性個体率は 10～30%と高率であった．発育鶏卵接種により分離されたウイルスの遺伝子 3 分節の全塩基配列解析から，本ウイルスが高病原性 H5N1 亜型インフルエンザ A ウイルスであることを確認した．

［澤邉京子，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，林　利彦，津田良夫，倉橋　弘；棚林　清（獣医科学部）；堀田昭豊，西藤岳彦(ウイルス第三部);山田章雄（獣医科学部）;小林睦生］

(11)ネパールの児童の頭部より採取されたシラミ由来のバルトネラ

最近になって，先進国の都市において再興感染症としてコロモジラミ由来のグラム陰性桿菌である *Bartonella quintana* が注目されている．塹壕熱の病原体で,今まで *B. quintana* はコロモジラミのみから検出されているが，アタマジラミが塹壕熱の媒介に果たす役割は不明であった．今回ネパール人の児童由来のアタマジラミおよびコロモジラミを入手し，*B. quintana* の検出を試みた．その結果，頭部由来のシラミから初めて *Bartonella quintana* の遺伝子を複数検出し，ネパールにおいても塹壕熱の存在が示唆された．

[佐々木年則； Poudel, S.K.S. (ネパール・トリヴァン大学)； 伊澤晴彦， 冨田隆史， 澤邉京子， 小林睦生]

(12)路上生活者より採取されたコロモジラミから塹壕熱病原体 *Bartonella quintana* (*B. quintana*)の検出 (5)

東京都内のホームレスの衣服から採取したコロモジラミにおいて, 塹壕熱の病原体 *B. quintana* の存在を PCR

法で調べた．その結果，10 由来のコロモジラミより *B. quintana* のクエン酸合成酵素 A 遺伝子断片もしくは 16S-23S rRNA 遺伝子(ITS1)の検出を試みたが，陽性個体は認められなかった．よって，1999 年以降コロモジラミからの *B. quintana* の検出率は，10.0%となった．

[佐々木年則，関なおみ，伊澤晴彦，星野啓太，比嘉由紀子；久保田眞由美（細菌第二部)；矢口　昇，望月信宏（豊島区池袋保健所)；澤邉京子；佐々木次雄（細菌第二部)；川島五月（豊島区池袋保健所）；荒川宜親（細菌第二部；小林睦生]

(13)オオクロバエの脂質について

オオクロバエの生理生態的特徴である長距離飛翔と冬季の活動に関連し，このハエの脂質分析を行った．まず実験室内での飼育条件を変え，各条件下での脂質含量，脂質組成の変動，および脂肪酸組成を検討した．実験条件として羽化後何も与えないグループ，水分だけのグループ，水分＋糖のグループに分けた．この結果何も与えないグループは羽化 2 日後に死滅し，水分だけのグループは，10 日間生存していた．また糖を与えられたグループは，正常の発育を示し，20 日以上生存した．脂質としては，トリグリセリド，ジグリセリド，遊離型脂肪酸，リン脂質等が主成分で，脂肪酸組成はパルミトオレイン酸（C16：1）が徐々に増加し，羽化 10 日後には，50%を占めた．

［森林敦子，主籐千枝子，澤邉京子，倉橋　弘，津田良夫］

(14)チカイエカの青色物質

チカイエカ幼虫の体色は，通常薄茶色である．しかし当部で継代されているチカイエカ（洞穴系統）の一部に青色に見える個体が見出される．青色物質を含む個体は，雌に多いことが確認された．青色個体の幼虫は，91.8%±9.5 で雌であり，また茶色に見える幼虫は，79.0%±18.7 の割合で雄であった．その青色物質を元素分析付き走査型顕微鏡（EMAX EX220. Horiba,Japan）で検討した．その結果この物質は，主に炭素，窒素，酸素，水素よりなりそれぞれの含有率は，それぞれ 40-49%,13-25, 26-27, 16-8%であった．この物質の構造決定を試みている．

［森林敦子；斎藤典子（感染病理，電顕室)］

(15)アカイエカ種群蚊の殺虫剤感受性調査

2004 年と 2005 年にわたり，日本各地のアカイエカ種群蚊の５種の殺虫剤に対する幼虫の殺虫剤感受性を調べた．１つの殺虫剤感受性系統に関する「*LC*99×100」に相当するエトフェンプロックス，テメフォス，フェニトロチオン，ならびに「99%羽化阻害濃度×100」に相当する ジフルベンズロン, ピリプロキシフェンの濃度において生存率 5% 以上のコロニー数は, アカイエカではそれぞれ，19, 1, 0, 3, 0（総数 *N*=37），また，チカイエカ（*N*=17）ではそれぞれ，7, 1, 0, 2, 6 であり，ピレスロイド系のエトフェンプロックスに対する抵抗性がもっとも発達していた．

［葛西真治，駒形　修，正野俊夫，津田良夫，小林睦生，冨田隆史］

(16)アカイエカ種群蚊のピレスロイド抵抗性機構の解明

過去 2 年間に行った調査の結果，抵抗性レベルが著しく高かった野外系統（アカイエカの林試系，チカイエカの大手町，横浜，福岡，新宿系）について，さらに室内淘汰を行い，抵抗性機構の解明を行った．ピレスロイド剤の感受性に対する酸化酵素阻害剤を用いた殺虫試験の結果，共力係数が非常に高く，シトクロム P450 酸化酵素系の関与が示唆された．また，林試系統をエトフェンプロックスで 7 世代淘汰した結果，淘汰が進むにつれ集団内のナトリウムチャネル多型 Ser999 の頻度が高くなっていったことから，ピレスロイド剤の作用点であるナトリウムチャネルの Leu999Ser のアミノ酸変異が抵抗性の原因であることが強く裏付けられた．

［葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史］

(17)ネッタイイエカのシトクロム P450 遺伝子族の網羅的クローニング

酸化的代謝酵素シトクロム P450 の解毒代謝能の増大による殺虫剤抵抗性機構を明らかにするために，ウエストナイル熱の主要媒介蚊であるアカイエカ種群蚊について，昆虫種あたり約 100 個あると推定されている P450 遺伝子の同定を試みた．公表されているハマダラカとショウジョウバエの遺伝子情報をもとに縮重プライマーを

設計し，ピレスロイド抵抗性ネッタイイエカ JPal-per 系統の cDNA を鋳型として PCR クローニングを行い，約 70 の異なる P450 遺伝子のクローンを取得した．
［駒形　修，葛西真治，冨田隆史］

(18)チャバネゴキブリ集団における *kdr* 遺伝子の分布

ナトリウムチャンネル（SC）は，Na^+ 細胞内流入の制御により神経細胞における活動電位の発生と伝搬を担い，ピレスロイド系殺虫剤は SC の閉鎖を阻害する．チャバネゴキブリのノックダウン抵抗性遺伝子（*kdr*）は，SC の Leu993Phe 置換突然変異をもち，SC の殺虫剤感受性を低下させる．2004 年に東京都，千葉・愛知・愛媛・大分県の計 10 ヶ所のビルのゴキブリを材料とし SC 遺伝子型を調べた．すべてのコロニーが *kdr* 遺伝子を保有し，7 つのコロニーでその頻度は 50% を超えていた．
［冨田隆史，葛西真治，駒形　修；谷川　力（イカリ消毒）］

(19)オオクロバエの殺虫剤感受性

高病原性鳥インフルエンザが冬季に鶏舎で発生する際，近隣の鶏舎に病原体を媒介するおそれのあるハエ種の一つであるオオクロバエについて，2003 年 11 月に山口市で採集したハエを直接用いて雌成虫の殺虫剤感受性を調べた．テストしたハエの *LD*50 はフェニトロチオンとペルメトリンについて，それぞれ，0.078 ug と 0.0136 ug で，これらの値は，体重比を考慮すると，殺虫剤感受性イエバエに比較して同等もしくはそれ以上の感受性レベルと考えられた．
［駒形　修，葛西真治，冨田隆史］

(20)ヒトスジシマカ成虫と培養細胞のアセチルコリンエステラーゼ（AChE）

神経伝達物質のアセチルコリンの代謝を行い殺虫剤作用点ともなっている AChE には，昆虫種に共通して存在する AO-AChE とハエ科を除く他の昆虫種に存在する AP-AChE がある．二つの AChE 分子種の機能分化を明らかにするために，まず，それぞれの AChE cDNA 配列をヒトスジシマカで新たに決定し，成虫と新生幼虫由来の細胞株 NIAS-AeAl-2 における mRNA の発現量を測定した．AP-AChE は AO-AChE に比べて，成虫では 9.6 倍，培養細胞では 400 倍高い発現量比を示した．
［水野　壮（筑波大）；葛西真治，冨田隆史；河野義明（筑波大）］

調 査

1）倉橋　弘：ゴンバック渓谷，マレーシアの蚊類とハエ類の分類と生態学的研究．マレーシア，16 年 9 月 15 日－9 月 24 日．
2）比嘉由紀子：ゴンバック渓谷，マレーシアの蚊と双翅目昆虫の分類と生態学的研究．マレーシア，16 年 9 月 15 日－9 月 24 日．
3）津田良夫：インドネシアにおける疾病媒介蚊の生態と防除に関する共同研究（科学研究費補助金）．インドネシア，16 年 12 月 12 日－12 月 22 日．

レファレンス業務

Ⅰ．衛生動物同定検査報告

平成 16 年 4 月から平成 17 年 3 月までの間，29 件 94 個体の昆虫・マダニ等の同定依頼を受けた．多くは双翅目昆虫であった．ヒトへの被害例では，ブラジルからのヒトヒフバエによる輸入ハエ症例，ヒロズキンバエによる潰瘍部へのハエ症，タカサゴキララマダニ，ヤマトマダニ，フタトゲチマダニによる咬着例等があった．また，今回初めての症例としてヨコズナサシガメによる刺咬例が見られた．このサシガメは海外からの移入種で，近年急速に分布拡大している種であり，東京でも近年普通に見られるようになった種である．
[林　利彦，津田良夫，倉橋　弘，栗原　毅]

国際協力関係業務

Ⅰ．東チモールのデング熱対策

2005 年 1 月から 2 月にかけて東チモール・ディリ市を中心にデング出血熱が大流行し，その対策のために WHO が国際チームを派遣した．疾病媒介蚊専門家としてチームに参加し現地の媒介蚊発生状況を調査した．ディリ市内で患者が多発していた 3 地域を選び戸別調査を実施し，幼虫発生源の特定ならびにウイルス分離用の成虫サンプルの採取を行った．調査結果の分析から対策を施すべき発生源としてポリタンク，古タイヤ，ドラムカ

ンが明らかになり，これらに対する具体的な対策方法について助言を行った．

[津田良夫]

研修業務

1）小林睦生：ウエストナイル熱と媒介蚊について．第58 回地方衛生研究所全国協議会中国四国支部会議，16 年 5 月 21 日，高知市．

2）津田良夫：蚊の分類実習．日本環境衛生センター　平成 16 年度ウエストナイル熱媒介蚊防除対策実技講習会，16 年 6 月 8 日，6 月 29 日，川崎市．

3）小林睦生：ウエストナイルウイルスの伝播と媒介蚊．東京都獣医師会第１回公衆衛生講習会，16 年 6 月 25 日，東京都．

4）小林睦生：ウエストナイル熱及びその媒介蚊対策について．兵庫県健康生活部　平成 16 年度環境衛生監視員研修会，16 年 6 月 29 日，神戸市．

5）小林睦生：ウエストナイル熱．長野県衛生部動物由来感染症研修会．16 年 7 月 17 日，松本市．

6）小林睦生：ウエストナイル熱媒介蚊の現状と対応について．高知県保健所職員研修会，16 年 8 月 24 日，高知市．

7）小林睦生：ウエストナイル熱の現状と対策．大阪府ペストコントロール協会研修会，16 年 9 月 28 日，大阪市．

8）津田良夫：疾病媒介蚊の発生状況調査：調査の実際と都市域の現状．日本ペストコントロール協会主催感染症対策指導者講習会，16 年 9 月 29 日，東京都．

9）小林睦生：ウエストナイル熱と媒介蚊：感染拡大のメカニズムを考える．岐阜大学 21 世紀 COE プログラム「野生動物の生態と病態から見た環境評価」市民講座「感染野生動物の介在」，16 年 10 月 31 日，岐阜市．

10）小林睦生：ウエストナイル熱の媒介蚊対策．東京都平成 16 年度動物由来感染症対策（狂犬病予防を含む）技術講習会，16 年 11 月 5 日，東京都．

11）小林睦生：衛生動物に関わる最近の話題．日本環境衛生センター　第 40 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，16 年 11 月 30 日，川崎市．

12）冨田隆史：殺虫剤概論．日本環境衛生センター　第 40 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，16 年 11 月 30 日，川崎市．

13）小林睦生：ウエストナイル熱対策について．名古屋市健康福祉局　動物由来感染症対策に関する研修会，17 年 1 月 21 日，名古屋市．

14）小林睦生：ウエストナイル熱の現状と媒介蚊対策について．東京都　区市町村ねずみ・衛生害虫担当職員及び都保健所環境衛生担当職員講習会，17 年 1 月 25 日，東京都．

15）小林睦生：ウエストナイル熱媒介蚊対策について．北部九州三県動物由来感染症研修会，17 年 1 月 27 日，福岡市．

16）小林睦生：ウエストナイル脳炎媒介蚊と対策．川崎市環境局　環境・保健に関わる試験研究機関連絡会議講演会，17 年 2 月 2 日，川崎市．

17）小林睦生：危機管理から見た媒介昆虫の防除対策とその問題点．シンポジウム「衛生動物分野における危機管理」．第 39 回ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会，17 年 2 月 24-25 日，岡山市．

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1）Saitoh, Y., Hattori, J., Chinone, S., Nihei, N., Tsuda, Y., Kurahashi, H. and Kobayashi, M. : Yeast-generated CO_2 as a convenient source of carbon dioxide for adult mosquito sampling. J. Am. Mosq.Control Assoc., 20: 261-264, 2004.

2）Suwonkerd, W., Tsuda, Y., Overgaad, H. J., Chawprom, S., Tsuno, N., Prajakwong, S. and Takagi, M.: Changes in malaria vector densities over a twenty-three year period in Mae Hong Son province, northern Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 35: 316-324, 2004.

3）Kawada, H., Maekawa, Y., Tsuda, Y. and Takagi, M.; Laboratory and field evaluation of spatial repellency with metofluthrin-impregnated paper strip against mosquitoes in Lombok Island, Indonesia. J. Am. Mosq. Control Assoc. 20: 293-298, 2004.

4）Kawada, H., Maekawa, Y., Tsuda, Y. and Takagi, M.: Trial of spatial repellency of metofluthrin-impregnated paper strip against *Anophels* and *Culex* in shelters without walls in Lombok, Indonesia. J. Am. Mosq.control Assoc., 20: 434-437,

2004.

5） Toma, T., Higa, Y., Tokuyama, Y. and Miyagi, I.: Comparison of rDNA ITS2 sequence of *Anopheles saperoi* (Diptera: Culicidae) from two Islands of the Ryukyu Archipelago, Japan. Med. Entomol. Zool., 55: 115-120, 2004.

6）Okudo, H., Toma, T., Sasaki, H., Higa, Y., Fujikawa, M., Miyagi I. and Okazawa, T.: A crab-hole mosquito, *Ochlerotatus baisasi*, feeding on mudskipper (Gobiidae: Oxudercinae) in the Ryukyu Islands, Japan. J. Am. Mosq. Control Assoc., 20:134-137, 2004.

7）Toma, T. and Higa, Y.: A new species of *Ficalbia* (Diptera: Culicidae) from Iriomote Island, Okinawa, Ryukyu Archipelago, Japan. Med. Entomol. Zool., 55: 195-199, 2004.

8）Kurahashi, H. and Sukontason, K. L.: A new species of *Sinonipponia* (Diptera: Sarcophagidae) from Thailand. Med. Entomol. Zool., 55: 191-193, 2004.

9） Pape, T. and Kurahashi, H.: Three new species of *Sarcophaga* (Insecta: Diptera: Sarcophagidae) from Timor; with a lectotype designation for *Myophora peronii*. Species Diversity, 9: 165-185, 2004.

10）Sukontason, K., Skontason, K. L., Piangjai, S., Boonchu, N., Kurahashi, H., Hope, M. and Olson, J. K.: Identification of forensically important fly eggs using a pottassium permanganate staining techinique. Micron, 35: 391-395, 2004.

11）Kurahashi, H.: Studies on the Calypterate Muscoid flies from Japan XII. One new and two newly recorded species of sarcophagid flies (Diptera: Sarcophagidae). Med. Entomol. Zool., 55: 295-301, 2004.

12） Sukontason, K., Sukontason, K. L., Plangjai, S., Choochote, W., Boonchu, N., Chaiwong, T. and Kurahashi, H.: Fine structure of the eggs of blowflies *Aldrichina grahami* and *Chrysomya pacifica* (Diptera: Calliphoridae). Biol. Res., 57: 483-478, 2004.

13）Hayashi, T. and Papp, L.: The genus *Lotobia* Lioy (Diptera, Sphaeroceridae)from the Oriental Region. Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 50: 211-225, 2004.

14）Kurihara, T., Shinohara, A. and Kurahashi, H.: Type specimens of mosquitoes (Diptera, Culicidae) deposited in the National Science Museum, Tokyo. Bull. Natl. Sci. Mus. Ser. A(Zool.), 30:45-60, 2004.

15）Moribayashi, A., Sugie, H., Katagiri, C., Uchida, K., Kobayashi, M. and Agui, N.: Polyunsaturated fatty acid, eicosapentaenoic acid, mediates larval-pupal and pupal-adult development in the malarial vector mosquito, *Anopheles stephensi*. Med. Entomol. Zool., 55: 59-66, 2004.

16）Maekawa, J. A., Hayakawa, Y., Sugie, H., Moribayashi, A., Kura, F., Chang, B., Wada, A. and Watanabe, H.: Legioliulin, a new isocoumarin in compound responsible for blue-white autofluorescence in Legionella (Fluoribacter) dumoffii under long-wavelength UV light. Biochem. Biophys. Res. Commun., 323: 954-959, 2004.

17）Nihei, N., Yoshida, M., Kaneta, H., Shimamura, R. and Kobayashi, M.: Analysis of the dispersal pattern of newly introduced *Latrodectus hasseltii* (Araneae: Theridiidae) in Japan by spider diagram. J. Med. Entomol., 41: 269-276, 2004.

18) Nihei, N.,Kajihara, N., Kirinoki, M., Chigusa,Y., Saitoh, Y., Shimamura,R., Kaneta, H. and Matsuda, H:Fixed-point observation of *Oncomelania nosophora* in Kofu Basin-establishiment of monitoring system of schistosomiasis japonica in Japan. Parasitology International, 53, 199-205, 2004.

19）Sawabe, K., Ueda, T., Higashi, K. and Lee, S.M.: Genetic identity of Japanese *Sympetrum frequens* and Korean *S. depressiusculum* inferred from mitochondrial 16S rRNA sequences (Odonata: Libellulidae). Int. J. Odonatol., 7: 517-527. 2004.

20）Kato, N., Iwanaga, S., Okayama, T., Isawa, H., Yuda, M. and Chinzei,Y.: Identification and characterization of the plasma kallikrein-kinin system inhibitor, Haemaphysalin from hard tick, *Haemaphysalis longicornis*. Thromb. Haemostasis, 93: 359-367, 2005.

21）Kasai, S.: Role of cytochrome P450 in mechanism of pyrethroid resistance. J. Pestic. Sci., 29: 220-221, 2004.

22）Scott, J. G. and Kasai, S.: Evolutionary plasticity of monooxygenase-mediated resistance. Pestic. Biochem. Physiol., 78: 171-178, 2004..

23）Nabeshima, T., Mori, A., Kozaki, T., Iwata, Y., Hidoh, O.,

Harada, S., Kasai, S., Severson, D. W., Kono, Y. and Tomita, T.: An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in a Japanese encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*. Biochem. Biophys. Res. Commun., 313: 794-801, 2004.

24）Toda, S., Komazaki, S., Tomita, T., Kono, Y.: Two amino acid substitutions in acetylcholinesterase associated with pirimicarb and organophosphorous insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). Insect Mol. Biol., 13: 549-553, 2004.

25）Tomita, T., Yaguchi, N., Mihara, M., Agui, N., Kasai, S: Sodium channel point mutations associated with pyrethroid resistance in the head louse, *Pediculus humanus capitis*. In: Environmental Fate and Safety Management of Agrochemicals (ed. Clark, J. M., Ohkawa, H.) pp. 234-243, Am. Chem. Soc.

２．和文発表

1）小林睦生：旅行医学－望まれる診療体制の確立と普及, 海外旅行と感染症　３．虫よけ. 治療学, 38(3): 42-44, 2004.

2）澤邉京子，小林睦生：ウエストナイル熱媒介蚊と吸血嗜好性．ファルマシア，40: 527-531, 2004.

3）小林睦生：ウエストナイルウイルスの伝播と媒介蚊の役割．獣医疫学雑誌，8(1): 5-7, 2004.

4）倉根一郎, 小林睦生：ウエストナイル熱. INTERET, 3(8): 6-7, 2004.

5）葛西真治：ピレスロイド剤抵抗性要因としてのシトクロム P450 に関する研究. 日本農薬学会誌. 29: 234-239, 2004.

6）二瓶直子：感染症と GIS．保健医療のための GIS（中谷友樹, 谷村　晋, 二瓶直子, 堀越洋一編著）, pp. 127-165, 古今書院，2004.

7）石井則久，小林睦生：疥癬．感染症の事典，（国立感染症研究所学友会編），pp. 42-43,朝倉書店，2004.

8）小林睦生：シラミ症．感染症の事典（国立感染症研究所学友会編），pp. 121-122, 朝倉書店，2004.

9)安居院宣昭：腸管出血性大腸菌 O157 汚染バエの問題．感染症の事典（国立感染症研究所学友会編），p. 157, 朝倉書店，2004.

10）津田良夫：デング熱媒介蚊の生態（東南アジアを例として）．病原微生物検出情報，25(2): 9-10, 2004.

11）小林睦生：増加が見られるアタマジラミ．小学保健ニュース，第 745 号付録，2005 年 3 月 8 日号.

12）小林睦生：ウエストナイル熱媒介蚊対策の重要性と問題点．生活と環境 50(3): 7, 2005.

13）林　利彦：赤坂御用地のフンコバエ類．国立科学博物館専報，39: 363-366, 2005.

14）林　利彦：日本産フンコバエ類の国内分布に関する新知見と記録の削除（双翅目）．双翅目談話会誌 ”はなあぶ”，19: 5-12, 2005.

15）栗原　毅：蚊－疾病流行をモニターする．医学のあゆみ，210(2): 166-170, 2004.

16）二瓶直子（監修）：世界情報地図（2005 年度版）．日本文芸社，2005 年 1 月.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1）Kasai, S. and Tomita, T.: Male specific exprssion of a cytochrome P450 (*Cyp312al*) in *Drosophia melanogaster*. 7th International Symposium of Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology, August 1-5, 2004. Awaji Yume-Butai, Hyogo..

2）Kasai, S., Shono, T., Komagata, O. and Tomita, T.: Role of P450s in pyrethroid resistance of *Culex pipiens* complex. 7th International Symposium of Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology, August 1-5, 2004. Awaji Yume-Butai, Hyogo..

3）Sawabe, K., Isawa, H., Sasaki, T., Roychoudhury, S., Tsuda, Y., Higa, Y., Kasai, S. and Kobayashi, M.: Identification of bloodmeals in field collected mosquitoes based on cytochrome b sequences. The 40th Joint Conference on Parasitic Dieseases, The Japan-United States cooperative Medical Science Program, December 12, 2004.

２．国内学会

1）小林睦生：ウエストナイルウイルスの伝播と媒介蚊の役割．シンポジウム ”ウエストナイルウイルス感染症の疫学 ”－現状と対策－，第 16 回獣医疫学会学術集会シンポジウム，16 年 4 月 3 日，藤沢市.

2) 堀尾政博, 荻野和正, 金澤　保, 小林文夫, 巌城 隆, 奥祐三郎, 神谷正男, 二瓶直子, 林　利彦：ハエ類が多包条虫虫卵を摂食・排泄してヒトを含む中間宿主に伝播させる可能性の検討. 日本寄生虫学会大会, 16 年 4 月 3-4 日, 前橋市.

3) 安居院宣昭：ハエ類の生殖生理機構の解明ならびに病原体伝播に関する一連の研究. 第 56 回日本衛生動物学会大会学会賞受賞講演, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

4) 二瓶直子：地理情報システムと衛生動物－画像化して考える－. シンポジウム「衛生動物学と関連分野の協調」Ⅰ. フィールド調査に関連して. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

5) 小林睦生：ウエストナイル熱と SARS－ウイルス学との共同－. シンポジウム「衛生動物学と関連分野の協調」Ⅱ. 人獣共通感染症への疫学対応. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

6) 岩永史朗, 伊澤晴彦, 油田正夫, 鎮西康雄：フタトゲチマダニ由来トロンビン阻害剤の同定および機能解析. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

7) 佐々木年則, Pundel, S. K. S., 伊澤晴彦, 冨田隆史, 澤邉京子, 小林睦生：ネパールの児童の頭部より採取されたシラミ由来のバルトネラ. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

8) 荻野和正, 堀尾政博, 金澤　保, 小林文夫, 巌城　隆. 奥祐三郎, 神谷正男, 八木欣平, 林　利彦, 二瓶直子, 小林睦生：ハエ類がヒトの多包虫感染に関与する可能性の検討－野外ハエ類の多包条虫虫卵摂取について－. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

9) Sudipta Roychoudhury, 伊澤晴彦, 澤邉京子, 佐々木年則, 小林睦生：ヤブカ寄生性原虫 *Ascogregarina culicis* のリボゾーム DNA および熱ショック蛋白質 70 遺伝子のクローニング. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

10) 伊澤晴彦, 油田正夫, 織戸由貴, 神宮司成弘, 岩永史朗, 加藤紀子, 鎮西康雄：ブラジルサシガメ唾液腺に見いだされた接触相活性化を阻害する新規生理活性蛋白質の性状解析. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

11) 森林敦子, 林　利彦, 倉橋　弘, 小林睦生, 内田桂吉, 杉江　元：クロバエ２種の脂質について. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

12) 栗原　毅, 篠原明彦, 倉橋　弘：国立科学博物館所蔵の蚊類タイプ標本. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

13) 林　利彦, 澤邉京子, 二瓶直子, 栗原　毅, 小林睦生：日本産ハマダラカ属３種の卵および蛹の形態比較. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

14) 高井憲治, 小熊　譲, 栗原　毅, 二瓶直子, 澤邉京子, 小林睦生：ハマダラカ *An. engarensis* 成虫雄における脚白帯による *An. sinensis* との鑑別. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

15) 澤邉京子, 二瓶直子, 高井憲治, 林　利彦, 栗原　毅, 小林睦生：日本産ハマダラカ属 hyrcanus 種群の分類と北海道における分布域の推定. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

16) 比嘉由紀子, 當間孝子, 岡村智子, 寺田千春, 宮城一郎, 新城安哲, 小野寺至：沖縄県におけるネッタイシマカの侵入の有無及びヒトスジシマカの産卵消長に関する調査. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

17) 斉藤康秀, 服部順子, 茅根士郎, 二瓶直子, 津田良夫, 倉橋　弘, 小林睦生：蚊成虫捕獲トラップのための二酸化炭素源：酵母による生物発酵法. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

18) 津田良夫, 倉橋　弘, 林　利彦, 葛西真治, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 澤邉京子, 冨田隆史, 二瓶直子, 小林睦生：都市域におけるドライアイストラップによる蚊類の発生状況調査. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

19) 倉橋　弘, 津田良夫, 林　利彦, 葛西真治, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 澤邉京子, 冨田隆史, 二瓶直子, 小林睦生：ドライアイストラップで捕集された都市域の昆虫類. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

20) 小林睦生. 伊澤晴彦, 佐々木年則, 二瓶直子, 澤邉京子, 津田良夫：北海道能取湖におけるドライアイストラップによる蚊の捕集:設置場所と捕集数に関する考察. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井

市.

21）小林睦生，二瓶直子，栗原　毅：東北地方におけるヒトスジシマカの分布域拡大と関連する要因．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

22）吉田政弘，山下敏夫，小原豊美，小林睦生：都市域における蚊の発生状況（2003 年）．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

23）津田良夫：蚊類の発生源としての公園の雨水マス調査．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

24）川田　均，前川芳秀，津田良夫，高木正洋：メトフルトリンを含有した常温揮散製剤の蚊に対する空間忌避効果に関する検討（１）インドネシア・ロンボク島における野外実験．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

25）川田　均，前川芳秀，津田良夫，高木正洋：メトフルトリンを含有した常温揮散製剤の蚊に対する空間忌避効果に関する検討（２）インドネシア・ロンボク島のブルガにおける *Culex quinquefasciatus, Anopheles balabacensis, An. sundaicus* を対象とした野外試験．第 56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

26）二瓶直子，小林睦生，橋田良彦，金田弘幸，川端眞人，太田伸生，Bakote'e, B., Leafasia, J., 石井　明：地理情報システム GIS によるソロモン諸島国マラリアリスクの推定．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

27）冨田隆史，石川　剛，正野俊夫，津田良夫，小林睦生，葛西真治：首都圏を中心としたウエストナイル熱媒介蚊の殺虫剤感受性試験：ピレスロイド剤抵抗性アカイエカ群の確認．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

28）葛西真治，石川　剛，李時雨，正野俊夫，津田良夫，小林睦生，冨田隆史：ピレスロイド剤抵抗性アカイエカ群の抵抗性機構について：日本産アカイエカからの *kdr* 遺伝子の初確認．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

29）澤邉京子，伊澤晴彦，佐々木年則，Sudipta Roychoudhury, 西海　功，濱尾章二，津田良夫，小林睦生：チトクローム b 遺伝子解析による吸血源動物種の同定．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

30）伊澤晴彦，澤邉京子，佐々木年則，津田良夫，倉橋弘，高崎智彦，吉田政弘，渡辺　護，小林睦生：本邦野外捕集蚊からのアルボウイルスの分離．第 56 回日本衛生動物学会大会，16 年 4 月 5-7 日，福井市.

31）小林睦生：気候変化が媒介昆虫の分布，生理，生態に与える影響．環境省ヒートアイランド現象による環境調査検討会，16 年 6 月 16 日，東京都.

32）小林睦生，津田良夫，林　利彦，葛西真治，伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子，冨田隆史，二瓶直子，吉田政弘：都市部を中心としたウエストナイル熱媒介蚊の発生状況．第 39 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，16 年 6 月 17-18 日，神戸市.

33）澤邉京子，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，小林睦生：野外捕集蚊におけるチトクローム b 遺伝子解析による吸血源動物種の同定．第 39 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，16 年 6 月 17-18 日，神戸市.

34）伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，澤邉京子，津田良夫，倉橋　弘，高崎智彦，吉田政弘，渡辺　護，小林睦生：本邦生息蚊類のウイルス保有状況調査．第 39 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 16 年 6 月 17-18 日, 神戸市.

35）吉田政弘，山下敏夫，小原豊美，小林睦生：都市域における蚊調査とくに，アカイエカの越冬について．第 39 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，16 年 6 月 17-18 日，神戸市.

36）澤邉京子：ウエストナイル熱媒介蚊と吸血嗜好性―遺伝子情報から探る蚊の吸血源動物種―．第 51 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会，16 年 9 月 17 日，秋田市.

37）冨田隆史：殺虫剤抵抗性の分子機構：どこまでわかっているか？何に役に立つか？岡山大学資源生物科学研究所学術講演会，16 年 10 月 1 日，倉敷市.

38）青木千春，大塚　靖，高岡宏行，林　利彦：大分県におけるメマトイ類の 2003－2004 年の採集成績および Thelazia 幼虫自然感染．第 57 回日本寄生虫学会南日本支部・第 54 回日本衛生動物学会南日本支部合同大会，16 年 10 月 22 日，北九州市.

39）津田良夫：都市部の総合公園における蚊の生態調査．第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会，16 年 10 月

25 日，川崎市.

40）比嘉由紀子，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，二瓶直子，澤邉京子，津田良夫，小林睦生：北海道東部におけるドライアイストラップによる蚊の捕集．第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会，16 年 10 月 25 日，川崎市.

41）小林睦生，Sudipta Roychoudhury， 比嘉由紀子，二瓶直子，伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子，津田良夫：日本産ヤブカ類幼虫に新たに認められた *Ascogregaria* spp.について．第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会，16 年 10 月 25 日，川崎市.

42）葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史，澤邉京子，比嘉由紀子，津田良夫，小林睦生，元木　貢，高橋朋也，谷川　力，吉田政弘：日本産アカイエカとチカイエカの分子生物学的判別法．第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会，16 年 10 月 25 日，川崎市.

43）駒形　修，葛西真治，冨田隆史：イエカ属のシトクロム P450 遺伝子群の網羅的解析. 第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会，16 年 10 月 25 日，川崎市.

44）澤邉京子，伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，津田良夫，比嘉由紀子，小林睦生，福士克男，宮川憲三，田村安雄，佐藤英毅：本邦産野外捕集蚊からのウエストナイルウイルスの検出－2004 年度前期報告－．第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会，16 年 10 月 25 日，川崎市.

45）秦　和壽，栗原　毅：衛生害虫の伝統的な対応法(13)「蚊火」「火縄」及び「だんのう」．第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会，16 年 10 月 25 日，川崎市.

46）冨田隆史，葛西真治，駒形　修，谷川　力：チャバネゴキブリ野外コロニーにおける *kdr* 遺伝子の分布．第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会，16 年 10 月 25 日，川崎市.

47）倉橋　弘：アサヒナニクバエの分類再検討．第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 16 年 10 月 25 日，川崎市.

48)二瓶直子：空間情報技術を応用した医療・保健[空間情報社会]シンポジウム，空間情報科学技術で築く快適・安全・活力のある社会．日本学術会議地理研連主催，日本衛生動物学会ほか後援，17 年 3 月 4 日， 東京都.

49）駒形　修，葛西真治，冨田隆史：ピレスロイド抵抗性ネッタイイエカのシトクロム P450 遺伝子群の解析．第 49 回日本応用動物昆虫学会大会，2005 年 3 月 24-26 日，東京都.

50）葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史，澤邊京子，比嘉由紀子，津田良夫，小林睦生：アセチルコリンエステラーゼ遺伝子によるウエストナイル脳炎媒介蚊の分子分類．第 49 回日本応用動物昆虫学会大会，2005 年 3 月 24-26 日，東京都.

51）冨田隆史，李時雨，駒形　修，葛西真治：コロモジラミにおける 2 つのアセチルコリンエステラーゼ(AChE)遺伝子の発現量差．第 49 回日本応用動物昆虫学会大会，2005 年 3 月 24-26 日，東京都.

52）水野　壮，葛西真治，冨田隆史，河野義明，今西重雄：ヒトスジシマカ成虫と培養細胞の AChE cDNA 配列の決定．第 49 回日本応用動物昆虫学会大会，2005 年 3 月 24-26 日，東京都.

53）呉承協，古崎利紀，冨田隆史，河野義明：殺虫剤抵抗性昆虫由来のアセチルコリンエステラーゼ(AChE) cDNA の発現と酵素特性の解析．第 49 回日本応用動物昆虫学会大会，2005 年 3 月 24-25 日，東京都.

54）星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子：*Anopheles stephensi* の初代培養．第 49 回応用動物昆虫学会大会，17 年 3 月 24-26 日，東京都.

12.獣医科学部

部長　山田章雄

概　要

平成 16 年度は 17 年度に第 4 室が大阪に新設される（独）医薬基盤研究所へ移管されることもあり、その準備等に追われた面があった。また、昨年度の SARS にとどまらず、79 年ぶりの高病原性鳥インフルエンザの国内発生など、相変わらず動物由来感染症に対する関心を招くような事態が生じた。当部も本省の要請で鳥のインフルエンザの検査体制を整備するなど、少なからず影響を受けた。研究面ではこういった緊急対応の他に、各室の研究業務が厚生労働科学研究費等の援助を受け着実に実施された。人事面では第 1 室に朴研究員の後任として、鈴木道雄が、また、第 3 室には宇田晶彦が採用され、着任した。これでこれまでの欠員が全て埋まり、大勢の若手研究者が獣医科学部に加わったことになる。今後の精進を期待したい。

業　績

調査・研究

I. 動物由来感染症に関する研究

１．　愛玩動物の衛生管理の徹底に関する研究

愛玩動物の多様化や室内など人と近い距離での飼育が多くなってきたことから、愛玩動物由来感染症が増加し新しい公衆衛生問題となる可能性が危惧されている。そこで咬傷関連感染症、ブルセラ症、エキゾチックペット由来感染症、オウム病、真菌症、および猫ひっかき病等の実験室内診断法の開発と改良を行うとともに、発生状況の調査や衛生管理に関する調査を行った。また、新しい愛玩動物であるエキゾチックアニマルの持つヒトへの感染のリスクも明らかにし、さらに、人間の感染症が愛玩動物をベクターとして拡散する危険性に対しても対策が必要なことを示した。

一方で愛玩動物の飼い主や小動物臨床獣医師に対する意識調査の結果、愛玩動物から病気がうつる可能性があることについては 70%以上の飼い主が認識しているものの、その予防法に関しては知識や情報が不足していることが示された。また、検査機関の不足を指摘する意見や、4 類感染症の動物における発生動向等の把握や報告に関する仕組みの整備を求める意見等が特筆された。医療機関や市民等に向けた幅広い教育啓発活動や、動物由来感染症の検査機関の確保、発生動向調査、医師と獣医師の間で動物由来感染症に関する情報交換を円滑にするためのシステムが必要と考えられた。[神山恒夫、今岡浩一（感染研・獣医科学部）、岸本寿男（感染研・ウイルス第一部）、荒島康友（日大・医）、宇根有美（麻布大・獣医）、佐野文子（千葉大・真菌センター）、丸山総一（日大・生物資源）]

２．ブルセラ症・病に関する研究

（１）ブルセラ属菌の菌種同定のための特異的 Real-time PCR 法の開発に関する研究

ブルセラ属菌（*B. abortus* (以下 *BA*)、*B. melitensis* (*BM*)、*B. suis* (*BS*)、*B. canis* (*BC*)）の菌種を同定するための Light-Cycler を用いた Real-time PCR 法を開発した。プライマーは、昨年度報告した細胞表面タンパク(BCSP31)および外膜タンパク(*BA* 型：OMP2ab、 BC 型：OMP2ca、OMP31)遺伝子領域に対する４セットを用い、その増幅領域内にハイブリダイゼーションプローブを作製した。*BA* は BCSP31, OMP2ab、*BM* は BCSP31, OMP2ab, OMP31、*BC* は BCSP31, OMP2ca, OMP31、BS はすべてと、菌種による反応性の違いが認められた。特異性も高く、感度は PCR の約 100 倍で、反応に要する時間も 40 分程度であった。ブルセラ属菌のうちヒトに感染しうる主要４菌種を迅速・高感度に同定することが可能となった。 [今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、神山恒夫、山田章雄]

（２）イヌブルセラ病の疫学的調査・研究

ブルセラ属菌のうち *B. canis* はイヌを自然宿主とし、

イヌにおける流産や不妊等の原因となることが知られている。また、まれにヒトにも感染することがある。そこで現在のイヌの感染状況を知るために *B. canis* に対する抗体検査をおこなった。イヌ血液は K 市動物愛護センターより入手した。平成 15 年度は 102 頭中３頭（2.9%）、16 年度は 115 頭中６頭（5.2%）が陽性であった。現在も *B. canis* 感染が、国内のイヌに常在していることが確認された。16 年度の陽性例のうち５頭は明らかにペットとして飼育されていた。健康な人では発症しないか、軽症のため感染に気づかない可能性もある。イヌだけではなく、ヒトにおける抗体調査も必要だと考えられる。[木村昌伸、今岡浩一、鈴木道雄、山田章雄、神山恒夫]

３．カプノサイトファーガ属菌に関する疫学的調査・研究

カプノサイトファーガ属菌はイヌの口腔内に常在するグラム陰性桿菌である。ヒトがイヌに咬まれた際に傷口から感染し、種々の症状を呈することがあり、症例数は多くないものの、発症した場合の死亡率は 30%程度と比較的高い。日本国内におけるカプノサイトファーガ属菌のイヌでの保有状況については詳細な報告がないことから、K 市動物愛護センターより口腔内拭い液を入手し、遺伝子検査および菌分離を行った。平成 17 年２月までの調査の結果、44 検体中 38 検体が遺伝子検査陽性であり、国内のイヌが同菌を高率に保有していることが明らかとなった。[鈴木道雄、今岡浩一、木村昌伸、山田章雄、神山恒夫]

４．ペスト菌の検出と診断法の確立

Y. pestis は重要な動物由来感染症であり、バイオテロに使われうると考えられるなど、特異的迅速診断法の開発が必要とされている。*Y. pestis* における病原性に関与する３種類のプラスミドを検出するための Light-Cycler を用いた Real-time PCR 法を確立し、検出時に用いる陽性対照プラスミドの作製を行った。いずれも特異性は高く、検出感度は反応サンプル中に約 10 コピーあれば検出可能であり、PCR で検出限界以下であったサンプルでも、LC では検出可能であった。

以上、すでに確立した検出法を組み合わせて、実際に *Y. pestis* が疑われる事例が発生した場合の検出・診断システムとして、次のようなものが考えられた。PCR や特別な機器を必要としない LAMP 法は、多くの施設で実施可能であるので、事例が発生した場合、まず、その地域における試験・研究施設で検出・診断を試みる。判断がつきかねる、または病原性プラスミドの詳細な検討が必要な場合、LC を所持する施設において、さらに高感度の検出・診断を実施する。このように、検出方法を組み合わせることで、*Y. pestis* の迅速・高感度な検出システムの構築が可能になると考えられた。[今岡浩一、神山恒夫、山田章雄]

５．屋外および屋内ラットにおける鼠咬症原因菌保有状況調査

日本における屋外および屋内の野生ラット（ドブネズミ、クマネズミ）における鼠咬症原因菌の１つである *S. moniliformis* の保菌状況の調査を行った。菌分離が困難なため、培養液から 16S rRNA を標的として数種類のプライマーを組み合わせた PCR で検出を試みた。その結果、高率に保菌していることが明らかとなり、患者の報告は定かではないが、今後、感染・発症例が出ても不思議ではないことが示された。MMWR に報告されたように発症後、死亡までの経過が非常に短い例もあるので、診断・同定法の開発が必要である。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、神山恒夫（感染研・獣医科学部）、小泉信夫（感染研・細菌第一部）、谷川力（イカリ消毒株式会社）]

６．渡り鳥におけるウエストナイルウイルスに対する抗体保有状況調査

ウエストナイルウイルス(WNV)の国内への侵入に備えるため、渡り鳥（主にカモ類）の抗体保有状況を検討した。カモ類の血液をろ紙へ付着させた物をサンプルとして、大日本猟友会を介して４県より 29 検体が回収された。依頼開始の遅れによる狩猟期間の短縮、血液のろ紙へ付着量のばらつき、その鮮度の問題など、次年度以降に改善すべき点がいくつか見つかった。中和抗体を、PRNT で検討したところ、一部検体が弱いながら JEV および WNV に対して中和活性を示した。抗体の交差反応も考えられることから、その特異性等、詳細について検討を続けている。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、山田章雄]

７．狂犬病に関する研究

（１）我が国における狂犬病予防対策の有効性評価に関する研究

我が国ではイヌの狂犬病対策を強力に推進して国内から狂犬病を一掃したが、近年の海外における狂犬病再流行や流行拡大、イヌ以外の野生動物における狂犬病の流行、ヒトや動物、物資などの流通形態のグローバル化が国内への狂犬病侵入経路や発生リスクを多様化させていると考えられる。そこで、（１）現行法による狂犬病対策（犬の登録とワクチン接種、野犬等の取締、輸入検疫等）の現状把握、（２）自治体の体制整備状況の把握、（３）狂犬病の国内侵入経路の調査、（４）狂犬病侵入リスクと狂犬病発生時に予想される被害のモデル解析、（５）上記した研究結果の分析による現行の狂犬病対策の有効性評価を行なった。日本を取り巻く狂犬病の発生状況では国内への狂犬病侵入リスクを全て否定できないことから、自治体における検査体制を強化するとともに野生動物も含めた狂犬病のモニタリングやサーベイランス体制の構築、発生時の対応マニュアルの整備、自治体に対する技術的援助の推進(狂犬病研修会等)が必要と考えられた。また、本研究で行なわれた疫学的・数理統計的解析は国内で初めての試みであり、狂犬病が侵入するリスク経路等の数理的解析、現行法や海外で行なわれている狂犬病対策の狂犬病発生リスク分析、対策システム構築費用対効果の算出、狂犬病の発生時に予想される公衆衛生上の被害の数値化ついては継続した解析が必要である。 [井上　智、沼田一三（兵庫県龍野健康福祉事務所)、岡崎留美（東京都動物愛護相談センター)、青木憲雄（那珂動物病院)、新井　智（感染研・感染症情報)、大日康史（感染研・感染症情報)、源　宣之（岐阜大学獣医学講座)、佐藤　克（佐藤獣医科)、長谷川徹（東京都動物愛護相談センター)、野口　章、奥谷晶子、加来義浩、山田章雄]

（２）狂犬病ウイルスの遺伝子診断に使用する安全で簡易な陽性対照鋳型 RNA の作出

狂犬病の発生が疑われた場合の迅速な検査法として遺伝子診断の普及が期待されるが、狂犬病清浄国である国内で検査の陽性対照をウイルスとして保持することは容易でない。そこで、狂犬病の遺伝子診断用に、生ウイルスを使用しない安全で再生産可能な陽性対照鋳型 RNA 産生システムの作出を行なった。陽性対照鋳型RNAは、遺伝子診断に使用する狂犬病ウイルスの遺伝子をプラスミドベクターに組み込み RNA polymerase promoter 活性を利用して産生を行なった。陽性対照鋳型 RNA から増幅される遺伝子とウイルス由来の遺伝子を識別可能とするため、陽性対照鋳型 RNA からの増幅遺伝子サイズの縮小と鋳型 RNA の塩基配列に変異を挿入した。これによりクロスコンタミネーションが疑われた場合の検証が可能となった。[野口 章、井上 智、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄]

（３）短期間で大量生産が可能な狂犬病ウイルス（RV）モノクローナル抗体産生法に関する研究

一般に、検査・研究用のモノクローナル抗体は、免疫動物の脾細胞とミエローマを融合して抗原特異的な抗体を産生するハイブリドーマをクローニングすることにより作出しているが多くの時間と労力が必要である。そこで、抗体様分子として知られているグロブリンの H 鎖、L 鎖 1 対から成るモノクローナルな scFv (single chain variable fragment)を、scFv 発現ファージライブラリーから短期間にクローニングを行うことにより、新規に必要とされるモノクローナルな抗体を短期間に作製する系の確立を行なった。今回、Tomlinson I+J ライブラリーより、RV の P 蛋白、N蛋白、G 蛋白の部分蛋白に対する scFv のクローニングを行ない、ELISA、ウエスタンブロッティングあるいは FA においてターゲット蛋白と特異的に反応する scFv の産生を可能にした。[加来義浩、井上　智、野口　章、佐藤こずえ（岐阜連合大学院)、山田章雄]

（４）抗狂犬病ウイルス IgY 抗体によるホルマリン固定材料からの抗原検出

狂犬病の報告がない日本では可能なかぎり生ウイルスを使用しない安全性の高い簡便な診断・検査法が望まれる。そこで、生ウイルスを使用しない安全性の高い簡便な狂犬病ウイルスの抗原診断系を（１）大腸菌による組換えタンパクの発現、（２）免疫鶏卵法による IgY 抗体の産生、（３）免疫組織抗体法によるホルマリン固定された狂犬病ウイルス抗原の検出法を組み合わせて可能とし

た。[朴　天鎬（北里大・獣医)、井上　智、野口　章、本井ゆり恵（岐阜連合大学院)、山田章雄]

（５）狂犬病ウイルス（CVS-11）を感染させたC57BL/6J マウスの中枢神経系と骨格筋の感染病理

狂犬病ウイルスは咬傷部位の骨格筋で複製された後に末梢神経の軸索を上行して脳脊髄に侵入すると考えられているが、骨格筋での感染病理像についてはいまだ不明である。狂犬病ウイルス（CVS-11 株）をマウス骨格筋に接種して骨格筋でのウイルスの局在と末梢から中枢へのウイルス伝播と病理発生について検索を行ない、骨格筋での持続的な狂犬病ウイルスの複製と末梢有髄神経を介した上行性の経時的感染経路について病理組織学的に明らかとした。[朴　天鎬（北里大・獣医)、井上　智、野口　章、小山田敏文（北里大・獣医)、吉川博康（北里大・獣医)、山田章雄]

８．炭疽菌に関する研究

（１）炭疽菌の遺伝子診断において擬陽性判定を安全に簡便かつ容易とする陽性対照鋳型 DNA の作出

組換体を利用して作出した安全で簡便な陽性対照鋳型 DNA から診断用プライマーで増幅される遺伝子産物のサイズを小さくすることにより陽性対照のクロスコンタミ検証と PCR 反応系の作動検証を可能とした。診断プライマーによる鋳型 DNA からの増幅サイズ縮小は、陽性対照鋳型 DNA を組み込んだプラスミド（pGEM-TE)を利用して制限酵素 NspV 処理後に self ligation で作成した PAshort-pGEM（pag 遺伝子）と診断プライマーを組み込んだ合成プライマーを用いた PCR で作成した CAPshort-pGEM（cap 遺伝子）によって可能とした。WHO 推奨の炭疽菌検出用プライマー（PA5、PA8、CAP1234、CAP1301)による増幅遺伝子のサイズは PAshort-pGEM で 331bp、CAPshort-pGEM で 490bp となった。[奥谷晶子、井上　智、野口　章、山田章雄]

９．ヘニパウイルス感染症に関する研究

（１）ヘニパウイルス感染症の血清検査系の導入

ニパウイルス（NiV）感染症、ヘンドラウイルス（HeV）感染症の原因ウイルスは BSL4 施設での取り扱いが求められるが、わが国では BSL4 施設が稼動していないため生ウイルスを使用しない検査系が必要となる。そこで、豪州家畜衛生研究所（AAHL）から NiV、HeV 不活化ウイルスと NiV 陽性・陰性ブタ血清、HeV 陽性・陰性ウマ血清を導入して不活化ウイルスを固相化抗原としたELISA による血清検査系の確立を行なった。導入した不活化抗原を用いた ELISA においてブタ及びウマの陽性血清のみで特異的な反応が確認された。[加来義浩、井上　智、野口　章、山田章雄（感染研・獣医）]

１０．コウモリ由来感染症に関する研究

（１）コウモリ由来感染症の血清検査系の開発

コウモリを宿主とする狂犬病（リッサウイルス感染症を含む）やヘニパウイルス感染症の国内における実態把握、モニタリングおよびサーベイランスには感染コウモリの抗体検出系が有効であるが、コウモリ血清に対する特異性の高い 2 次抗体のないことが課題となっている。今回、Tomlinsn I+J ライブラリーを利用してルーセットオオコウモリの精製 IgG に反応する抗体様分子 scFv のクローニングを行なった。現在、固相化したコウモリの精製 IgG に強く反応する scFv がクローニングされておりコウモリ血清に対する ELISA 検出系の確立について検討を行なっている。[加来義浩、井上　智、野口　章、山田章雄（感染研・獣医）]

１１．野兎病に関する研究

（１）簡易型別 PCR の日本分離野兎病菌(*Francisella tularensis*)への応用

野兎病の主な起因菌である *F. tularensis* subsp. *tularensis*(A 型)と subsp. *holarctica*(B 型)を迅速簡易に型別し病原性を推定する型別 PCR 法を国内分離菌株及び海外由来株に応用した。国内 16 株と海外 7 株について IS*Ftu2* を含む領域を増幅するプライマーセットを用いて PCR を行い、増幅断片のサイズ解析を行った結果、米国由来 A 型株 2 株では 390bp の DNA 断片が増幅され、国内由来 B 型株 16 株およびロシアや中国由来の 5 株ではいずれも IS*Ftu2* を含む断片(1249p)が増幅された。分離菌の培養を伴う生化学的性状を調べることなく 2 亜種の区別が可能であり、これまで報告されていたように日本国内には B 型菌が分布すると推定された。

[棚林　清、堀田明豊、藤田　修、宇田晶彦、山田章雄]

（２）日本で分離された野兎病菌の Short-sequence tandem repeat(SSTR)の特徴

野兎病菌(*Francisella tularensis*)の亜種あるいは型別に関して、ゲノム上に存在する繰り返し塩基配列(SSTR)のコピー数で分類が行われている。これまでに報告されている 6 領域の SSTR に注目し、国内で分離された野兎病菌(*F. tularensis* subsp. *holarctica*)の SSTR の解析を行い、その塩基配列の特徴を明らかにし海外由来の同亜種菌株との鑑別が可能か検討した。その結果、6 領域中 2 領域で海外由来株とは明瞭に異なる SSTR が認められ、これらの領域の PCR 増幅サイズの比較および塩基配列解析により両者の鑑別が可能であることが示唆された。

［藤田　修、奥谷晶子、堀田明豊、井上　智、棚林　清、山田章雄］

（３） 抗野兎病菌モノクローナル抗体（MAbs）の性状解析

7 種の MAbs（M11D3、M11H7、M13B10、M14B11、M15C6、S11E7 および U22F2）の性状を解析した。MAbs M11D3 および M15C6 は IgM、他 5 種は IgG であった。全 MAbs は *Francisella* 属以外の他 11 種の菌と交差反応しなかった。リポ多糖体認識の 3 種の MAbs（M11H7、M14B11 および M15C6）は *F. tularensis* に特異的に反応した。M14B11 および M15C6 はスライド凝集反応において菌体凝集能が認められた。蛋白質を含む抗原を認識すると考えられた他 4 種の MAbs は他の *Francisella* 属菌とも反応した。今後、これらの MAbs を用い *Francisella* 属菌の抗原性状の詳細を解析したい。

[堀田明豊、宇田晶彦、藤田　修、棚林　清、山田章雄]

（４）モノクローナル抗体（MAbs）を用いた野兎病菌の迅速検出・同定

4 種の IgG MAbs（M13B10、M14B11、S11E7 および U22F2）を精製し、蛍光色素を標識した。これら標識抗体を *F. tularensis* 感染マウスの脾臓、肝臓および肺のスタンプ標本からの菌体抗原検出に用いた。MAb M14B11 は 200 倍希釈、他の 3 種の MAbs は 20 倍希釈使用により、いずれの臓器からも鮮明な菌粒子像が確認できた。これらのことから標識 MAbs による直接蛍光抗体法は野兎病診断において迅速な *Francisella* 属菌の検出および *F. tularensis* の同定法として有効な手段になると思われた。

[堀田明豊、宇田晶彦、藤田　修、棚林　清、山田章雄]

１２．SARS コロナウイルスに関する研究

SARS コロナウイルス感染モデル動物の開発

SARS コロナウイルス（SARS-CoV）の感染モデル動物を開発するために、ヒトアンギオテンシン変換酵素 2（hACE2）を発現するトランスジェニックマウス（hACE2-Tg マウス）の作出を試みた。293T 細胞由来 hACE2 の cDNA を挿入した pCAGGSp7 発現ベクターを作製し、その DNA 断片をマウスに導入後、hACE2-Tg マウスを得た。導入 DNA 断片の PCR 陽性であった個体についてウエスタンブロット解析を行った結果、3 ラインにおいて心臓や骨格筋で hACE2 タンパク質の発現が確認された。また、3 ラインのうち 1 ラインにおいては弱いながらも肺でも発現が認められた。今後、得られた hACE2-Tg マウスの SARS-CoV に対する感受性の解析を行う。

[宇田晶彦、巽　正志（感染研・エイズ）、松田潤一郎、秦　朋子、竹川奈穂、藤田　修、堀田明豊、山本美江、山田章雄、棚林　清]

１３．その他の研究

カニクイザル MHC クラス I 遺伝子の解析

カニクイザルのクラス I 主要組織適合抗原（MHC クラス I）B 及び I 遺伝子座（Mafa-B 及び Mafa-I）の塩基配列決定を行った。その結果、16 頭のカニクイザルより Mafa-B は 33 種類、Mafa-I は 14 種類の塩基配列が得られた。これらの塩基配列は、近接結合法（NJ 法）を用いて解析した結果、Mafa-B は 26 種類、Mafa-I は 9 種類に分類され、各々対立遺伝子（アリル）として確立した。また、2～4 個の Mafa-B アリルが 1 個体から得られたので、カニクイザルのクラス IB 遺伝子座は、アカゲザルと同様に重複して存在している可能性が推測された。

[宇田晶彦、棚林　清、藤田　修、堀田明豊、寺尾恵治（感染研・霊長類センター）、山田章雄]

II. モデル動物の開発に関する研究

１． GM1-ガングリオシドーシスマウスに関する研究

（１） chemical chaperon 療法の治療薬の投与による副作用の検討

GM1 ガングリオシドーシスの中枢神経病変をターゲットとした chemical chaperon 療法の治療薬として期待される NOEV の副作用について、GM1 ガングリオシドーシス幼児型モデルマウス（ヒト変異β-Gal 遺伝子 R201C 導入 KO-Tg マウス）を用いて、予備的検討を行ったところ、５か月令モデルマウスへの 0.5 mM NOEV の５週間飲水投与では、飲水量、体重、血液生化学値にとくに大きな影響はなく、本条件下では副作用は認められなかった。今後、高濃度、長期投与による、詳細な副作用の検討が必要であると考えられる。

［山本美江、野口洋子、竹川奈穂、秦　朋子、鈴木　治、大島章弘、松田潤一郎、鈴木義之（国際医療福祉大）］

（２） GM1 合成酵素高発現マウスの解析

GM1 合成酵素遺伝子導入 Tg マウスの詳細な解析を行ったところ、４ラインの Tg マウスで脳ガングリオシド GM1 の増加は認められず、脳では分解系との均衡により GM1 量としては変化がなかったものと考えられた。また、Ｔｇマウス２ラインについてトランスジーンの染色体上の挿入部位が判明し、PCR による Tg ホモ、Tg ヘミ判定が可能となった。現在、β-Gal KO マウスへの GM1 合成酵素 Tg の導入を行っており、病態を解析中である。［野口洋子、秦　朋子、竹川奈穂、野口　章、鈴木治、山本美江、高野　薫、松田潤一郎］

２．シアル酸転移酵素遺伝子導入マウス 4C30 系に見られた心筋症の血行動態解析

心筋症発症ラインである 4C30 系マウスの心機能を解析するため,心臓の血行動態解析を行った。解析の結果，TG 群では B6 群に比べて収縮能の亢進，弛緩能異常，心室容積減少，心筋スティッフネス上昇，心拍出量低下が見られ，この病態は拡張型というよりもむしろ肥大型心筋症に合致していた。しかし，拡張期末期圧の低下や血管抵抗の上昇は肥大型心筋症には一致せず，他の内分泌的要素の関与が考えられた。これまでは 4C30 系マウスは単純に拡張型心筋症モデルと考えていたが，臨床症状を示す前の時期の心機能解析から，一旦は肥大型心筋症を呈した後，拡張相に移行するという可能性が示唆された。

［山本美江、金井孝夫（女子医大）、野口洋子、小浦美奈子、高野　薫、松田潤一郎、鈴木　治］

３．Meg1/Grb10 遺伝子導入マウスの糖尿病発症に関する血漿成分の動態解析

Meg1 マウスは糖尿病・肥満研究用高脂肪飼料を摂取しても肥満を伴わないが，Ⅱ型糖尿病発症の割合が増加する。血漿中の糖尿病関連物質の動態を解析したところインスリン,アンモニア,中性脂肪が Meg1 マウスで増加していた。IGF-1 と尿素窒素は減少していた。 肝臓重量も有意に増加した。これらのことから Meg1 マウスにおけるインスリンシグナル伝達の阻害が示唆された。中性脂肪および肝臓重量の増加が認められること、ならびに他の生化学データから、Meg1 マウスはヒト II 型糖尿病モデルとして有用であると考えられる。(東京工業大学石野研究室、東海大学石野-金児研究室との共同研究)

［山本美江、秦　朋子、竹川奈穂、山田（内尾）こずえ、鈴木　治、松田潤一郎］

４．プリオン病モデルマウスの開発

ウシプリオン発現 Tg マウスを４系統作出し、ゲノムウォーキングにより染色体上の遺伝子挿入部位をすべての系統について決定した。Tg４系統のうち３系統についてプリオン KO マウスとの交配により、Tg ホモ、ヘミを含む３系統５種類のウシプリオン単独発現マウスを作成した。今回これら３系統５種の boTg マウスに BSE プリオンの接種を試みたが、接種後 500 日以上が経過したマウスにおいても神経症状を呈したマウスは認められていない。しかし、何れもマウスでも脾臓への蓄積は接種後 100 日程度で認められているので、これを用いたバイオアッセイは可能であることが判明した。(感染病理部、細胞化学部との共同研究)

［秦　朋子、竹川奈穂、高野　薫、野口洋子、山本美江、小浦美奈子、鈴木　治、松田潤一郎］

５．遺伝性腎疾患モデルマウスの解析

遺伝性腎疾患モデルマウスである ICGN マウスの病態解

析を行った。このマウスは生後まもなく腎糸球体の基底膜の肥厚および糸球体上皮細胞足突起消失が認められる。そこで、これらの病変に関与する細胞接着因子を解明した。その局在および発現量を解析し、結合する分子を同定した。これらの結果は、腎疾患発症メカニズム解明に貢献することが期待できる。

[山田（内尾）こずえ、山本美江、高野　薫、松田潤一郎]

III. 実験小動物の繁殖・育成に関する研究

１．　初期胚・精子・卵巣の凍結保存

（１）　マウス胚凍結保存

系統維持の一環として、過排卵処置-自然交配、あるいは体外受精により得たマウス２細胞期胚をガラス化法により凍結保存している。本年度は、約 40 系統（ライン）について、約 12,000 個の胚を凍結保存した。胚凍結を開始した 1989 年から 2005 年 3 月末までの累計総数は、約 140 系統、胚数約 88,600 個に達した。

[高野　薫、秦　朋子、小浦美奈子、野口洋子、鈴木　治、山本美江、山田（内尾）こずえ、河合康洋、松原純子、松田潤一郎]

（２）　マウス精子凍結保存

主に遺伝子改変動物の特性を保持するために、精巣上体精子の凍結保存を 1997 年より行っており、今年度は、トランスジェニック、ノックアウトマウスを中心に、33 系統（ストロー約 800 本）の精子凍結を行った。今年度末までの保存精子の総計は、約 100 系統、雄 470 匹分である。

[小浦美奈子、秦　朋子、高野　薫、野口洋子、山本美江、松田潤一郎]

（３）　ガラス化保存卵巣卵胞の体外発育培養法の改良法の検討

昨年度報告したガラス化保存卵巣卵胞の体外発育培養法の改良を目的として、ビタミンＣ様物質（Ascorbic acid 2-O- ・ -Glucoside ）とグルタミン様物質（Alanylglutamine）の培地への添加効果を調べたところ、卵子の体外成熟率が向上したことから、培養時の卵子卵丘細胞複合体への酸化ストレスが卵子の性状を悪化させる一因であることが示唆された。しかし、酸化ストレスの軽減を行なっても生存産仔が得られないことから、卵巣のガラス化保存においては、多様な凍害が卵子に生じている可能性が考えられた。

［鈴木　治、秦　朋子, 小浦美奈子、野口洋子、高野　薫、山本美江、松田潤一郎］

（４）　各種近交系マウスにおける精巣上体精子の形態が体外受精におよぼす影響

ある系統のマウスにおいて体外受精は困難であるが、この原因を明らかにすることを目的とし、現在汎用されている５系統の近交系マウスにおける精子の形態的特徴を頭部、尾部、および細胞質小滴に分けて調べると共に、受精率に及ぼす精子の形態的特徴を検出することを試みた。その結果、精子形態の特徴は、各系統によって異なっていた。また、体外受精を行った結果と精子形態の各パラメータ間の相関を算出したところ、尾部および細胞質小滴の形態が受精率と高い相関を示した。

［河合康洋、秦　朋子、鈴木　治、小浦美奈子、高野　薫、松田潤一郎］

（５）　レンチウイルスベクターを用いたトランスジェニック(TG)マウス作成技術の検討

レンチウイルスベクターを用いた TG マウス作成方法の最適な条件を検討するため、マーカーとして EGFP 遺伝子を導入したレンチウイルスベクターをマウス受精卵に導入し、偽妊娠雌マウスに胚移植して TG マウスを得る事を試みた。種々の条件で受精卵子にレンチウイルスの感染実験を行った結果、一定の割合で導入した EGFP を発現する胚盤胞期胚の作成に成功した。しかしながら、それらの胚を移植しても産仔は得られなかった。今後、培養条件や、移植時期などを検討していく予定である。

［河合康洋、秦　朋子、巽正志（エイズ研究センター）、松田潤一郎］

Ｖ．WHO 特定小動物協力センター

１．今年度も、WHO 特定小動物協力センター（WHO Collaborating Center for Defined Laboratory Animals)として特定実験動物（マウス、スナネズミ、ハムスター、マストミス）を維持し、フィリピン、スイスの国外２件を含む合計１６件の分与を行った。

［高野　薫、小浦美奈子、山本美江、鈴木　治、野口洋子、山田（内尾）こずえ、秦　朋子、竹川奈穂、松原純子、松田潤一郎］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

１．欧文発表

原著

(1) Shiina,T., Konno,A., Oonuma,T., Kitamura,H., Imaoka,K., Takeda,N., Todokoro,K. and Morimatsu,M. Targeted disruption of MAIL, a nuclear Ikappa B protein, leads to severe atopic dermatitis-like disease. J. Biol. Chem., 279:55493-55498. 2004.

(2) Shoji, Y., Inoue, S., Nakamichi, K., Kurane, I., Sakai, T., Morimoto, K. Generation and characterization of P gene-deficient rabies virus. Virology. 318:295-305. 2004.

(3) Inoue, S., Noguchi, A., Tanabayashi, K. and Yamada, A. Preparation of a Positive Control DNA for Molecular Diagnosis of Bacillus anthracis. Jpn. J. Infect. Dis. 57:29-32. 2004.

(4) Inoue, S., Asano, M., Motoi, Y., Makino, T. and Yamada, A. The Absence of Anti-Rabies Antibody in Sera of the Feral Raccoons (Procyon lotor) Captured in Hokkaido, Japan. Jpn.J.Infect.Dis. 57:110-112. 2004.

(5) Iwasaki, T., Inoue, S., Tanaka, K., Sato, Y., Morikawa, S., Hayasaka, D., Moriyama, M., Ono, T., Kanai, S., Yamada, A., Kurata, T. Characterization of Oita virus 296/1972 of Rhabdoviridae isolated from a horseshoe bat bearing characteristics of both lyssavirus and vesiculovirus. Arch Virol. 149:1139-54. 2004.

(6) Nakamichi K., Inoue S., Takasaki T., Morimoto K. and Kurane I. Rabies Virus Stimulates Nitric Oxide Production and CXC Chemokine Ligand 10 Expression in Macrophages through Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinases 1 and 2. J. Virol. 78:9376-88. 2004.

(7) Uda, A., K. Tanabayashi, O. Fujita, A. Hotta, K. Terao, and A. Yamada: Identification of the MHC class I B locus in cynomolgus monkeys. Immunogenetics 57: 189-197, 2005.

(8) Okada, H., M. Ito, Y. Hirose, A. Uda, K. Terao, T. Yoshida, and T. Sankai: Buffalo rat liver cells produce factors that support preimplantation development of mouse embryos cultured in vitro. Comp Med 55: 61-66, 2005.

(9) Okada, H., Y. Hirose, P. Manonmani, A. Uda, M. Ito, and T. Sankai: Characterization of an immortalized oviduct cell line from the cynomolgus monkey (Macaca fascicularis). J Med Primatol 34: 67-72, 2005.

(10) Hara, M., T. Sata, T. Kikuchi, N. Nakajima, A. Uda, K. Fujimoto, T. Baba, and R. Mukai: Isolation and characterization of a new simian retrovirus type D subtype from monkeys at the Tsukuba Primate Center, Japan. Microbes Infect 7: 126-131, 2005.

(11) Uda, A., K. Tanabayashi, Y. K. Yamada, H. Akari, Y. J. Lee, R. Mukai, K. Terao, and A. Yamada: Detection of 14 alleles derived from the MHC class I A locus in cynomolgus monkeys. Immunogenetics 56: 155-163, 2004.

(12) Manonmani, P., H. Okada, N. Ogonuki, A. Uda, A. Ogura, T. Yoshida, and T. Sankai: Fertilization and preimplantation development of mouse oocytes after prolonged incubation with caffeine. Reprod Med Biol 3: 245-251, 2004.

(13) Hotta, A., G. Q. Zhang, M. Andoh, T. Yamaguchi, H. Fukushi, and K. Hirai: Use of monoclonal antibodies for analyses of Coxiella burnetii major antigens. J. Vet. Med. Sci. 66:1289-91, 2004.

(14) Noguchi A, Takekawa N, Einarsdottir T, Koura M, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, Matsuda J, Suzuki O. Chromosomal mapping and zygosity check of transgenes based on flanking genome sequences determined by genomic walking. Exp Anim. 2004 Apr;53(2):103-11.

(15) Yamaguchi-Yamada M, Manabe N, Uchio-Yamada K, Akashi N, Goto Y, Miyamoto Y, Nagao M, Yamamoto Y, Ogura A, Miyamoto H. Anemia with chronic renal disorder and disrupted metabolism of erythropoietin in ICR-derived glomerulonephritis (ICGN) mice. J Vet Med Sci. 2004 Apr;66(4):423-31.

(16) Koura M, Handa H, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, Matsuda J, Suzuki O. Sequence analysis of cDNA encoding follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone beta-subunits in the Mongolian gerbil (Meriones unguiculatus). Gen Comp Endocrinol. 2004 May

1;136(3):406-10.

(17) Takano K, Koura M, Noguchi Y, Yamamoto Y, Uchio-Yamada K, Matsuda J, Suzuki O. Sequence analysis of cDNA encoding follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone beta-subunits in the Mastomys (Praomys coucha). Gen Comp Endocrinol. 2004 Sep 15;138(3):281-6.

(18) Masujin K, Okada T, Tsuji T, Ishii Y, Takano K, Matsuda J, Ogura A, Kunieda T. A Mutation in the Serum and Glucocorticoid-Inducible Kinase-Like Kinase (Sgkl) Gene is Associated with Defective Hair Growth in Mice. DNA Research, 11: 371–379, 2004.

(19) Kamei Y, Miura S, Suzuki M, Kai Y, Mizukami J, Taniguchi T, Mochida K, Hata T, Matsuda J, Aburatani H, Nishino I, Ezaki O. Skeletal muscle FOXO1 (FKHR)-transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated type I (slow twitch / red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control. J Biol Chem, 279: 41114-23, 2004.

(20) Uchio-Yamada K, Manabe N, Goto Y, Anann S, Yamamoto Y, Takano K, Ogura A, Matsuda J. Decreased expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinase in the kidneys of hereditary nephrotic (ICGN) mice. J Vet Med Sci. 67:35-41, 2005.

２．和文発表

（１）山田章雄：狂犬病ワクチンとサーベイランス、SA Medicine, 6, 14-18, 2004.

（２）山田章雄：サル痘、日本医師会雑誌、131, 218-219, 2004.

（３）山田章雄：人獣共通感染症（Zoonosis）、薬の知識、55, 2-4, 2004.

（４）山田章雄：いま必要な動物由来感染症の知識、保健師ジャーナル、60, 594-598, 2004.

（５）山田章雄：環境感染症の立場からみた動物由来の感染症　Medical Corner, 115, 14-17, 2004.

（６）山田章雄：人獣共通感染症、ウイルス、54, 17-22, 2004.

（７）神山恒夫、高山直秀（共編著）：子どもにうつる動物の病気．真興交易出版，2005.

（８）神山恒夫：輸入動物と感染症．クリニカル・プラクティス，23：1062-1066，2004.

（９）神山恒夫ほか（共編著）：共通感染症ハンドブック．日本獣医師会，2004.

（10）神山恒夫：人獣共通感染症．畜産の情報，179：1-5，2004.

（11）神山恒夫：野生由来エキゾチックペットと人獣共通感染症．ファーマ・メディカ，22：43-48，2004.

（12）神山恒夫（著）：これだけは知っておきたい人獣共通感染症．地人書館，2004.

（13）神山恒夫：ヒトからヒトへうつる人獣共通感染症．薬の知識，55：69-73，2004.

（14）神山恒夫：プレーリードッグと野兎病・ペスト持ち込みの危機．公衆衛生情報，33：27-29，2004.

（15）神山恒夫：人獣共通感染症と外来動物．環境動物昆虫学会誌，15-55-64，2004.

（16）神山恒夫：ペスト-新興再興感染症．からだの科学増刊，223-228，2004.

（17）神山恒夫：ペット由来感染症と公衆衛生対策の課題．公衆衛生，68：865-869，2004

（18）神山恒夫：感染症法と動物由来感染症-病原体保有動物の侵入対策-．バムサ会誌 16：4-8，2004.

（19）神山恒夫：米国のプレーリードッグとサル痘．メディカル・コーナー，115：22-25，2004.

（20）今岡浩一：ブルセラ病（ブルセラ症）．in：共通感染症ハンドブック（共通感染症対策検討委員会 編），日本獣医師会，pp.202-203, 2004.

（21）今岡浩一：ブルセラ症．in：感染症の事典（国立感染症研究所学友会 編），朝倉書店, pp.222-223, 2004.

（22）今岡浩一，井上智，棚林　清，山田章雄：動物由来感染症 Q&A. in：Q&A で読む細菌感染症の臨床と検査，国際医学出版，pp.182-194, 2005.

（23）今岡浩一：都市型野生動物からうつる病気．in：子どもにうつる動物の病気（神山恒夫，高山直秀 編），真興交易医書出版部，pp.85-90, 2005.

（24）今岡浩一：都市型野生動物との安全な接し方．in：子どもにうつる動物の病気（神山恒夫，高山直秀 編），真興交易医書出版部，pp.145-150, 2005.

（25）今岡浩一：イヌブルセラ症．in：子どもにうつる動物の病気（神山恒夫，高山直秀 編），真興交易医書出版部，pp.152-156, 2005.

（26）今岡浩一：サル痘．in：子どもにうつる動物の病気（神山恒夫，高山直秀 編），真興交易医書出版部，pp.197-202, 2005.

（27）井上　智。トピックス：日本の狂犬病予防と危機管理。感染症等情報（World Focus）：No55、1-2、2004.

（28）森本金次郎、井上　智。感染症。42. リッサウイルス感染症。編集：竹田美文、木村　哲。朝倉書店：179-182、2004.

（29)井上　智. 感染症の診断･治療ガイドライン 2004。リッサウイルス感染症。日本医師会雑誌、臨時増刊号 132：174-175、2004.

（30）最新版 家庭医学大全科　総合監修：高久史麿、北村惣一郎、猿田享男、福井次矢。法研、2004.

（31)棚林　清、巽　正志、藤田　修、宇田晶彦、山田章雄: SARS コロナウイルスの安定性の検討．感染症学雑誌　78：991-992, 2004.

単行書籍

（１）鈴木 治（分担執筆)、(社）日本実験動物協会編、実験動物の技術と応用（入門編)、2004 年 5 月.

（２）鈴木 治（分担執筆)、(社）日本実験動物協会編、実験動物の技術と応用（実践編)、2004 年 6 月.

II.学会発表

１．国際学会

(1)　Inoue,S., Noguchi, A., and Akio,Y. Preparation of Safe and Reproducible Positive-control for Moleclar Diagnosis of Rabies. Fortieth anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program (38th Joint Working Conference on Viral Diseases). 7-9 December, 2004. Kyoto, Japan.

(2) Suzuki O, Hata T, Takekawa N, Koura M, Takano K, Yamamoto Y, Noguchi Y, Uchio-Yamada K, Matsuda J, In Vitro Growth Culture Of Preantral Follicles From Mouse Ovaries Cryopreserved Using Vitrification, 37th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, Vancouver, BC, Canada, August 1-4, 2004.

(3) O. Suzuki, M. Koura, Y. Noguchi, K. Takano, K. Uchio-Yamada, Y. Yamamoto, J. Matsuda, Characterization of the Follicle Stimulating Hormone β-Subunit Precursor Protein cDNA in the Rabbit, 44th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, Washington, DC, USA, December 4-8, 2004.

２．国内学会

（１）木村昌伸, 今岡浩一, 山田章雄, 神山恒夫．イヌの *Brucella canis* に対する抗体保有状況の調査．第 137 回日本獣医学会学術集会，2004 年 4 月，藤沢.

（２）今岡浩一, 木村昌伸, 神山恒夫, 山田章雄．ブルセラ属菌の菌種同定のための特異的 PCR 法の開発. 第 137 回日本獣医学会学術集会，2004 年 4 月，藤沢.

（３）井上　智、野口　章、棚林　清、山田章雄：炭疽菌の遺伝子診断に使用する安全・簡便な陽性対照鋳型 DNA の作出. 第 137 回日本獣医学会学術集会 2004 年 4 月､藤沢.

（４）宇田晶彦、棚林　清、寺尾恵治、明里宏文、向井鐐三郎、山田章雄：カニクイザルにおける MHC class I の解析．第 137 回日本獣医学会学術集会 2004 年 4 月、藤沢.

（５）藤田　修、堀田明豊、巽　正志、棚林　清、山田章雄：リアルタイム PCR による野兎病菌(*Francisella tularensis*)の迅速検出法の開発．第 137 回日本獣医学会学術集会 2004 年 4 月、藤沢.

（６）今岡浩一, 福島博, 山田章雄, 神山恒夫．*Yersinia pestis* の微量迅速検出法の開発−PCR, Real-time PCR (Light-cycler:LC), LAMP 法−．第 78 回日本感染症学会総会，2004 年 4 月，東京.

（７）朴　天鎬、井上　智、野口　章、小山田敏文、吉川博康、山田章雄。狂犬病ウイルス（CVS-11）を感染させた C57BL/6J マウスの中枢神経系と骨格筋の感染病理。第 138 回日本獣医学会、2004 年、9 月、札幌.

（８）奥谷晶子、井上　智、野口　章、棚林　清、山田章雄。炭疽菌の遺伝子診断を簡便かつ容易にする陽性対照鋳型 DNA の作出。第 138 回日本獣医学会、2004 年、9 月、札幌.

（９）棚林　清、堀田明豊、藤田　修、宇田晶彦、山田章雄：簡易型別 PCR の日本分離野兎病菌(*Francisella tularensis*)への応用．第 138 回日本獣医学会学術集会 2004 年 9 月、札幌.

（10）藤田　修、奥谷晶子、堀田明豊、井上　智、棚林清、山田章雄：日本国内から分離された野兎病菌

(*Francisella tularensis*) の short-sequence tandem repeat(SSTR)の特徴. 第 138 回日本獣医学会学術集会 2004 年 9 月、札幌.

（11）堀田明豊、宇田晶彦、藤田　修、棚林　清、山田章雄：*Francisella tularensis* に対するモノクローナル抗体の作出. 第 138 回日本獣医学会学術集会 2004 年 9 月、札幌.

（12）野口　章、井上　智、棚林　清、山田章雄。狂犬病ウイルスの遺伝子診断に使用する安全で簡易な陽性対照鋳型 RNA 産生システムの確立。第 52 回日本ウイルス学会、2004 年 11 月、横浜.

（13）棚林　清、巽　正志、藤田　修、宇田晶彦、山田章雄：ＳＡＲＳコロナウイルスの環境中での安定性の検討. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会 2004 年 11 月、横浜.

（14）齊藤彩, 藤間昭勝, 大屋智香, 植田富貴子, 鈴木恵真子, 小枝暁子, 今岡浩一, 棚林　清, 庄司紘史, 吉川泰弘, 本藤良. B ウイルスおよび単純ヘルペスウイルスの構造糖蛋白（gD, gG）抗原の診断への応用. 第 139 回日本獣医学会学術集会, 2005 年 3 月, 和光.

（15）鈴木　治・秦　朋子・小浦美奈子・高野　薫・山本美江・野口洋子・山田-内尾こずえ・松田潤一郎・右島富士男・横山峯介：ガラス化保存卵巣より得た卵胞の体外発育培養法の検討、第 51 回実験動物学会総会、長崎、2004 年 5 月。

（16）小浦美奈子、半田寛子、高野　薫、松原純子、秦朋子、野口洋子、山本美江、山田－内尾こずえ、鈴木治、松田潤一郎：スナネズミ精子の凍結保存法の検討 II. 体外受精系における受精能力の確認. 第５１回日本実験動物学会総会、2004 年 5 月、長崎.

（17）松田潤一郎、鈴木治、大島章弘、山本美江、野口章、滝本一広、伊藤雅之、難波栄二、檜垣克美、鈴木義之：GM1 ガングリオシドーシス幼児型モデルマウスの中枢神経病変に対する新規治療法開発. 第５１回日本実験動物学会総会、2004 年 5 月、長崎.

（18）野口洋子、秦朋子、竹川奈穂、野口章、小浦美奈子、高野薫、山本美江、山田－内尾こずえ、鈴木治、松田潤一郎：GM1/GA1 合成酵素遺伝子導入による早期発症型 GM1 ガングリオシドーシスモデルマウス作製の試み. 第５１回日本実験動物学会総会、2004 年 5 月、長崎.

（19）山本美江,鈴木治,秦朋子,竹川奈穂、山田-内尾こずえ,高野薫,小浦美奈子,野口洋子,石野-金児智子,松田潤一郎：　Meg1/Grb10 遺伝子導入マウスの糖尿病発症に及ぼす飼料（高脂肪　高カロリー飼料　糖質添加）の影響. 第 51 回日本実験動物学会総会、　2004 年、5 月　長崎

（20）山本美江, 小浦美奈子, 高野　薫, 野口洋子, 山田-内尾こずえ, 松田潤一郎, 金井孝夫, 鈴木　治：シアル酸転移酵素遺伝子導入マウスに見られた心筋症の血行動態解析、第 21 回日本疾患モデル学会総会、京都、2004 年 11 月。

（21）岡戸晴生、川野仁、松田潤一郎、寺島俊雄、葛西正孝：転写抑制蛋白 RP58 は皮質層形成と皮質-視床経路形成に必要である. 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経化学会大会　合同大会（Neuro2004）、2004 年 9 月、大阪.

（22）渡辺浩史、岩崎博之、下重理江、渡辺織江、黒澤美枝子、松田潤一郎、飯田真己、久保孝利、小川誠一郎、鈴木義之：GM1-ガングリオシドーシスモデルマウスに対するケミカルシャペロン療法の臨床的酵素学的効果. 第４７回日本先天代謝異常学会総会、2004 年 11 月、宇都宮市.

（23）高村歩美、檜垣克美、山本浩一、冨永里香、難波栄二、松田潤一郎、鈴木義之：GM1 ガングリオシドーシス神経変性分子メカニズムの解明とケミカルシャペロン法の研究. 第 47 回先天代謝異常学会、2004 年 11 月、宇都宮市.

３．セミナー・講演等

（１）神山恒夫, 今岡浩一. 人獣共通感染症の現状と課題：シンポジウムⅡ「動物由来感染症Ⅰ」. 衛生微生物技術協議会 第 25 回研究会, 2004 年 7 月, さいたま.

（２）　Inoue,S. and Okutani,A. Global Health Security Action Group (GHSAG) Laboratory Network Anthrax Wetlab Workshop. HPA Porton Down, Salisbury, UK, 19th-21st April 2004.

（３）井上　智。人と動物に共通の感染症の予防対策と危機管理：危機意識の継続。食染協総会後講演会。日本食品洗浄衛生協会。2004 年、5 月 20 日、東京

（４）井上　智。狂犬病の現状と防疫の要点。愛護動物

管理関係研修会。栃木県動物愛護指導センター。2004年、6月9日、栃木県.

（５）井上　智。人獣共通感染症（zoonosis）について。家畜衛生講習会（獣医疫学特殊講習会)。独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構動物衛生研究所。2004年、9月28日、茨城県.

（６）井上　智。人獣共通感染症の最近の話題（人と動物に共通の感染症の予防対策と危機管理–危機意識の継続)。獣医師講習会。広島県獣医師会畜産部会。2004年、10月27日、広島県.

（７）井上　智。世界における狂犬病の発生状況について。平成16年度狂犬病予防等技術研修会。厚生労働省健康局結核感染症課。2004年、11月5日、東京（東京大学大講堂）

（８)井上　智。動物由来感染症における獣医師の役割。平成16年度 四国地区公衆衛生講習会。社団法人徳島県獣医師会。2004年、11月20日、徳島県.

（9）井上　智。日本の狂犬病予防と危機管理。学術フロンティア 第１回公開シンポジウム「人獣共通感染症のサーベイランスと制御」。日本大学生物資源科学部 日本大学大学院獣医学研究科。2004年、11月27日、神奈川県.

(10) 井上　智。国内外における狂犬病の現状について。群馬県甘楽富岡狂犬病連絡予防協議会研修。国立感染症研究所。2004年、12月2日、東京.

(11) 井上　智。人と動物の共通感染症。平成16年度臨床獣医師講習会。日本獣医師会 栃木県獣医師会。2005年、1月14日、栃木県.

(12) 井上　智。狂犬病の現状と日本における危機管理。平成16年度適正飼養講習会。東京都福祉保健局 健康安全室 環境衛生課。2005年、2月25日、東京都.

(13) 井上　智。世界の狂犬病発生の現状／／公開シンポジウム「狂犬病の防止に向けて」。日本学術会議獣医学研究連絡委員会 日本獣医師会 合同公開シンポジウム。2005年3月15日、東京都.

(14) 宇田晶彦：MHC解析とサルコロニーの遺伝的モニタリング．第 11 回予防衛生協会セミナー、2004 年 12 月、つくば.

(15) 棚林　清：人獣共通感染症について．平成16年度臨床獣医師講習会(共通感染症講習会)、長野県獣医師会、2005年2月、長野.

(16) 棚林　清：共通感染症について．平成16年度産業動物診療獣医師講習会、長野県獣医師会・産業動物臨床部会、2005年2月、松本.

・招待講演

（１）鈴木　治「マウスの初回卵胞発育由来卵子を用いた卵子発生能獲得の研究」、第6回REG部会、日本実験動物技術者協会関東支部REG部会主催、教育講演、2004年11月。

（２）松田潤一郎「疾患研究とモデル動物」創薬基盤技術の開発に関するシンポジウム、大阪府・
大阪医薬品協会主催、2004年11月、大阪.

（３）松田潤一郎「疾患関連遺伝子の機能解明のための実験動物研究資源の基盤整備に関する研究」平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金 ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業 研究成果発表会、2005年2月、東京.

13.血液・安全性研究部

部長　山口一成

概　要

平成 16 年 4 月 1 日付けで、山口一成が熊本大学から部長に着任し、さらに 8 月 1 日に浜口　功が慶応大学から第 4 室長に、12 月 1 日には水上拓郎が東京大学、三菱生命研究所から第 4 室研究員として着任した。一方、加藤博史主任研究官が平成 17 年 3 月 31 日に退職し、独立行政法人総合機構へ転任した。非常勤職員の大木律江子さん、源原博子さんが 3 月 31 日付けで、退職された。平成 17 年 3 月には戸山庁舎にあった第 2 室（水落室長）とエイズ研究センター（松田室長）が入れ替わる形で、部全体の村山庁舎への統合が終了した。それとともに、部内の人事交流を行い、さらに毎週の室長会、部会を定期的に行い、研究発表、抄読会、部の運営についての話し合い等が円滑に進んでいる。

各室の名称は次のように変更した。第 1 室：血液製剤室（Laboratory of Blood Products）　第 2 室：輸血病態室（Laboratory of Immunohaematology）　第 3 室：物理化学室（Laboratory of Physicochemistry and Viral Safety）　第 4 室：ワクチン・血液室（Laboratory of Vaccine and Blood Safety）。各室の名称と実態は一致しているものと確信している。

国家検定の在りかたについては、血液・安全性研究部はその技術的側面を担う立場にある。製剤、製造の進歩に従い、長い間検定で不合格を出していない項目については、大胆に検定の見直しを行った。一方で新たな問題も出てきている。現行の検定項目、そしてその内容が真に時代の要求にあっているかどうかを、先端テクノロジーで再検討する試みを始めている。

研究面では、これまでの血液製剤及びワクチンを含む生物製剤の安全性研究に加えて、新たに血液、造血幹細胞の研究チームが立ち上がった。これは近い将来問題となってくる、細胞療法、再生医学の安全性研究にも備えるものである。また今年度から厚生労働科学研究事業の輸血関連合同班会議を主催し、輸血医療の安全性向上と血液の完全自給を実現することを目指す予定である。これを機に、血液、輸血関係の仕事に携わるものとして、おかれている立場を顧み、国民が期待している事柄に真摯に対応し、その責務を果たすべきと考える。

平成 17 年 4 月からは、post doc、大学院生など若い研究者が研究に参加する予定であり、若い力にも期待したい。これらの研究は、厚生労働省科学研究費、文部科学省科学研究費等の援助を受けて行われた。

業　績

調査・研究

Ⅰ．血液製剤の安全性に関する研究

プリオンの研究

（1）in vitro 感染系の確立

昨年度、BSE を発症したウシ脳乳剤を用いて培養細胞にプリオンを感染させ、感染の成立を示した。本年度はこれらの感染細胞を継代し、感染細胞の性状を解析した。感染細胞はＰＫ処理後、ウエスタンブロット法（WB）にて異常プリオンを検出した。感染後 6 ヶ月以上異常プリオンが検出され、持続感染することが明らかになった。また、持続感染細胞株の上清を希釈して非感染細胞に感染させ、8 週間培養し、WB にて解析することによって、感染力価の in vitro 測定系を確立した。（岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子、山口一成）

（2）感染細胞から産生される異常プリオンの存在様式の解析

現在のプリオンの解析は、その多くは脳乳剤を用いた研究からもたらされている。しかし、血液の視点からすると血液中に存在する異常プリオンは感染細胞から産生されたものと推定される。我々は上記で得られた持続感染細胞株から産生される異常プリオンの存在様式を検討した。ウイルス除去膜を用いて濾過したところ、4 週目では濾過処理した検体のシグナルは無処理に比較して明

らかに減弱したが、7-8 週後には差が消失した。これらから、異常プリオンの一部は凝集又は粒子状の形態を取り、ウイルス程度の大きさを呈する物もあることを明らかにした。また、濾過膜を素通りしたプリオンにも感染性があることを明らかにした。(岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子、山口一成)

(3)白血病由来細胞株を用いた *in vitro* TSE 感染系

輸血を介しての variant CJD 感染が疑われる症例が報告され、血液製剤のリスク評価法の確立と病原性プリオン (PrP^{Sc})の除去・不活化法の開発が求められている。PrP^{Sc} の除去・不活化法の評価系で使用するモデル PrP^{Sc} の作成を目的として、血球系細胞株を用いた in vitro TSE 感染系の確立を試みた。ヒト白血病由来細胞株に BSE 感染牛の脳乳剤を添加し培養した結果、ウエスタンブロット法で Proteinase K 耐性の PrP (PrP^{res}) のバンドが検出された。3 か月以上継代した培養細胞からも PrP^{res} が検出され、BSE の持続感染が示唆された。血球系細胞株を用いた *in vitro* BSE 感染系は他に報告が無く、血液中に存在する PrP^{Sc} のモデルとしての利用が期待できる。(水沢左衛子、岡田義昭、山口一成)

Ⅱ. 血液を介するウイルスの研究

1. パルボウイルス B19 に関する研究

上皮細胞を用いた不活化評価系の確立

ヒトパルボウイルス B19 の感染経路は、飛沫感染が主であるが、輸血や血液製剤の投与による感染も存在する。B19 はエンベロープを持たない為、除去・不活化に抵抗性を示し、輸血用血液を含めた血液製剤の安全性を確保する上で重要なウイルスである。血液細胞株を用いた培養系が報告されているが、我々はより簡便性を考え、血球系とは異なる上皮細胞 NEC8 (Niigata embryo carcinoma) 細胞が B 19 に血球系とほぼ同等の感受性を有することを発見した。その感染系を用いて、簡便かつ安全なヒト由来 B19 の不活化の評価系を確立した。(梅森清子、岡田義昭、山口一成)

2. B型肝炎ウイルスに関する研究

(1) B 型肝炎ウイルスの genotype パネルの作製と S 抗原の解析

昨年作製した genotype A から G までの HBV 全長をクロ-ニングした各種プラスミドを用いて genotype 間での抗原性を検討した。HBV を組み込んだプラスミドをレポ−ター遺伝子と共に細胞に遺伝子導入し、HB s 抗原の発現量を補正することによって抗原性を検討した。genotype B と F が高値、G が低値を示したがこれらのクロ−ン間の a 抗原決定基は完全に一致し、変異が全く認められなかったことから各クロ-ン間での HBV 中の S 抗原プロモ−ター活性の違いが反映していることが示唆された。(岡田義昭、水落利明、水沢左衛子、梅森清子、山口一成)

(2) 遺伝子組換え技術による変異型 HB s 抗原パネル作製に関する研究

Small HBs 抗原はB型肝炎ウイルス感染の主要マーカーであるが、診断用 HBs 抗原検出試薬の中には共通抗原基 a に変異を起こした HBs 抗原を検出できない例が報告されており、診断薬の評価のために種々の変異型 HB s 抗原を含むパネルの整備が求められている。しかし、変異型ウイルスを含む血漿の量には限りがあるのでこのようなパネルの作製は困難である。本研究では日本で普遍的な subtype adr, genotype C のバックグラウンドに共通抗原基 a の既知の変異である G145R 、M133T 及び T123N の 3 種類の変異を in vitro mutagenesis 法をもちいて導入し、ヒト細胞株の培養上清に分泌される変異型 HB s 抗原を得た。診断用 HBs 抗原検出試薬の評価系として、これらの変異型 HB s 抗原の有用性を検討中である。(水沢左衛子、岡田義昭、水落利明、山口一成)

Ⅲ. 感染症に対する生体反応に関する研究

1. IgE 抗体産生を惹起しにくいワクチンの創製に関する研究−フォスファチジルセリンを含有するリポソームにおけるアジュバント効果の増強

フォスファチジルセリン含有および非含有リポソームを作製し、それぞれの表面に OVA を化学結合させたものをマウスに免疫して OVA 特異的抗体産生を比較したところ、フォスファチジルセリン含有によって有意に抗体産生が増強した。蛍光標識 OVA を結合したリポソームをマクロファージ培養中に添加し、共焦点蛍光顕微鏡下で観察したところ、フォスファチジルセリン含有リポ

ソームに結合した OVA はフォスファチジルセリン非含有リポソームに結合した OVA と比較して有意に多くマクロファージ細胞内に取り込まれた。これらのことから、リポソームはフォスファチジルセリンを含有することにより抗原提供細胞に認識され易くなり、アジュバント効果が増強されることが示唆された。(種市麻衣子、内田哲也)

2. マウス I-A^{d}結合グルーブのコアモチーフを含む OVA ペプチドによる CD4 陽性 T 細胞の抗原特異的活性化について

マウス I-A^d 結合グルーブのコアモチーフを含む 26-mer の OVA ペプチド 6 種類を合成し、OVA 免疫 BALB/c マウス由来 CD4 陽性 T 細胞の培養中に添加したところ、2 つのペプチドが T 細胞を刺激してサイトカイン産生を誘導した。次に、これらのペプチドにつき、N 末端および C 末端から順次アミノ基を削除したペプチドを合成して T 細胞刺激能を検討したところ、T 細胞刺激能を有するペプチドはすべて I-A^d 結合グルーブのコアモチーフを含むことが示された。6 種類のうち 4 種類のペプチドは I-A^d 結合グルーブのコアモチーフを含みながら T 細胞刺激能を持たなかったことから、ペプチドが I-A 結合グルーブのコアモチーフを含むことは T 細胞活性化の必要条件であるが十分条件ではないことが示唆された。〔種市麻衣子、田中ゆり子(HS 流動研究員)、内田哲也〕

3. マウス胸腺におけるリンパ管の分布についての研究

胸腺におけるリンパ管の発達について、従来光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いての研究が報告されてきた。近年、種々の抗リンパ管内皮細胞抗体が開発されてきたが、今回、それらの抗体を用いて、マウス胸腺のリンパ管の分布について免疫組織学的検討を行った。マウス胸腺リンパ管内皮細胞は VEGFR-3, Prox-1, neuropilin-2 を発現するが、CD31 は認められない。リンパ管は被膜、皮質、髄質にあらゆる場所に存在し、血管周囲腔 にも存在する。リンパ管は管腔 20 mm 以下のものが殆どで、胸腺全体に lymphatic capillary network を形成して存在することが示唆された。(小高千加子)

4. 液性免疫賦活化方法とその評価方法の開発を目的とした、MHC class II 拘束性抗原提示の分子メカニズムに関する研究

MHC class II 分子は、細胞外及び細胞膜上のタンパク質に由来するペプチドとリソソーム様コンパートメント内で複合体を形成する。しかし、細胞質内タンパク質でもオートファジーを経由してリソソーム様コンパートメント内に輸送され、MHC class II 分子と複合体を形成する可能性を示した。IFN-γで刺激した胸腺上皮細胞を H2-DMβ鎖分子の細胞質領域を認識する抗体を用いた蛍光免疫染色法とウェスタンブロット法により解析したところ、H2-DM 分子と MHC class II 分子が存在するリソソーム様コンパートメントにオートファゴソームの分子マーカー、LC3 分子が存在した。(笠井道之)

5. インテグラーゼによるゲノム再構成

精製レトロウイルスインテグラーゼの存在下に c-mos 遺伝子を細胞に導入することにより、ゲノム上の当該部位に高頻度に再構成が起こることを報告してきた。その部位を詳細に解析したところ、c-mos 遺伝子の近傍に少なくとも 3 種類の他のクロモソーム上の配列が転座していることが明らかになった。これらの転座は、2 種類のマウスレトロウイルス感染細胞、及び、ある種のハイブリドーマでも観察され、c-mos を含む細胞増殖関連遺伝子の作用に深くかかわっていることが推測された。これらの配列の作用について検討中である。〔田中(庄司)明子〕

6. 計算機を活用した HIV の薬剤耐性評価

本研究プロジェクトでは、ジェノタイプ検査やフェノタイプ検査に並ぶ新しい薬剤耐性検査法として、「コンピュテーショナル検査」を提案している。これを達成するために、以下の 2 点の検討を昨年に引き続き行った。1) 既知データとの整合性確認による方法論の確立。2) 臨床検体を中心とした実用性信頼性等の検討。既知のデータについて解析し、方法的に分析可能であることが確認された。臨床材料については、敏速にウイルスの遺伝子配列を決定する方法を検討している。今後、臨床サンプルを用いて薬剤耐性を迅速に評価することを実施する。〔星野忠次(千葉大薬学研究院)、佐藤武幸(千葉大医附属病

院)、杉浦　亙（エイズセンター)、布施　晃〕

7. 微小重力の生体防御に及ぼす影響Ⅴ：ストレスとウイルス感染の評価法の開発

マウスヘルペスウイルス持続感染系を開発し、熱処理や紫外線処理でウイルスの活性化する系を作成した。この持続感染系の開発によって宇宙空間で持続感染しているウイルスの再活性化がどのように起こるか検討することが可能となった。航空機あるいは落下装置での短時間微少重力下での予備実験を行い、現在開発中の衛星型実験動物装置で長期微小重力下での実験を行い、微小重力ストレス下でのウイルス感染増大の危険性を評価する方法とそれに対応する治療･予防法を開発する。〔布施　晃、喜多正和（京都府立医大)〕

Ⅳ. 生物学的製剤に関する研究

1. 包括的遺伝子発現解析によるワクチンの安全性評価

ワクチンの毒性反応に関連する遺伝子群を DNA マイクロアレイの手法を用いて網羅的に解析し、これまでに得られた血液生化学的、病理学的データと多角的に検討し、ワクチンの安全性の評価法を確立する。これまでに百日せきワクチンの毒性反応に関連する遺伝子をワクチン投与ラット肝臓より 12 個特定している。これらの遺伝子発現を指標にした評価法の開発を行う。引き続きインフルエンザワクチン、日本脳炎ワクチンの毒性反応に関与する遺伝子の特定を行う。(加藤博史、浜口　功、内藤誠之郎、前山順一、水上拓郎、益見厚子、山口一成)

2. 安全な粘膜ワクチン用アジュバントに関する研究

(1) 経鼻投与組換えコレラ毒素Ｂサブユニット(rCTB)のマウス脳への移行性の検討

rCTB 及びコレラ毒素（CT）の経鼻投与マウスの脳（嗅球部位）と鼻粘膜部位について免疫組織学的検討を行い、神経組織への影響の有無を観察したところ、rCTB、CT ともに 24 時間以内に嗅球に移行することが明らかになった。また、CT では嗅球に浮腫などの形態変化が認められたが、rCTB では認められなかった。〔前山順一、井坂雅徳(名古屋市大・医)、後藤紀久（独・総合機構)〕

(2) CpG-DNA の粘膜アジュバント作用

これまでに CpG-DNA がモルモットの結核免疫応答を増強することを明らかにしたが、今回は、ジフテリアトキソイド（DT）を用い、可溶性タンパク抗原に対する CpG-DNA（OligoB、MY-1）の粘膜アジュバント効果をマウスの経鼻投与によって検討した。その結果、DT と CpG-DNA を同時経鼻投与したとき、DT のみで経鼻投与した場合に比べ、血清 IgG 及び IgA 抗体産生の有意な増強が認められた。〔前山順一、山本三郎(細菌第二部)、後藤紀久（独・総合機構)〕

3. 経皮免疫法に関する研究

マウスの耳介または剃毛した皮膚の表面に蛋白抗原溶液をしみ込ませたパッチを貼付することにより、血清中に抗原特異的 IgG 抗体産生を誘導する方法を確立した。従来から、経皮免疫法にはコレラトキシンなどの細菌毒素アジュバントを用いることが必須と考えられてきたが、今回開発した方法で、抗原として卵白アルブミンを用いて検討を行なったところ、必ずしもアジュバントを用いなくても、十分な免疫応答を誘導し得ることを見いだした。経皮免疫法は、安全で簡便なワクチンの新しい投与法として有用である可能性がある。(内藤誠之郎、前山順一)

Ⅴ. 造血幹細胞に関する研究

1. 骨髄ニッチにおける造血幹細胞機能分子の解析

造血幹細胞の未分化性維持に必須な分子を、生殖幹細胞と造血幹細胞の両者に特異的に発現している遺伝子を特定することにより探索する。これまでに約 50 遺伝子の解析を行い、造血幹細胞に特異的に機能すると思われる分子を同定した。*in situ* hybridization 法による骨髄中の局在を解析するとともに、siRNA を用いた遺伝子欠損造血幹細胞の血液学的解析を行うことにより、分子機能を明らかにする。(水上拓郎、益見厚子、浜口　功)

2. 先天性赤芽球癆原因遺伝子 RPS19 の造血幹細胞における機能解析

先天性赤芽球癆患者の造血幹細胞にウイルスベクターを用いて原因遺伝子 RPS19 の遺伝子導入を行った。導入された患者 CD34 陽性細胞由来の赤芽球コロニー数は解析を行った 4 名の患者細胞で約 3 倍に増加し、正常細

胞由来の赤芽球コロニー数の 60%のレベルまで回復することを明らかにした。さらに siRNA により、RPS19 遺伝子発現を抑制した患者モデル細胞株の作製を行い、そのメカニズムの解明を行う。（浜口功）

3. インターフェロン転写制御因子の研究

(1) インターフェロン制御転写因子 IRF-2 と結合するタンパク質について

IRF-2 が細胞内でアセチル化をうけることを報告してきたが、未修飾 IRF-2 とはほとんど結合しないが、PCAF でアセチルをうけた IRF-2 と結合するタンパク質を細胞核内より同定した。このタンパク質は、IRF-2 による転写活性を上昇させた。（益見厚子）

(2) 血液細胞、造血幹細胞分化に関する研究

IRF-2 を K562 細胞に高発現させると K562 細胞の赤血球系、巨核球系分化に関わる転写因子(GATA ファミリー等)が増加することが認められた。さらに IRF-2 はマウス骨髄細胞由来の CD34-細胞に高発現していることがリアルタイム PCR により確認された。IRF-2 が血液細胞分化に重要な働きをしている可能性が示唆されたことから、今後は IRF-2 をレトロウイルスベクターを用いて,ヒトおよびマウスの細胞に導入する方法で機能解析を試みる。（益見厚子、水上拓郎、浜口　功）

Ⅵ. ヒトレトロウイルスの研究

ATL 発症高危険群の長期追跡と発病予防の検討

(1) HTLV-I 感染成立後、感染細胞は多クローン性に増殖するが、感染後約 60 年という長い潜伏期間中に単クローン性の増殖をおこし、ATL を発症する。キャリアは日本に約 120 万人存在し、その一部が HTLV-I 関連疾患を発症する。山口班のプロジェクト(JSPFAD)では感染から発症に至る生体内の変化を解析し、発症のリスクグループを明らかにする。キャリアの中からハイリスクグループを絞り込み、年間発症率が約 5%になる群を対象として、薬剤等による発症予防の臨床介入研究を試みるために、全国でのキャリア登録を 3 年前から開始している。すでに多くのキャリアサンプルが集積されつつあり、臨床情報と末梢血でのプロウイルス量、HLA などとの関連についてデータを集積中である。〔山口一成、文部科学省研究班(山口班)〕

(2) キャリア登録（JSPFAD）を推進し、ATL/HTLV-I キャリアの細胞バンクとして位置づける。国内外を問わず共同研究を引き受ける。すでにいくつかの共同研究が進行中である。1) DNA アレイ解析により腫瘍化と進展を特徴付ける遺伝子群を明らかにし、発症危険群の同定と分子標的療法をめざす。2) In vitro 及び SCID マウスを用いて、新規 NF-kB 阻害剤（DHMEQ）が、ATL 細胞、HTLV-I 感染細胞のアポト-シスを誘導し、キャリアの感染細胞数を減少させ、NF-kB が ATL 治療の分子標的となることを示した。発症予防を含めた、臨床応用への準備を進めている。〔山口一成、渡邊俊樹(東京大学新領域)〕

品質管理に関する業務、研究

Ⅰ. 抗補体性否定試験の実施方法の至適化に関する研究

抗補体性否定試験は、検体とモルモット補体を反応させた後、残存する補体量を測定し、検体が一定以上の補体を不活化しないことを確認することにより、検体と補体との結合性を否定する方法である。ヘモリジン、モルモット補体、ヒツジ赤血球の 3 種類の適性が重要であり、試験不成立の頻度が多く問題となっている。ヒツジ赤血球に関しては、lot check を行い、至適な赤血球が安定して得られる様になった。さらに試験ごとに Run control を置き、抗補体価を相対的に評価出来る様に改良した。モルモット補体価、Run control の抗補体価のデータを蓄積し、季節変動を調べたところ、気温の高い 5 月-10 月の抗補体価が高く、試験不成立となる傾向があることが分かった。（梅森清子、岡田義昭、山口一成）

Ⅱ. 人血液凝固第 IX 因子国内標準品の力価の制定

平成 7 年に第一世代の標準品を作製して以来 10 年近く経過し、またその間に国際標準品も更新されたことから、第二世代の標準品の作製を行うこととした。作製された候補品の力価は、複合体を含む人血液凝固第 IX 因子製剤を製造している全ての企業に協力を依頼し、国際標準品を用いて測定を行った。各企業及び感染研のデータを集計し統計処理を行った結果、第二世代の標準品の力価は 75.0 国際単位/mL と制定した。〔種市麻衣子、岡

田義昭、山口一成、堀内善信（細菌第二部）〕

Ⅲ. HBs 抗原濃度標記統一に向けての国内標準感度パネルの作成

新規 HBs 抗原 WHO 国際標準品の制定に参画し、またそれを基準にして作成した HBs 抗原リファレンスパネルの評価作業を行った。一方、従来混在していた HBs 抗原量の表示を IU に統一することが WHO 会議で決定されたことを受け、国内で販売されている HBs 抗原検出用体外診断薬の添付文書に記載されている最小検出感度についての表記統一を行うための準備作業を行った。WHO により制定された新規 HBs 抗原国際標準品を活用し、現在の HBs 抗原国内標準品との、力価の相関関係を確認した。その結果を踏まえて、HBs 抗原国内標準感度パネル（0.1 IU/ml – 10IU/ml, 約 100 セット）を作成し、国内各メーカーへの提供に備えている。（水落利明）

Ⅳ. Genotype 別 HBs 抗原パネルの作成、およびそれを用いてのキット性能評価

現在 HBV キャリアの診断に関しては、HBV 外被抗原（HBs 抗原）の検出が多く用いられている。しかしながら、近年 HBV には様々な genotype が存在することが報告されており、正確な HBs 抗原検出検査に少なからず影響を与える懸念が生じている。本研究では、現在国内で販売されている 10 種類の高感度（EIA, CLIA, CLEIA）HBs 抗原検出キットを用い、genotype A, B, C の各検体の測定を行い比較検討した。その結果、全てのキットにおいて各 genotype の HBs 抗原を検出できたが、キットによっては genotype 間で顕著な感度差が見られた。（水落利明、岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子、山口一成）

Ⅴ. 品質管理に関わる研究

１．試験法の検討

(1) 含湿度試験（乾燥減量法）の改良

含湿度測定法（乾燥減量測定法）に使用する機器の改良と評価

（ア）従来の測定装置・測定試験管の問題点.

含湿度測定法（乾燥減量測定法）で試験所間で試験結果の乖離が認められるケースが少なくない。従来型の一般的な装置はデシケータ様ガラス製真空容器に多穴アルミブロックを設置した構造を持ち、外部ヒータで温度コントロールするが、間接加熱のため正確な温度設定が容易でなく、試験開始まで、温度コントロールに数時間を要した。従来型の丸底フラスコ形ガラス試験管と細管ガラス栓は製作が容易でないため、個々の寸法のバラツキが大きく、乾燥時の通気断面積が一様にするなどの乾燥条件を一様にするのが容易ではなかった。

（イ）新型装置の開発

温度設定と温度分布の高精度なコントロールを満たすガラスカバー密閉式のアルミブロック直接加熱装置と乾燥用ガラス試験管を新しくデザインした。ヒータはアルミブロックに接しており高効率の熱伝導と高性能の温度コントロールが実現され、電源入力後、数十分で測定に使用できた。測定試験管は細管栓の替わりに均一な径の穴の開閉を行うことで一定の乾燥条件を実現した。

（ウ）従来型と新型装置での試験結果

従来型と新型装置について凍結乾燥ワクチン製剤 6 種類（麻しん、風しん、おたふく風邪、水痘、狂犬病、BCG）の合計 31 検体について比較検討を行った。結果は製剤の種類や製造所のいずれの違いによっても有意な差が認められなかった（平均比 104%、標準偏差 19%）。この新システムを製造メーカーにも推奨し、試験所間の試験結果の乖離の解消に役立てる。（矢野茂生、布施　晃）

(2) 生物製剤における水分定量（カールフィッシャー法）の導入について。

平成 16 年の生物製剤基準の改正で生物製剤の含湿度試験として従来法の乾燥減量法に加えて、水分定量法（カールフィッシャー法）が新規掲載された。両測定法は原理的に異なり、乾燥減量法は検体表面や内部に強く結合している水（結晶水など）の正確な測定が難しく、水分定量法は検体がヨウ素と反応を起こさないことが前提となる。生物製剤（ウイルスと細菌ワクチン）で検討を行ったところ、両方法での試験結果に大きな乖離がある検体が認められた。この差は主に添加剤の性状の相違によると考えられる。測定法の変更には個々の製剤ごとにその妥当性を証明するバリデーションが必要である。（布施晃、矢野茂生）

(3) トキソイドのたん白窒素測定法の検討

細菌製剤協会の DPT 技術員会（5 社）のトキソイドの力価の評定についてのバラツキを解消する作業の一環として、トキソイドのたん白窒素測定方法について感染研とすり合わせを行った。検体は破傷風及ジフテリアトキソイドの各 2 ロットで合計 4 ロットを用い、感染研を含めた 6 試験所がそれぞれの試験方法（感染研試験方法を参考情報として提供）に従って測定を行った。キエルダール法を用いた試験所 6 カ所での試験結果のバラツキは概ね誤差範囲で、この方法の信頼性が実証された。ただし、1 試験所が平行して行った USP 収載の別報での成績は有意に低値を示し、適当な方法ではないと考えられた。（矢野茂生、布施　晃）

(4) 化学修飾された遺伝子組替え IFN の HPLC 純度試験

（ア）たん白純度（サイズ排除液体クロマトグラフ法）分析で、固定波長（215nm）と PDA（210nm－400nm）の方法で分析したところ、溶出時間内で主ピークの他に完全分離の 5 つの小ピークが検出された。分子量は未確認だが、PDA 法で主ピークと前後の小ピークの 3 ピークのみがタンパク質の特徴的な吸収スペクトルと判明した。この結果、PDA 法がたん白ピークの同定に必要であると確認出来た。

（イ）IFN 誘導体混合物の異性体（イオン交換クロマトグラフ法）分析でのクロマトグラムでは、完全に分離されていないピークも含め、10 以上のピークとして溶出された。検体の前処理に使用される分画膜（1 万）について 2 製品を比較したところ、溶出されるピークパターンが大きく異なり、各ピークの相対強度にも変化が現れた。分離膜の種類によって、ろ過される成分の組成が変化すると考えられた。（矢野茂生、布施　晃）

(5) 平成 16 年医薬品製造業一斉監視指導抜き取り試験検査品の核磁気共鳴(NMR)スペクトル法による確認試験

今年度の検査対象の製剤(セフトリアキナトリウム、硫酸ネチルマイシン、ジョサマイシン、プロピオン酸ジョサマイシン)の NMR スペクトル測定法の記載が日本抗生物質医薬品基準（日抗基）にないため、前年度の方法を踏襲して、標準溶液、検体溶液、および等量混合溶液を調整し、これらの ^{1}H-スペクトルと ^{13}C-スペクトルの測定を実施した（400MHz (^{1}H)　100MHz (^{13}C)、5mm 測定管、測定温度：27.0C)。標準品と製剤のスペクトルの比較から同定確認を試みた。

(ア)　セフトリアキソンナトリウムの NMR 確認試験（注射用 9 検体（5 社）、皮内用 1 検体（1 社））

^{1}H-スペクトル：10 検体全てに、賦形剤等の強ピークがほとんど検出されず、標準品と同一のスペクトルを与え、等量混合スペクトルは完全に一致した。注射用 9 検体には、4.0ppm 付近の弱い 1 重線が不純物ピークとして観測された。皮内用にはこのピークは観測されず、3.7ppm に別の 1 ピークが観測された。皮内用成分は、注射用成分と異なることを示した。^{13}C-スペクトル：標準スペクトルは $C_{18}H_{16}N_{8Na}Na_2O_7S_3$ に由来する 18 ピークが完全分離して観測された。注射用 9 検体の検体スペクトルも、同様のスペクトルを与え、等量混合物スペクトルでは、18 ピーク全てが一致し、同定確認された。

(イ)　硫酸ネチルマイシンの NMR 確認試験　（注射液 3 検体（2 社））

^{1}H-スペクトル：presaturation 測定を実施した。1.2～3.4、3.6～4.4ppm のピーク分離は比較的良好で等量混合物スペクトルによる部分同定に使用できたが、水ピークに部分重複するアノマープロトン（5.17、5.6）とオレフィンプロトン（5.2）の同定が困難で、同定確認は十分ではなかった。すべての検体で、7.5ppm 付近に添加物由来のピークが観測された。^{13}C-スペクトル：標準品と検体スペクトルには $C_{21}H_{41}N_5O$ に相当する 21 ピークが完全分離されて観測された。等量混合スペクトルでは、これらのピークは、全て一致し、同定確認された。添加物部分ピークが、55、118、135ppm 付近に観測された。

(ウ) ジョサマイシンの NMR 確認試験　（錠剤　1 検体（1 社））

^{1}H-スペクトル：標準スペクトルと検体スペクトルは微量の不純物ピークを除けば、同一のスペクトルを与えた。等量混合スペクトルは一致し、同定確認として満足する結果を得た。^{13}C-スペクトル：標準品スペクトルには $C_{42}H_{69}NO_{15}$ に相当する 41 ピーク（42ppm付近の 1 本の重複ピーク（2C 分）を含む）が観測された。検体スペクトルは不純物あるいは添加剤由来の 1 ピークだけが観測されたのみで、標準スペクトルと同様の 41 ピークを

与えた。等量混合物スペクトルでは、41 ピークが一致し、同定確認された。

(エ) プロピオン酸ジョサマイシンの NMR 確認試験（シロップ 1 検体（1 社）

^{1}H-スペクトル：シロップは、錠剤の場合と異なり、添加物由来と考えられるピークが多数観測された。標準スペクトルは 1ppm～7ppm の領域にほぼ均等に分布したピークを与えた。等量混合スペクトルはプロピオン酸ジョサマイシン相当のピークを比較することにより、同定確認が可能であったが、1ppm 付近の重複アルキルピークは同定が困難であった。13C-スペクトル：ジョサマイシンの場合と同様に、標準品スペクトルには $C_{45}H_{73}NO_{16}$ に相当する 44 ピーク（42ppm付近の 1 本の重複ピーク（2C 分）を含む）が観測された。検体スペクトルも対応する 44 ピークが観測され、等量混合物スペクトルでは、これら 44 ピークが一致し、同定確認された。（矢野茂生）

2. 血液製剤に対するエンドトキシン試験法の適用

血液製剤に対しては、従来から発熱等の副反応を防止するために、ウサギを用いる発熱試験法が実施されているが、試験法の感度及び精度や動物愛護等の観点から、エンドトキシン試験法を導入することが求められている。今年度は、血液製剤に対してエンドトキシン試験法を導入するために、試験法のバリデーション及び適切な基準値を設定するためのプロトコールを作成し、次年度以降に血液製剤製造各社とも協力して、本格的な検討を開始する環境を整備した。（内藤誠之郎、益見厚子、前山順一、浜口　功、落合雅樹（細菌第二部）、山本明彦（細菌第二部）、堀内善信（細菌第二部）、山口一成）

研修業務

Seminar on Sexual Transmitted Disease, Control of AIDS and ATL. 11 名の研修生に対しての講義と実習。村山庁舎。Aug.19-20.2004

その他

セミナー、学友会セミナー、研究会　（血液・安全性研究部主催）

1. 2004 年 5 月 19 日 渡辺慎哉（東京医科歯科大学助教授）：ゲノム解析の新時代

2. 2004 年 6 月 29 日 渡邊俊樹（東京大学大学院新領域創成科学研究科　メディカルゲノム専攻病態医療科学分野教授）：ヒトレトロウイルスの潜伏感染と病原性発現機構

3. 2004 年 8 月 6 日 間　陽子（独立行政法人　理化学研究所分子ウイルス学研究ユニット　ユニットリーダー）：レトロウイルスによる AIDS と白血病発症機構の解明-HIV と BLV-

4. 2005 年 3 月 17 日 野瀬俊明（三菱化学生命科学研究所、組織再生グループリーダー）：生殖細胞から再生医療への取り組み

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

1.欧文発表

1) Suzuki J, Ikeda T, Kuroyama H, Seki, S, Kasai M, Ustuyama M, Tatsumi M, Uematsu H, Hirokawa K.: Regulation of osteoclastogenesis by three human RANKL isoforms expressed in NIH3T3 cells. Biochem. Biophys. Res. Comm. 314, 1021-1027, 2004.

2) Ohsugi T, Yamaguchi K, Kumasaka T, Ishida T, Horie R, Watanabe T, Sakio　N, Fujimoto T, Sakamoto N, Urano T.: Rapid tumor death model for evaluation of new therapeutic agents for adult T-cell leukemia. Laboratory Investigation 84:263-266, 2004.

3) Isaka M, Komiya T, Takahashi M, Yasuda Y, Taniguchi T, Zhao Y, Matano K, Matsui H, Maeyama J, Morokuma K, Ohkuma K, Goto N, Tochikubo K.: Recombinant cholera toxin B subunit (rCTB) as a mucosal adjuvant enhances induction of diphtheria and tetanus antitoxin antibodies in mice by intranasal administration with diphtheria-pertussis-tetanus (DPT) combination vaccine. Vaccine 22(23-24): 3061-3068, 2004.

4) Fukazawa H, Noguchi K, Masumi A, Murakami Y, Uehara Y.: BimEL is an important determinant for induction of anoikis sensitivity by mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase kinase (MEK) inhibitors. Mol. Cancer Ther. .3:1281-1288, 2004.

5) Matsson H, Davey E, Draptchinskaia N, Hamaguchi I, Ooka A, Leveen Per, Forsberg　E, Karlsson S, Dahl N.:

Targeted Disruption of the Ribosomal Protein S19 Gene Is Lethal Prior to Implantation. Mol. Cell. Biol. 24: 4032-4037, 2004.

6) Ito K, Hirao A, Arai F, Matsuoka S, Takubo K, Hamaguchi I, Nomiyama K, Hosokawa K, Sakurada K, Nakagata N, Ikeda Y, Mak TW, Suda T.: Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells. Nature, 431: 997-1002, 2004.

7) Iwamoto K, Miyamoto T, Sawatani Y, Hosogane N, Hamaguchi I, Takami M, Nomiyama K, Takagi K, Suda T.: Dimer formation of receptor or activator of nuclear factor kappaB induces incomplete osteoclast formation. Biochem. Biophys. Rec. Commun. 325: 229-234, 2004.

8) Flygare J, Kiefer T, Miyake K, Utsugisawa T, Hamaguchi I, Da Costa L, Richter J, Davey EJ, Matsson H, Dahl N, Wiznerowicz M, Torono D, Karlsson S.: Deficiency of Ribosomal Protein S19 in CD34+ cells generated by siRNA blocks erythroid development and mimics defects seen in Diamond-Blackfan anemia. Blood 105: 4627-4634, 2005.

9) Ohsugi T, Horie R, Kumasaka T, Ishida A, Ishida T, Yamaguchi K, Watanabe T, Umezawa K, Urano T.: In vivo antitumor activity of the NF-{kappa}B inhibitor dehydroxymethylepoxyquinomicin in a mouse model of adult T-cell leukemia. Carcinogenesis. Apr 14; [Epub ahead of print] 2005

10) Ohsugi T, Kumasaka T, Ishida A, Ishida T, Horie R, Watanabe T, Umezawa K, Yamaguchi K.: In vitro and in vivo antitumor activity of the NF-kB inhibitor DHMEQ in the human T-cell leukemia virus type I transformed cell line, HUT-102. Leuk Res, Jul 4; [Epub], 2005

11) Watanabe M, Ohsugi T, Shoda M, Ishida T, Aizawa S, Maruyama-Nagai M, Utsunomiya A, Koga S, Yamada Y, Kamihira S, Okayama A, Kikuchi H, Uozumi K, Yamaguchi K, Higashihara M, Umezawa K, Watanabe T, Horie R.: Dual targeting of transformed and untransformed HTLV-1-infected T-cells by DHMEQ, a potent and selective inhibitor of NF-{kappa}B, as a strategy for chemoprevention and therapy of adult T cell leukemia. Blood. Jun 14; [Epub],2005

12) Masumi A, Aizaki H, Suzuki T, DuHadaway LB, Prendergast GC, Komuro K, Fukazawa H.: Reduction of Hepatitis C virus NS5A phosphorylation through its interaction with amphiphysin II. Biochem. Biophys. Res. Commun. 336:572-578,2005

13) Mori M, Nishida M, Maekawa N, Yamamura H, Tanaka Y, Kasai M, Taneichi M, Uchida T.: An increased adjuvanticity of liposomes by the inclusion of phosphatidylserine in immunization with surface-coupled liposomal antigen. Int Arch Allergy Immunol 136:83-89.2005

14) Mizuochi T, Okada Y, Umemori K, Mizusawa S, Sato S, Yamaguchi K.: Reactivity of genotypically distinct hepatitis B virus surface antigens in 10 commercial diagnostic kits available in Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 58:83-87,2005

15) Tanaka, AS. and Komuro, K. Targeted rearrangement of a chromosomal repeat sequence by transfection of a homologous DNA sequence using purified integrase. Gene Therapy 12: 783-794, 2005

2. 和文発表

1）岡田義昭、水沢左衛子、種市麻衣子、他：血液製剤の安全性のための核酸増幅検査（NAT)、臨床検査、第 48 巻、1125-1130、2004

2）岡田義昭：血液と血液製剤の安全性、サ−クルズ、6 巻、4-7、2004

3）浜口　功：リボゾーム蛋白 S19 欠損赤芽球癆に対するより安全な遺伝子治療のためのベクター開発. 日本学術振興会基盤研究（C）平成 16 年度報告書

4）山口一成：ATL/L の多剤併用化学療法。総合臨床 53:7:2137-2143, 2004

5）山口一成：ATL と HTLV−診断と治療−. 流行感染症の脅威:最新情報とその対策　−エイズ、肝炎、ATL、梅毒・クラミジア、SARS、インフルエンザ、結核−　臨床病理レビュー　24:50-59, 2004

6）山口一成、米村雄士：輸血および血液製剤の使い方。シリーズ　臨床研修医指導の手引き。総論−ローテーション研修での必須事項。診断と治療社。273-279, 2004.

7）梅森清子、岡田義昭、山口一成：輸血による感染症。救急・集中治療　16;1185-1191,2004

8）山口一成:白血病とリンパ腫　がん予防の最前線　基礎知識から新戦略へ　田島和雄、古野純典、中地　敬編

昭和堂　115-121, 2004

9) 山口一成:ヒトＴリンパ向性ウイルスＩ型(HTLV-I)、HTLV-Iプロウイルス DNA　広範囲血液尿化学検査　免疫学的検査ーその数値をどう読むかー　第６版(3)　日本臨床社　430-433、2005

10) 山口一成：HTLV-I の遺伝子診断　予防医学事典　松島綱治、酒井敏行、石川　昌、稲寺秀邦　朝倉書店　276-277、2005

11）内田哲也：アレルギーワクチン. 松島綱治、酒井敏行、石川昌、稲寺秀邦（編）：予防医学事典、朝倉書店、東京、55-56, 2005

12）布施　晃、ほか共著：「落下・航空機実験ガイドブック」発行：日本宇宙フォーラム・宇宙航空開発機構 pp1-109, 2005

13）布施　晃：第１回医薬品ウイルス安全性国際シンポジウムリポート、PHARMA TECH JAPAN, 21:401-404, 2005

II.学会発表

1．国際学会

1) Okada Y.: B19 infectivity assay with an epitherial cell line, International Scientific Working group on the Standardization of Genome Amplification Techniques for the Safety testing of blood, tissues and organs with regard to blood borne pathogens. Paris May 2004

2) Fuse A, Sato T.: Effect of microgravity changes on virus infection in mice. 25th Annual International Gravitation Physiology Meeting, June 6-11, 2004. Moscow, Russia.

3) Kita M, Yamamoto T, Imanishi J, Fuse A.: Influence of gravity changes induced by parabolic flight on cytokine production in mouse spleen. 25th Annual International Gravitation Physiology Meeting, June 6-11, 2004. Moscow, Russia.

4) Yamaguchi K: Adult T-cell leukemia and HTLV-I in Japan – Perspectives on the treatment: Global Trends in Cancer Research. July 1-2, 2004, Tokyo.

5) Fuse.: Modulation mechanism of c-mpl gene expression in human megakaryoblastic CMK cells. REGA International Symposium 2004. October8-9, 2004, Leuven, Belgium

6) Maeyama J, Isaka M, Yasuda Y, Tochikubo K, Yamamoto S, Goto N.: Studies on cellular immune responses of recombinant CTB as a mucosal vaccine adjuvant produced by Bacillus brevis and its safty evaluation. IVth World Congress on Vaccines and Immunology, Sep.30-Oct.3, 2004, Tsukuba,

7) Yasuda Y, Isaka M, Zhao Y, Taniguchi T, Matano K, Matsui H, Mizokami M, Komiya T, Takahashi M, Maeyama J, Goto N, Morokuma K, Ohkuma K, Tochikubo K.: Mucosal adjuvanticity of recombinant cholera toxin B subunit on humoral immunity against diphtheria-pertussis-tetanus combination vaccine, hepatitis B vaccine and influenza vaccine. IVth World Congress on Vaccines and Immunology, Sep.30-Oct.3, 2004, Tsukuba,

8) Miyake K, Frygare J, Kiefer T, Richter J, Hamaguchi I, Wiznerowicz M, Trono D, Karsson S: Development of Models for RPS19 Deficient Diamond-Blackfan Anemia Using Regulatable Expression of siRNA against RPS19. American Society of Gene Therapy 7th Annual Meeting, June 2-6, 2004, Minnesota

9) Hamaguchi I, Morisada T, Azuma M, Murakami K, Oike YY, Suda T.: Tie2 is essential for the development of lymphatic endothelial cell during ES cell differentiation. The 46th ASH Annual Meeting and Exposition, December 4-7, 2004, San Diego

10) Matsuoka S, Hirao A, Arai F, Ito K, Takubo K, Nomiyama K, Hamaguchi I, Ikeda Y, Suda T.: Rb regulates erythroid differentiation through Bcl-XL-dependent anti-apoptotic effect. The 46th ASH Annual Meeting and Exposition, December 4-7, 2004, San Diego

11) Frygare J, Kiefer T, Miyake K, Utsugisawa T, Hamaguchi I, Da Costa L, Richter J, Davey EJ, Matsson H, Dahl N, Wiznerowicz M, Trono D, Karlsson S.: Hematopoietic Mechanism in Diamond-Blackfan Anemia: late erythroid development is not affected by ribosomal protein S19 deficiency. The 46th ASH Annual Meeting and Exposition, December 4-7, 2004, San Diego

2．国内学会

1）岩瀬　敏、布施　晃、その他：人工重力プロジェクトの概要－国際人工重力プロジェクトへの参加 Overview of Artificial Gravity Project, Participation to

International Multilateral Artificial Gravity Project, 第 21 回宇宙利用シンポジウム、2004.1 日本学術会議

2) 前山順一、山本三郎、井坂雅徳、安田陽子、諸熊一則、大隈邦夫、杤久保邦夫、後藤紀久、組換えコレラ毒素Bサブユニット(rCTB)添加 BCG 経鼻免疫後の rCTB 単独頻回追加投与による DTH 増強効果。第 77 回日本細菌学会総会、2004.4. 大阪

3) 井坂雅徳、前山順一、安田陽子、諸熊一則、大隈邦夫、後藤紀久、杤久保邦夫、組換えコレラ毒素Bサブユニットの抗原特異的 IgE 抗体産生の抑制。第 77 回日本細菌学会総会、2004.4. 大阪

4) 渡邊俊樹、渡辺真理子、正田桃子、相澤繁美、石田尚臣、宇都宮與、山口一成、梅澤一夫、堀江良一：新規 NF-kB 阻害剤 DHMEQ を用いた ATL の治療と発症予防の可能性。第 8 回がん分子標的治療研究会総会。2004.5.13-14 鹿児島

5) 山口一成：ウイルス新時代の診断と治療　第 13 回大分臨床血液研究会　2004.6.26　大分

6) 笠井道之、水落利明：内在性抗原提示におけるオートファジー関与の可能性。第 14 回 Kyoto T Cell Conference　2004.6. 京都

7) 黒山浩之、池田　通、笠井道之、山崎　晶, 宇津山正典、斉藤　隆、廣川勝昱：ZAP-70 の新規アイソフォーム、truncated ZAP kinase (TZK)の同定と機能解析。第 14 回 Kyoto T Cell Conference　2004.6. 京都

8) 米村雄士、上野二菜、坂本福美、原田美保、福吉葉子、吉田千晶、山口一成、麻生範雄、満屋裕明、岡部紘明：Leukocytapheresis により細胞数を著明に減少させた後に化学療法を行なった CLL の 1 症例。第 52 回日本輸血学会総会。2004.6.23-25 札幌

9) 渡邊俊樹、渡辺真理子、正田桃子、大杉剛生、石田尚臣、相澤繁美、丸山ー長井正江、古賀　震、山田秦暉、上平　憲、宇都宮與、魚住公治、岡山昭彦、菊池　博、山口一成、梅澤一夫、堀江良一：新規 NF-kB 阻害剤 DHMEQ による ATL の分子標的療法と化学予防。第 44 回日本リンパ網内系学会学術総会。2004.7.14-16　京都

10) 布施　晃　：ウイルス安全性に必要な基本的要件、日本医薬品等ウイルス安全性研究会第 1 回技術懇話会、2004.7. 感染症研究所

11) 山口一成：ウイルス新時代の診断と治療　第 1 回感染研学友会コロキウム　2004.7.7　東京

12) Stefan Karlsson, Isao Hamaguchi, Johan Frygare, Koichi Miyake, Thomas Kiefer, Taiju Utsugisawa, Johan Richter：Development of Gene Therapy for Diamond Blackfan Anemia. 第 10 回日本遺伝子治療学会年会 2004.8. 東京

13) 石田尚臣、相澤繁美、正田桃子、黒木良子、宇都宮與、上平　憲、古賀　震、山口一成、渡邊俊樹：JSPFAD コホート検体における HTLV-I プロウイルスロードとクローナティ。第 63 回日本癌学会学術総会。2004.9.29-10.1 福岡

14) 正田桃子、伊藤恵美、宇都宮與、上平　憲、山口一成、渡辺慎哉、渡邊俊樹、渡辺真理子：合成 DNA アレイによる発現プロファイル解析に基づいた ATL 早期診断系の開発。第 63 回日本癌学会学術総会。2004.9.29-10.1 福岡

15) 山口一成：ウイルス新時代の診断と治療　第 79 回小児血液・腫瘍懇話会　2004.9.15　東京

16) 浜口　功、東真樹、村上恭子、須田年生：ES 細胞からの血液、血管内皮細胞分化誘導における Tie2 の機能。第 46 回日本血液学会 2004.9. 京都

17) 松岡佐保子、平尾　敦、新井文用、浜口　功、伊藤圭介、田久保圭誉、野見山佳奈、池田康夫、須田年生：Rb 欠損にみられる赤血球分化異常は、Bcl-XL によって回復する。第 46 回日本血液学会 2004.9. 京都

18) 福田　靖、小宮貴子、岩城正昭、益見厚子、末原章宏、多田善一、長井正昭、坂口孝廣、小幡　朗、荒川宣親、高橋元秀：ジフテリア及び破傷風トキソイドにおけるトキソイド抗原とタンパク質含量の測定に関する感染研と国内製造所による比較検討について。日本ワクチン学会 2004.10. 札幌

19) 正田桃子、伊藤恵美、石田尚臣、相澤繁美、岡山昭彦、菊池　博、古賀　震、宇都宮與、魚住公治、上平　憲、山口一成、渡辺慎哉、渡邊俊樹：合成 DNA マイクロアレイによる ATL 細胞のトランスクリプトーム情報に基づく早期診断系開発の試み。第 52 回日本ウイルス学会学術集会。2004.11.21-23　横浜

20) 岡田義昭、梅森清子、水沢左衛子、山口一成：上皮性細胞株を用いたパルボウイルス B19 の感染系の確立。第 52 回日本ウイルス学会学術集会。2004.11.21-23　横

浜

21) 小高千加子：アポトーシス死細胞の貪食に伴うマクロファージの挙動。第 34 回日本免疫学会総会。2004.12. 札幌

22) 種市麻衣子、田中ゆり子、笠井道之、内田哲也：リポソーム結合抗原によって誘導される cross-presentation. 第 34 回日本免疫学会総会。2004.12. 札幌

23) 前山順一、蔵田優子、後藤紀久：インターフェロンβの経鼻投与におけるアジュバント作用の増強。第 34 回日本免疫学会総会・学術集会、2004.12. 札幌

24) 秋山泰身、松本　満笠井道之、井上純一郎：TRAF6 遺伝子欠損マウスにおける胸腺構築異常。第 34 回日本免疫学会総会・学術集会　2004.12. 札幌

25) 笠井道之、水落利明：オートファジーを介して細胞質内抗原が MHC クラス II 分子に拘束して提示される可能性。第 34 回日本免疫学会総会・学術集会　2004.12. 札幌

26) 田中明子：レトロウイルス感染時に機能する宿主由来産物とウイルスタンパク質の相互作用. 第 27 回日本分子生物学会年会、2004.12. 神戸

27) 加藤博史、今井順一、浜口　功、河村未佳、内藤誠之郎、前山順一、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成：遺伝子発現の網羅的解析によるワクチンの新しい安全性評価の開発。第 125 回日本薬学会総会 2005.3. 東京

28) 益見厚子、深澤秀輔、小室勝利：インターフェロン制御転写因子の生物学的機能について－そのアセチル化と転写活性についてー　第 125 回日本薬学会 2005.3. 東京

14.国際協力室

室長　石川直子(～2004.6)
中嶋建介(2004.6～)

概　要

近年の国際交流の進展にともない、世界的に公衆衛生上の大きな脅威となるような新興・再興感染症が、地球上のあらゆる地域から、短期間のうちに国内へ侵入する可能性が高まっている。21 世紀最初の重篤な新興感染症であるＳＡＲＳを始め、米国等で流行中のウエストナイル熱、アジアの各国で流行し、ヒトへの感染例が増加している鳥インフルエンザH5Ｎ１など、例にいとまがない。このような状況においては、世界規模での情報収集、研究・技術面での国際貢献等、諸外国の研究機関との国際協力の推進と、国内関係機関との連携調整が重要になっている。

国際協力室は、平成 9 年設置後、国立感染症研究所の所掌事務に係る国際的な調査及び研究の調整を行っている。具体的には、外務省、ＪＩＣＡ、ＪＩCWELS等から厚生労働省、国立国際医療センター等を通じて依頼される開発途上国等に対する技術協力（外国人研修員の受け入れを含む）の調整、WHO・ＷＰＲＯ等の国際機関及び外国政府機関等との協力(感染症国際対策のための専門家派遣、保健大臣等要人の受け入れ等を含む)の調整等、以下のように実施している。

Ⅰ. 開発途上国等との技術協力の調整

開発途上国等に対する技術協力については、外国人研修生の受け入れと、国立感染症研究所からの専門家の派遣が中心である。外国人研修生の受け入れについては、平成 16 年 4 月から平成１7 年 3 月までに、54 カ国から 240 名の外国人研修生を受け入れた(別表 1)。また、国立感染症研究所の専門家の派遣については、平成 16 年 4 月から平成１７年 3 月までに、20 カ国９４名の派遣を行った(別表 2)。

Ⅱ. 国際機関及び外国政府機関等との技術協力の調整

国際機関等との協力については、WHOとの協力を中心に、アジア開発銀行等とも連携し、また外国政府機関との協力については、新興・再興感染症の発生地域への緊急職員派遣、関係国との国際シンポジウムの開催等を行っており、その概要は以下の通りである。

１.インドネシア・スマトラ島沖大規模地震及びインド洋津波後の被害地における支援のため、専門家を派遣

(1)　平成 17 年 1 月　国際緊急援助隊として被災地疫学調査のため、感染症情報センターから 2 名をインドネシアに派遣

(2)　平成 17 年 1 月～2 月　感染症のサーベイランス体制の強化支援のため WHO 専門家として感染症情報センターから 1 名をインドに派遣

(3)　平成 17 年 1 月～2 月　同上の用務のため、感染症情報センターから 1 名をスイス（WHO 本部）に派遣

(4)　平成 17 年 3 月　被災国の事情・状況把握のため政府調査団員として感染症情報センターから 1 名をタイに派遣

２.鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染が拡大するベトナムに対し、パスツール研究所のラボ支援を主目的に専門家を派遣

(1)　平成 17 年 1 月　現地情報収集のため、WHO 専門家としてウイルス第三部から２名派遣

(2)　平成 17 年 2 月　同上用務のため、ウイルス第三部から２名派遣

(3)　平成 17 年 3 月　疫学情報収集を目的として、感染症情報センターから２名を国立微生物研（ＮＩＨＥ）に派遣

３. 平成 17 年 2 月、東チモールにおけるデング熱流行対策のため WHO の緊急調査隊に参加し、ウイルス第１部

並びに昆虫医科学部から各１名を派遣
〔平成 17 年 3 月、上記国際感染症緊急協力派遣職員による帰国報告会を開催し、課題をとりまとめ（別表３）。〕

４．アジア開発銀行の要請をふまえ、タジキスタン保健省職員 3 名に SARS 対策緊急支援のための研修を実施

５．海外研究機関からの標準品、参照品等の分与依頼について手続方法を確立。(別表 4)

Ⅲ.その他の国立感染症研究所の所掌事務に係る国際的な調整

二国間科学技術協力協定に基づく協力プロジェクト（台湾等)、実地疫学専門家養成コースに係る調整、厚生労働省結核感染症課、ＪＩＣＡ、国立保健医療科学院、国立国際医療センター、等との国際協力連絡・調整等を行っている。

国際協力室

平成１６年度
外国人研修生受入について

年月日		国籍		所属先	受入担当	研修名等（依頼元）
H16.4.2		中国	社 紅	北京ＣＤＣ	感染症情報ｾﾝﾀｰ	国際共同研究実施のための日本国内でのSARS等感染症対策のｼｽﾃﾑの調査（自治医科大学）
			寧 芳			
			沈 壮			
			郭新彪	北京大学		
H16.4.6	～12.12	インドネシア	Benyamin Sihombing	伝染病･保健総合理事会	ﾊﾝｾﾝ病研究ｾﾝﾀｰ	ﾊﾝｾﾝ病の治療及び予防の実践（ＪＩＣＡ 集団研修）
		タイ	Janisara Rudeeaneksin	公衆衛生省		
		ニジェール	Harouna Youssoufi	医師		
		ﾏｰｼｬﾙ諸島	Jprbi Balos	公衆衛生部門		
H16.4.22	～4.23	中国	Zhu Wei	上海生物製品研究所	所長 ウイルス第三部 ウイルス第一部 細菌第二部 動物管理室 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	視察訪問（上海生物製品研究所）
			Chen Liesheng			
			Wang Bing			
			Zhang Jianguang			
			Chen Bei			
			Chen Huirong			
			Qing Jie			
			Yang Feiru			
H16.5.17		ウズベキスタン	Bakhodir Erkinovich Rahimov	共和国緊急医療研究ｾﾝﾀｰ	感染症情報ｾﾝﾀｰ	公衆衛生行政管理研修 （国立保健医療科学院(JICA)）
		ガーナ	Bertha Adwoa Gyau	Komfo Anokye大学附属病院		
		カザフスタン	Gulnara Zhanetovna Mukhanova	保健医療省		
			Ruslan Turarovich Akhmetov	ｶｻﾞﾌｽﾀﾝ泌尿器科学ｾﾝﾀｰ		
		カンボジア	Chhe Bun Thou	ﾌﾟﾉﾝﾍﾟﾝ市健康局		
			Mean Chan Yada	カンボジア赤十字		
		キルギス	Kurmanalieva Ainura Joldshbekovna	ｷﾙｷﾞｽ州立医学院		
			Akunov Nurdin Jumabekovich			
		コンゴ	Okiata Kenkana J.Paul	保健省		
		ザンビア	Canisius Banda	Chongwe地区健康管理チーム		
		タンザニア	Meshack Michael	中央政府		
			Woiufoo Philipo Gadi Munisi			
			Hiltruda Chrisant	保健省		
		中国	Wu Jun	公衆衛生管理センター		
			Wu Jiabing	安徽疾病制御予防ｾﾝﾀｰ		
			Yan Xiangjian	日中友好病院		
			Chen Xiaoyun			
		トーゴ	Amidou Sani	地域健康衛生局		
		ニジェール	Ibrah Boukary	国立公衆衛生校		
		日本	笹川恵美	助産婦･看護士		
			督永紋子	国立医療センター研究センター研究所		
			渡辺志津	筑波大学体育研究科修士課程在籍		
		バヌアツ	Merianm Daisy Carlot	健康省		
		フィリピン	Ma. Teresita Somera Cucueco	労働雇用省		
		フィリピン	Alama Lou Aquino Dela Cruz	健康制作開発計画局		
		マレーシア	Fariza Mohd. Yusof	健康省		
		モルディブ	Mohamed Rafeeq Hassan	保健省		
		モンゴル	Altantuya Jigjidsuren	健康省		
		ラオス	Bounfeng Phoummalaysit	健康省		

平成１６年度
外国人研修生受入について

H16.5.24		ギニア	Martin Cisse	国立ｲｸﾞﾅｽﾃﾞｨｰﾝ大学	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染症情報ｾﾝﾀｰ ｴｲｽﾞ研究ｾﾝﾀｰ	熱帯医学研究ｺｰｽ（長崎大学熱帯医学研究所（JICA））
		ザンビア	Sumbukeni Francis Kowa	ｻﾞﾝﾋﾞｱ大学附属病院		
			Duncan Mwelwa			
		セネガル	Papa Diogoye Sene	ﾀﾞｶｰﾙﾀﾞﾝﾃﾂｸ大学		
		トーゴ	Yawo Dotse Afetse	地域医療長		
		ナイジェリア	Idowu Dele Araoyinbo	ﾅｲｼﾞｪﾘｱ医療研究所		
		フィジー	Mike Nacovunisaqa Kama	ﾜｲﾆｺﾛ医療ｾﾝﾀｰ		
		モーリタニア	El Moustapha ould El	ﾃﾔﾚｯﾄ医療ｾﾝﾀｰ		
H16.5.24		中国	Qin Chuan	中国医学科学院実験動物研究所	動物管理室 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	中国実験動物専門家訪日団 （長崎大学先導生命科学研究支援センター長）
			Wei Qiang			
			Zhao Hong Xu			
			Zhu Hui Fang	中国医学科学院血液学研究所		
			Qu Lian Dong	中国農業科学院ﾊﾙﾋﾞﾝ獣医研究所実験動物ｾﾝﾀｰ		
			Liu Yung Bo	中国医学科学院実験動物研究所		
			Gao Hong			
			Chen Jian Quan	上海転基因研究中心		
			Tan Yi	重慶医科大学実験動物ｾﾝﾀｰ		
			Wang Chun Yao	河南省実験動物中心		
			Lu Jing	首都医科大学		
			Wu Yi Li	中国医学科学院実験動物研究所		
			Liu Yang	ﾊﾑﾘｰ㈱通訳		
H16.5.25		中国	Qin Chuan	中国医学科学院実験動物研究所	動物管理室 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	中国実験動物専門家訪日団 （長崎大学先導生命科学研究支援センター長）
			Wei Qiang			
			Zhao Hong Xu			
			Zhu Hui Fang	中国医学科学院血液学研究所		
			Qu Lian Dong	中国農業科学院ﾊﾙﾋﾞﾝ獣医研究所実験動物ｾﾝﾀｰ		
H16.6.23		ガーナ	Bertha Adwoa Gyau	Komfo Anokye大学附属病院	ﾊﾝｾﾝ病研究ｾﾝﾀｰ	公衆衛生行政管理研修(国立保健医療科学院(JICA))
		カザフスタン	Gulnara Zhanetovna Mukhanova	保健医療省		
		コンゴ	Okiata Kenkana J.Paul	保健省		
		ザンビア	Canisius Banda	Chongwe地区健康管理チーム		
		タンザニア	Meshack Michael	中央政府		
			Woiufoo Philipo Gadi Munisi			
			Hiltruda Chrisant	保健省		
		中国	Wu Jun	公衆衛生管理センター		
			Wu Jiabing	安徽疾病制御予防ｾﾝﾀｰ		
		トーゴ	Amidou Sani	地域健康衛生局		
		ニジェール	Ibrah Boukary	国立公衆衛生校		
		日本	笹川恵美	助産婦・看護士		
			脊永紋子	国立医療センター研究センター研究所		
			渡辺志津	筑波大学体育研究科修士課程在籍		
		バヌアツ	Merianm Daisy Carlot	健康省		
		フィリピン	Ma. Teresita Somera Cucueco	労働雇用省		
			Alama Lou Aquino Dela Cruz	健康制作開発計画局		
		モルディブ	Mohamed Rafeeq Hassan	保健省		

国際協力室

平成１６年度
外国人研修生受入について

H16.6.16	～7.30	インドネシア	Dewi Lisa	バライ研究所	エイズ研究センター	HIV感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術(JICA　(集団研修))
		ザンビア	Lameck Sukwa	臨床検査技師		
		ジンバブエ	Zinyama Rutendo Beaunah	国立健康研究所		
		スワジランド	Sindisiwe Susan Dlamini	保健福祉省		
		セイシェル	Eddy Michel Kilindo	保健省		
		タイ	Sumonmal Uttayamakul	医療技術者		
		タンザニア	Hilda David Maya	ムヒンビリ国立病院		
		ナミビア	Christine Weiss	ナミビア病理学研究所		
		フィジー	Apaitia Vakacegu	国立ウイルス・動物媒介感染症科学センター		
		ボツワナ	Tapologo Nkoane	保健省		
		マラウィ	Doris Butao	保健省		
		マレーシア	Ahmad Azani Bin Othman	国立血液センター		
H16.7.7		アフガニスタン	Stanikzai Ahmad Arif	保健省	ウイルス第二部	第1回ワクチン予防可能疾患の根絶セミナー（II）(国際保健医療交流センター)
		カンボジア	Ya Nareth	保健省		
		スワジランド	Mavis	保健社会福祉省		
		ドミニカ共和国	Despradel Omar Eduardo	地方保健所		
		ナミビア	Primus Shilunga	疫学局		
		ニジェール	Ousmane Sanda	保健省		
		パキスタン	Muhammad Tariq	政府機関		
		パナマ	Bayard Vicenie	健康調査研究所		
		バブアニューギニア	Ropa Barry	健康省		
		バングラディシュ	Das Sunil Kumar	予防接種拡大計画		
H16.7.19	～8.31	台湾	Jih-Hui Lin	台湾CDC	ウイルス第三部	タイプ別インフルエンザウイルスの検査と測定(台湾ＣＤＣ)
H16.7.26		パキスタン	Muhammad Tariq		感染症情報センター	パキスタン予防接種拡大支援プロジェクト(国立国際医療センター（JICA))
H16.7.30	～9.30	中国	Wen-Bin Tong	四川省疾病対策制御センター	ウイルス第二部	予防接種事業強化（国別研修）ポリオ分子生物学診断技術研修(JICA)
H16.8.19	～8.20	ウズベキスタン	Akmal Abrodovich Makhamatov	国立エイズセンター	血液安全性研究部	AIDS/ATLの疫学及び対策セミナー(国立病院機構熊本医療センター)
		エルトリア	Negusse Gebremeskel Zigta	アスマラ・ハズハズ病院		
		ガンビア	Malick Samaram Njie	ローヤルビクトリア教育病院		
		セネガル	Sylva Antoine	ダカール総合病院		
		トーゴ	Patassi Akessiwe	トコイン教育病院		
		フィジー	Mohammed Ishaque	保健省		
		ブルンジ	Pancrace Ntibarufata	保健省		
		ベリーズ	Aisha Nicole Andrewin	カールヒュスナー記念病院		
		ホンジュラス	Hegla Varinia Izaguirre Bourdeth	国立感染症研究所		
		マラウイ	Alice Jacqueline	保健省		
		ミャンマー	Nanda Kyaw	保健省		
H16.9.2		韓国	Kim Tong Soo	国立健康研究所	感染症情報センター	感染症情報サーベイランスシステム等に関する意見交換・視察(韓国健康研究所)
			Cho Sang Ki	忠清北道健康環境研究所		
			Park, Yong Bae	Gyeonggi-do健康環境研究所北部支所		
			In Chi Kyung	Chungcheongnam-do健康環境研究所		
			Kim Kyung Tae	DaeguMetropolitan健康環境研究所		
			Kim Soo Jung	Jeju-do健康環境研究所		
			Yeo Yeong Hee	Gyeonsangnam-do健康環境研究所		
			Lee Jong Bok	Gyeonggi-do健康環境研究所		
			Yoo Young A	ソウル健康環境研究所		
			Kong Yoon	Sungkyunkwan大学		

国際協力室

平成１６年度
外国人研修生受入について

H16.9.15		中国	Song Hong-Bing Li Zhaoxi Li Shaohua	安徽省廬江区疾病センター 安徽鳳陽区保健局 安徽省医科大学	感染症情報ｾﾝﾀｰ	安徽省プライマリヘルスケア技術訓練プロジェクト研修(国立保健医療科学院　(JICA))
H16.9.17		ナイジェリア	Dawha Ishaya Mwajim Achegbulu Onche Philip Etikudo Ofonime Akpan Peter Richard Yakubu Kachiro	国家エイズ行動委員会 Usman Danfodio病院 ｱｸﾜ･ｲﾎﾞﾑ州連邦医学ｾﾝﾀｰ イバダン市医療大学 連邦保健省	エイズ研究ｾﾝﾀｰ	ナイジェリアHIV感染予防対策研修(北海道大学(JICA))
H16.10.5		カンボジア フィリピン ベトナム ミャンマー ラオス	Thai Savuth Pineda Eloisa Carreon Tran　Thi Luu Nguyen Huong Htum Tin Insisiengmay Bounnaloth	保健省 ガバメント・センター 保健省 中央疫学部隊 保健省	感染症情報ｾﾝﾀｰ	感染症対策研修(国際厚生事業団)
H16.10.6		インド インドネシア カンボジア 大韓民国 中国 バングラディシュ マレーシア モンゴル ラオス	Jahnabi Goswami B.B.Rewari Grace Ginting Munthe Kim Bunna Tep Navuth Shin Kyung-mi Dang-hui Zhao Meiwen Yu Umme Salma Jahan Meena Sharifah Nazneen Agha Nyamaa Khulan Beuang	HIV･エイズと共に生きる人々アッサムネットワーク ﾄﾞｸﾀｰﾗﾑ･ﾏﾉﾊｰﾙ･ﾛﾋｱ病院 保健省感染症対策管理 国立ｴｲｽﾞ･皮膚病･性感染症ｾﾝﾀｰ 国立ｴｲｽﾞ公共事業機関 大韓民国疾病対策予防センター 黒竜江省疾病対策予防センター 国立性感染症･ハンセン氏病対策人材センター ﾘﾌﾟﾛﾀﾞｸﾃｨﾌﾞﾍﾙｽ調整員 エイズアジア太平洋地域ネットワーク 連合プログラム調整員 保健省国立エイズ対策委員会	感染症情報ｾﾝﾀｰ エイズ研究ｾﾝﾀｰ ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染病理部	ｱｼﾞｱ地域ｴｲｽﾞ専門家研修(ｴｲｽﾞ予防財団)
H16.10.12	～10.13	インド	S Chakrabarti	NICED副所長	エイズ研究センター	インド国分子生物学コース(JICA)
H16.10.12		オマーン ケニア タイ 中国 マレーシア	Nasser Salem Saif Al-Wehaibi Fahad Mahmood Joyce Wanjiku Nyoike Wittaya Thammarith Li Bu-Rong Malarvili AP Ramalingam	農漁業省 保健省 自然資源･環境省 西安交通大学 科学技術革新省	感染症情報センター	衛生環境分析技術者Ⅱコース (沖縄県衛生環境研究所（JICA）)
H16.10.14		ベトナム	Dinh Ngoc Sy Hoang Thi Lien Huong Le Thanh Phan	国立肺結核研究所 CENCOBI	細菌第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染症情報ｾﾝﾀｰ	施設見学(細菌第二部)
H16.11.1	～H17.1.28	中国	Wen-Bin Tong	四川省疾病対策制御センター	ウイルス第二部	予防接種事業強化（国別研修）ポリオ分子生物学診断技術研修(JICA)
H16.11.1		アルゼンチン 中国 ボツワナ メキシコ	Marcela Patricia Xiao Ma Ontlametse Gracious Setswamorago Carrillo Briano Edith	国立医薬品研究所 国立薬品･生物製剤検定所 カトリン地方評議会 保健リスク対策連邦委員会	細菌第二部	ワクチン品質管理技術コース(阪大微生物研究会観音寺研究所（JICA）)
H16.11.5	～11.12	タジキスタン	Tohir A.Sherhanov Ahmadbekova Sabohat Ruziev M.Mehmondustovich	国立マラリア対策センター副所長 共和国高度感染症部門 保健省	ウイルス第一部 ウイルス第三部 感染症情報センター	SARS対策緊急地域支援研修(アジア開発銀行)

国際協力室

平成１６年度
外国人研修生受入について

H16.12.3		中国	Li Wanhua	上海生物製品研究所副所長	細菌第二部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 動物管理室	施設見学(上海生物製品研究所)
			Zhang Jianhua	基礎建設主任		
			Lang Luqun	基礎建設副主任		
			Jing Hui	ﾜｸﾁﾝ第一室副主任		
			Cai Mingyong	ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞﾜｸﾁﾝ生産部副主任		
			Zhou Hua	営業部マネージャー		
			Zhu Ye	設備管理主任		
			Zhu Hunyan	海外貿易部		
H16.12.9		インド	Kemp John	ﾅｰｶﾞｰﾗﾝﾄﾞ州保健・家庭福祉局	細菌第二部	薬剤耐性病原体の実験室診断（II）コース (国際保健医療交流センター)
		ケニア	James Muthee Muita	保健省		
		タイ	Chudaachhara Unhasuta	チュラロンコン大王記念病院		
		パナマ	Barrios Raquel	ｺﾞｰｶﾞｽ記念ｾﾝﾀｰ		
		フィジー	Chandra Reginald	フィジー植民地戦争記念病院		
		フィリピン	Flores Leah Bagunu	ラグナ保健局		
		ペルー	Barrios Raquel	国立ﾄﾞｶﾞﾙﾄﾞ・ﾚﾊﾞｸﾞﾘｱﾃｨ・ﾏｰﾃｨﾝ病院		
		ボツワナ	Ketshabile	国立保健研究所		
H16.12.20		台湾	Ming-Rong	高雄市保健局	ウイルス第一部	施設見学及び講義(台湾高雄市)
			Yue-Fen			
			Shui-Hua Lin			
			Ming-Ren Chang			
			Ming-Fen			
			Wu-Hsiung			
			Chao-Ying Pan	高雄市疾病制御センター		
			Ra-Chen Yang	高雄大学		
			Ching-Yaw	Kai-Suan精神病院		
			Tzuu-Yuan Huan	市立統一病院		
H16.12.20		マレーシア	Norazah	厚生省医学研究所	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	施設見学(長崎大学熱帯医学研究所)
H17.1.11	～2.4	マレーシア	Norizah Ismail	国立公衆衛生研究所	ウイルス第二部	消化器官細菌の同定及び検査のための組織培養技術研修(WPRO)
H17.1.19	～1.28	マレーシア	Mohamad Mariam	保健省	感染症情報センター	公衆衛生の研究室におけるデータ収集、分析等の生物情報学の確率(WPRO)
H17.1.31	～2.4	中国	Wen-Bin Tong	四川省疾病対策制御センター	ウイルス第二部	予防接種事業強化（国別研修）ポリオ分子生物学診断技術研修(JICA)
H17.1.31	～2.18	インド	Rajeev Thakur	人間行動学関連研究所	ウイルス第二部	地球規模ポリオ根絶のためのウイルス検査技術の質的向上(JICA)
		ジンバブエ	Blessing Fanani Matshaka	公衆衛生研究所		
		トーゴ	Lacle Tevi-Djidjogbe Anani Kiki	健康省		
		ネパール	Phup Raj Rai	国立衛生研究所		
		パキスタン	Rukhasana Hameed	公衆衛生研究所		
		パナマ	Ilka Abigail Guerra Guerra	ゴルガス記念衛生研究所		
		ミャンマー	Meiji Soe Aung	国立衛生研究所		
H17.2.14	～3.1	インド	Byomkesh Manna	National Institute of Cholera and Enteric Diseases	感染症情報センター	インド国下痢症対策（フェーズ2）国別研修「生物統計学」（JICA）
H17.2.17		韓国	朴	韓国保健産業振興院	ウイルス第三部	日本におけるインフルエンザ等のワクチンに関する調査（柳韓大学保健医療福祉研究所日本事務所）
H17.3.7		中国	Su Hijun	中国衛生部	ウイルス第二部	中華人民共和国予防接種強化プロジェクト（国別研修）「予防接種」に係る研修（JICA）
			Jou Yiqing	中国CDC		
			Xu Huaien	甘粛省衛生庁		
H17.3.9		インドネシア	Rusmiyati Widiyarti	保健省	感染症情報センター	インドネシア国「地方分権下における保健医療行政（JICA）
H17.3.10		中国	暁　明	北京市CDC	感染症情報センター	中国北京CDC招聘者（茨城県つくば保健所長）
			徐　曉明			
			劉　輝			
			王　如剛			
			周　素梅			
			星　淑玲			
H17.3.14	～4.7	インド	Byomkesh Manna	National Institute of Cholera and Enteric Diseases	感染症情報センター	インド国下痢症対策（フェーズ2）国別研修「生物統計学」（JICA）
H17.3.22	～4.16	中国	Yong Zhang	WHOフェローシップ	ウイルス第二部	ワクチン由来ポリオウイルスの解析（柳韓大学保健医療福祉研究所日本事務所）

国際協力室

別表１

平成１６年度　外国人研修員等国別受入数

国名等	人数（人）	国名等	人数（人）
アジア地域［１９国］		アメリカ地域［7国］	
アフガニスタン	1	アルゼンチン	1
インド	7	ドミニカ共和国	1
インドネシア	5	パナマ	3
オマーン	2	ベリーズ	1
韓国	１２	ペルー	1
カンボジア	6	ホンジュラス	1
タイ	4	メキシコ	1
台湾	１１		
中国	８０	オセアニア地域［4国］	
ネパール	1	バヌアツ	2
パキスタン	3	パプア・ニューギニア	1
バングラディシュ	2	フィジー	4
フィリピン	6	マーシャル諸島	1
ベトナム	4		
マレーシア	7	ヨーロッパ地域［4国］	
ミャンマー	3	ウズベキスタン	2
モルディブ	2	カザフスタン	3
モンゴル	2	キルギス	2
ラオス	3	タジキスタン	3
アフリカ地域［２０国］			
エリトリア	1		
ガーナ	2		
ガンビヤ	1		
ギニア	1		
ケニア	2		
コンゴ	2		
ザンビア	5		
ジンバブエ	2		
スワジランド	2		
セーシェル	1		
セネガル	2		
タンザニア	7		
トーゴ	5		
ナイジェリア	6		
ナミビア	2		
ニジェール	4		
ブルンジ	1		
ボツワナ	3		
マラウィ	2	国数計	５４
モーリタニア	1	人数計	２４０

国際協力室

別表２

専門家海外派遣について

（単位：人）

派遣国	平成9年度	平成10年度	平成11年度	平成12年度	平成13年度	平成14年度	平成15年度	平成16年度
ガーナ	8	3	3		3	1	3	
中国	7	5	3	1		2	8	１０
インドネシア	2	1	1	1				3
バングラディシュ	2							
タイ	2	5	7	8	１０	１０	8	１０
ベトナム	2					2	2	8
カンボジア	2	1	1	1	2	1	1	
フィリピン	1	3	3	3	1		1	4
エジプト	1	1	2	1		1	1	
カメルーン			1					
セネガル			1					
象牙海岸			1					
エチオピア		1				1	1	
ウガンダ		1						
タンザニア		1	1	1				
ラオス		2	1					
マレーシア		2	3	2				1
トルコ			1	3	2	1		
インド			2	1			3	4
モンゴル			1	2		2		
フランス				1				3
ミャンマー						1		
シンガポール							1	
台湾							1	4
パキスタン							1	
アメリカ								3
南アフリカ								2
英国								2
カナダ								1
スイス								３０
メキシコ								1
韓国								2
オーストラリア								2
スウェーデン								1
スリランカ								1
東チモール								2
合　計	２７	２６	３２	２５	１８	２２	３１	９４

別表３

国際感染症対策のための専門家派遣における課題

平成 17 年 3 月

国立感染症研究所

感染研において平成 16 年度に実施した国際感染症対策のための緊急専門家派遣に際し、以下の課題点があったことから、今後、国際感染症協力を進めるに際しては、その課題の検討が望まれる。

１　派遣に際する予算等の課題

（１）　旅費

現状では、政府予算、本省予算が無い場合は、厚生科学研究費補助金を主任研究者の了解を得て用い、海外旅費を工面する状況。

（この場合、補助金の規定により、派遣期間は２週間に限定され、さらに派遣者を分担研究者に追加することが必要となる。なお、WHO の国際調査隊に参加する場合は、参加国で渡航費を工面することが必要）

（２）　手続き

時間的に公用旅券の取得が困難な場合が多々あり、私用旅券での渡航となることもある。

（その場合、現地で身分を証明する文書が無い。感染研では、便法として、私用旅券での渡航の際は、外務省をつうじ現地領事館に事前通報を依頼。また、派遣候補者には数次の公用旅券の取得の申請を依頼。）

２　派遣地での活動に関する課題

（１）　活動費

現地での調査費、活動費は自己負担となる場合が多い。

（WHO による派遣の場合は、自己負担の後、帰国後に本人が償還することが可能。なお米国 CDC では、現地で使用可能な一定限度額のカードを派遣職員に貸与し、資金の裏付けをもった活動を実施中）

（２）　関係機関との連携

現地の JICA 職員、大使館職員等と連携し協力を得られる体制が必要

（欧米諸国の国際感染症協力においては、専門家が業務に専念できるよう、ロジ担当者の同行や現地大使館員の協力の下、迅速な入国手続き、必要最低限の検査機器等の手荷物検査の支援、交通手段の手配等に至るまで、国を挙げての対応が進められているもよう。）

（３）　国内との連絡体制の確保

派遣職員が GPS 携帯、GPSLAN カードを携行し、後方支援を行う感染研と連絡を取れる体制が必要

（米国 CDC 等は、軍を含めた現地関係者の通信手段も活用し、本国と連絡することを見聞。当面、携帯等については所内予算で対応を検討）

（４）　個人の健康対策

渡航前に事前に地域ごとに必要なワクチンを接種し、医薬品を携行することが必要。また、有事の際の速やかな医療提供体制も必要

（欧米諸国では、派遣者の事故や感染に際して、本国や安全な医療が提供できる地域への速やかな送還措置が取られており、我が国の協力においてもこれに習うべきと考える。なお、予防接種等については所内予算で対応を検討）

（５）　保険

健康保険でカバーできない補償（盗難、紛失、損害等）については、派遣者本人で民間の海外旅行保険に個人加入しなければならない。

さらに、科研費で派遣された場合は、予防注射料、外貨交換手数料、出入国税、査証手数料等の請求が不可。

３　派遣要員に関する課題

（１）　要員の限定

派遣可能な要員は限られているが、今後ともアジア諸国からの要望に極力応える方針。

（しかしながら、十分な能力を有して現地で活動可能な職員は限られており、また国内での通常業務にも欠かせないことから、派遣対応は、相当の困難な中での対応となっている現状）

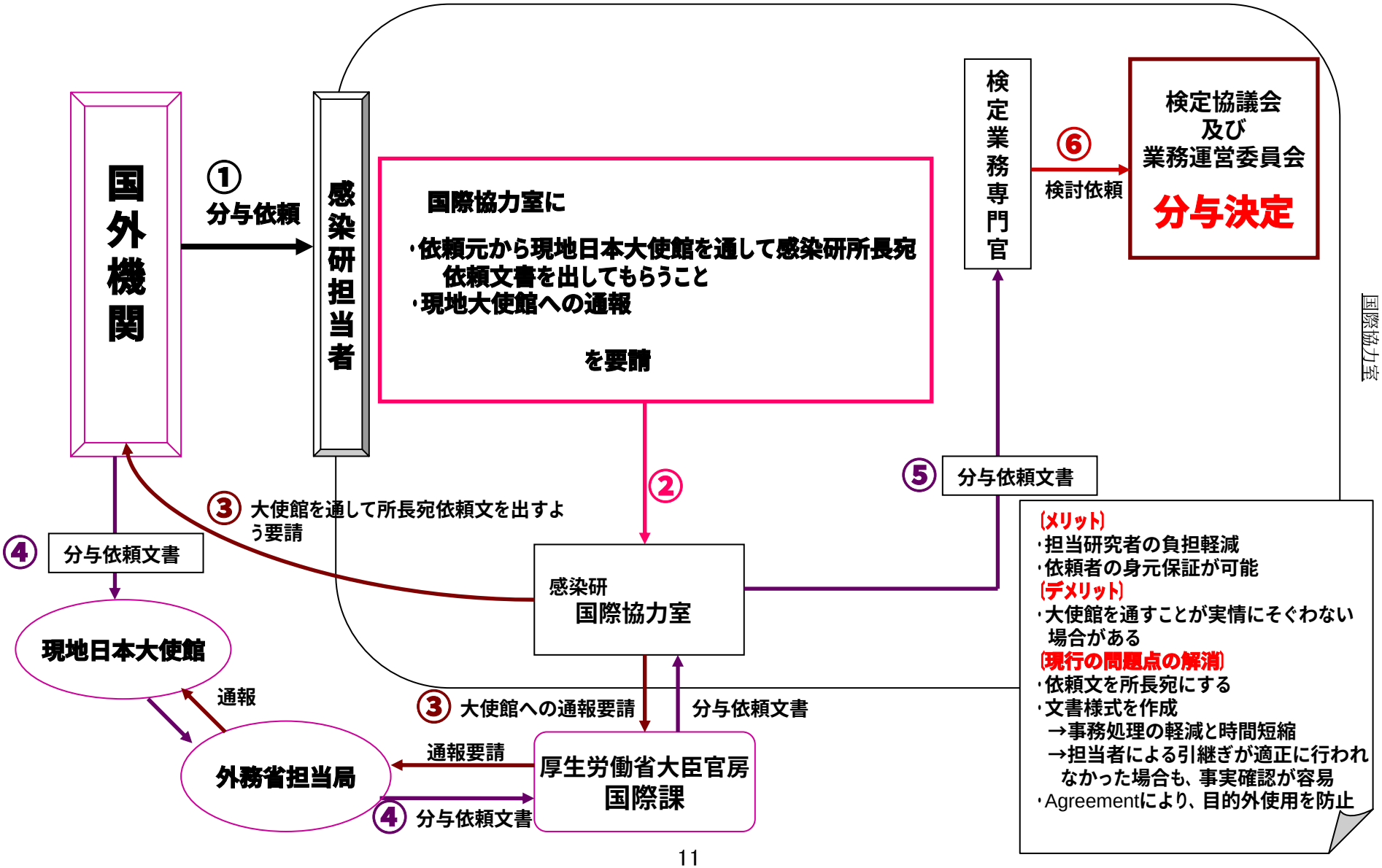
（２）　要員育成の必要性

今後の国際協力対応を拡充するためには、能力を有した要員に若手職員を見習いのため同行させる等の実地研修を行っていくことが必要

（国の感染症対策機関として人員養成は不可欠）

別表4

国外機関への標準品、参照品等の分与手続き



15.遺伝子解析室

室長　　神田　忠仁

概　要

遺伝子解析室では、遺伝子治療に用いるウイルスベクターの研究とウイルス感染症の発症に係わる宿主遺伝子の探索、解析に関する業務を行うこととされている。

遺伝子治療は、先天性遺伝病に対する根治療法になりうる。これまでに欧米及び我が国で行われた臨床試験では、重症複合免疫不全症に対して良好な治療効果が見られ、末期がん患者の QOL の改善や維持においても効果を発揮している。前臨床試験では、血友病や糖尿病の治療に有効性が示されている。今後、遺伝子治療がさらに発展し、真に実用的な治療技術となるためには、遺伝子導入効率を一層高めるとともに、導入遺伝子の安定な発現と発現量や発現時期の調節を可能にする技術の開発が求められ、これらの機能を持つ高性能ウイルスベクターの開発が各国で進められている。一方、米国でのアデノウイルスベクターによる患者の死亡やフランスでのレトロウイルスベクターによる白血病の発症が示すように、いわば人工のウイルスであるベクターの臨床応用では、ベクターの安全性確保が重要な課題である。我々は、我が国での遺伝子治療臨床試験のリスク管理に役立てるため、内外のウイルスベクターの安全性、有効性に関する情報収集に努めた。また、今後、遺伝子治療への応用が期待されているアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター、レンチウイルスベクターの研究を進めた。

15 種のヒトパピローマウイルス(HPV)が発がん性を持つ。これらの高リスク HPV の感染は子宮頸癌を中心に世界の女性の癌の 11%の原因とされている。HPV は、性行為等で生じた粘膜の微少なキズから侵入し、表皮基底細胞（幹細胞）の核内にエピゾームとして潜伏・持続感染する。感染細胞が最終分化を始めると HPV ゲノムの複製と HPV 蛋白質の大規模な発現が起こり、子孫ウイルスが形成されて周辺に放出される。このような HPV 潜伏・持続感染の成立と維持を支える角化細胞の分化の機構を解析し、HPV を排除する方法を検討している。現在、欧米で開発されている HPV ワクチンは 16 型、18 型のみの感染を予防するもので、他の型には効果がない。我々は、発がん性 HPV 群の感染を一括して予防できるワクチン抗原の開発を目指している。

HIV のヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤に対する耐性株は、逆転写酵素に変異を持つ。変異が逆転写酵素の構造と機能をどのように修飾するのかを知るために、逆転写酵素の結晶化と計算科学による解析を継続した。

臓器移植は実用的な医療技術として発展している。しかし、移植用臓器の不足は深刻で、待機患者が移植を受けられずに死亡することも多い。そこで、動物臓器を利用する異種移植の研究が進められている。我が国でも、ヒトの補体による拒絶反応を軽減できる遺伝子改変ブタが開発されている。しかし、異種移植では、ドナー動物由来感染症が生じる可能性があり、いったんヒトでの増殖能を獲得した病原体による感染の拡大が危惧されている。特に内在性レトロウイルスは、ドナー動物の飼育管理では排除でき無い。今年度から、ブタの内在性レトロウイルスに関する研究を開始した。

業　績

調査・研究

I. 遺伝子治療に用いるウイルスベクターに関する研究

1.　アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターの開発及び安全性評価のための基礎的研究

(1) AAV10 型、11 型ベクターの体内動態の解析

AAV10 型、11 型ベクターの安全性、体内動態をカニクイザルで調べた。ベクターが持つ EGFP 遺伝子の異なる位置に HindIII 認識部位を導入し、PCR 産物を HindIII で切断すればどちらのベクター由来断片か分かるよう工夫した。AAV2、10、11 型ベクターを 10^{10} ゲノムコピーずつ混ぜ、5 頭のカニクイザルに大腿静脈から接種した。3 ないし 7 ヶ月後に解剖し、各臓器のベクターゲノムを調べた。脾臓、リンパ節などのリンパ系組織

には、各血清型のベクターゲノムが存在した。肝臓では2､10 型ベクターが検出されたが 11 型ベクターは検出されず、血清型によって臓器指向性が違っていた。一頭では 2､10 型ベクターは検出されるものの､11 型ベクターは全ての臓器に検出されず、各血清型ベクターに対する感受性に個体差があった。ベクターが検出された臓器に異常な病理所見は無く、どの血清型のベクターも粒子そのものの毒性は極めて低いことがわかった。(森清一郎、神田忠仁、佐多徹太郎［感染病理］)

(2) AAV ベクターの感染における細胞表面糖鎖の役割

COS-1 細胞表面をヘパリナーゼないしコレラ菌シアリダーゼで部分消化した後に、AAV2、4、8、10、11 型ベクターの感染の有無を調べた。また、O 結合型グリコシレーションの特異的阻害剤を添加した培養液で増殖させた COS-1 細胞へのベクターの感染を調べた。ヘパリナーゼ処理により 2 型ベクターの感染性は著しく低下したが、4、8、10、11 型ベクターの感染性に影響はなかった。コレラ菌シアリダーゼで処理した場合、4 型ベクターの感染は強く阻害され、8、10 型ベクターの感染は部分的に阻害された。2、11 型ベクターの感染には影響がなかった。O 結合型グリコシレーションを阻害された COS-1 細胞への 4 型ベクターの感染は低下した。血清型により、感染に使用する細胞表面の糖鎖の種類が異なることがわかった。(森清一郎、神田忠仁)

2. 新たなウイルスベクターの開発に関する研究

(1) AAV 組み込み標的部位(AAVS1)に存在するインシュレーターの解析

導入遺伝子が染色体のどの部位に組み込まれても、安定な長期発現を可能にするには、ウイルスベクターにインシュレーターを組み込む必要がある。ヒト 19 番染色体 AAVS1 領域内に見出したインシュレーターの解析を継続した。DNA を細分化して各断片のエンハンサーブロッキング活性を調べ、活性を担う 27 塩基長の 2 つの独立した領域を明らかにした、in vitro の試験でこの領域には、ニワトリのβグロビンインシュレーターに結合する CTCF は結合せず､AP2 が結合することがわかった。(緒方敏彦、神田忠仁)。

(2) HPV ベクターの作製

HPV52、58 型キャプシドに発現プラスミドを組み込んだベクターを開発した。HPV キャプシド蛋白質(L1、L2)は、通常の動物培養細胞で発現しないので、HPV52、58 型 L1 及び L2 遺伝子のアミノ酸配列を変えずに塩基配列を変えたコドン変異体を作製した。コドン変異体を 293TT 細胞に導入すると、効率よくキャプシドが形成された。SV40 複製開始点を持つレポータープラスミドを L1､L2 発現プラスミドと共に 293TT 細胞に導入すると、細胞で複製したレポータープラスミドがキャプシドに取り込まれ、感染性のベクターとなった。HPV キャプシドの抗原性は型特異性が極めて高いので､HPV の異なる型のベクターは繰り返し投与が必要な遺伝子治療戦略に適している。また、このベクターは、HPV ワクチンの有効性を評価する感染中和系に利用できる。(越智寛幸、神田忠仁)

II. HPV に関する研究

1.HPV の増殖制御機構の研究

(1) CCAAT/enhancer binding protein β（C/EBPβ）.による HPV16 型 P670 プロモーターの活性化

HPV 遺伝子の転写は､感染角化細胞の分化に同調して制御されている。そこで角化細胞の分化を引き起こす転写因子 C/EBPβが HPV16 型遺伝子の転写に及ぼす効果を調べた。初期プロモーターP97 及び後期プロモーター P670 の下流にルシフェラーゼ遺伝子を挿入したレポータープラスミドを作り、C/EBPβ発現プラスミドと共に HeLa 細胞またはヒト包皮角化細胞に導入した。C/EBPβは P97 からの転写を抑制し、P670 からの転写を昂進した。組換え C/EBPβ蛋白質を大腸菌で作成し、P670 領域の DNA 断片を用いたゲルシフトアッセイを行い、P670 近傍に 2 ヶ所の C/EBPβ結合部位を同定した。C/EBPβが結合できない塩基置換変異を導入した P670 リポーターは C/EBPβに対する応答性が減弱した。さらにクロマチン免疫沈降法により、C/EBPβがこの 2 ヶ所の部位に細胞内で結合することが分かった。C/EBPβは HPV ゲノムの P670 に直接結合し、分化特異的な転写調節に関わることが示された。(柊元 巌、神田忠仁)

(2) HPV16 型後期プロモーター（P670）制御因子の研究

P670 の活性制御に関わるシス因子を探索した。HPV16DNA の E1 遺伝子領域をルシフェラーゼ遺伝子に置換し、P670 からの転写をモニターするレポータープラスミドを作った。このプラスミドの P670 周辺領域の塩基を 20 塩基ずつ置換した変異体を作り、HeLa 細胞に導入して転写活性を比較した。2 つの領域では、変異によって転写活性が上昇した。この領域を標的とする抑制因子との結合が変異によって阻害され、抑制が解除されたと考えられた。結合領域の塩基配列から YY1 と CDP が抑制因子の候補となったが、ゲルシフト法で結合を調べると、YY1 は結合せず、CDP の結合が確認できた。CDP が P670 の周辺領域へ結合し P670 の活性を抑制していることが示唆された。（佐藤香央里、竹内隆正、神田忠仁）

(3) ヒト表皮角化細胞の分化時に誘導される転写因子の解析

HPV や AAV はヒト表皮角化細胞を宿主とし、その分化に伴って増殖する。その分子機構を知る基盤情報を得るため、初代ヒト表皮角化細胞の分化における遺伝子発現変動を調べた。リアルタイム PCR によって既知の分化マーカーの誘導を確認した上で、マイクロアレイを用いた mRNA 発現解析を行った。複数のマイクロアレイ解析で共通して変動が見られた遺伝子を選び、さらに蛋白質コード領域全長の PCR により発現亢進を確認し、リアルタイム PCR による定量を行った。表皮角化細胞の分化では、既に報告されている転写因子の他にも、複数の転写因子が誘導されることがわかった。これらの転写因子がウイルス遺伝子の発現に及ぼす影響を解析する。（竹内隆正、神田忠仁）

2. HPV ワクチン開発に関する研究

(1) 新たな中和エピトープに関する研究

HPV の L2 蛋白質（473 アミノ酸）の親水性領域に相当する複数の合成ペプチドをウサギに免疫し、得られた抗血清の感染阻害活性を調べた。アミノ酸 28-42 及び 64-81 領域に対する抗体は、ほぼ全ての発がん性 HPV 群のキャプシドに結合した。さらに、HPV16、18、58 型偽ウイルスを中和した。全ての発がん性 HPVL2 蛋白質のこの領域のアミノ酸配列は、極めて良く保存されている。これまでに見出した 108-120 領域に加え、これらのエピトープも、発がん性 HPV 群の感染を一括して予防できるワクチン抗原に応用できる。（近藤一成、神田忠仁）

(2)中和エピトープを含む領域の機能に関する研究

HPVL2 蛋白質のアミノ酸 64-81 領域に中和エピトープが存在することがわかったので、この領域に変異を導入した偽ウイルスを作製し、感染性の変化を調べた。69 番目のリジン及び 72 番目のチロシンをアラニンに置換した変異体(R69A 及び Y72A)の感染価は、野生型の 63、78%であった。この２つの変異を導入した R69A/Y72 の感染価は 53%に減少した。変異体のキャプシド構成とパッケージされたプラスミドの量、ヒト 293TT 細胞への吸着能は野生型と変わらなかった。従って、R69 および Y72 は細胞吸着後の感染経路で重要な役割を果たしていると推察される。中和抗体の結合はこの機能を阻害するらしい。
(石井克幸、近藤一成、越智寛幸、神田忠仁)

III. HIV に関する研究

1. HIV-1 薬剤耐性に関する研究

(1) HIV-1 薬剤耐性発現の分子機構

これまでに HIV-1 逆転写酵素（RT）に多剤耐性を与える変異セット（β3β4 ループの 11 アミノ酸挿入変異を含む）を同定した。これらの変異セットによる RT 機能の変化を精製 RT 標品の反応速度解析と RT 立体構造の計算科学解析により調べた。逆転写反応が進行する生理的環境下では耐性発現に必要な trans-acting 因子が存在すると考え、種々の細胞質因子を検討した結果、ヌクレオチド２リン酸とヌクレオチド３リン酸が多剤耐性変異と協調して酵素の高度耐性を誘導することを見出した。また、ATP は RT のアロステリック調節因子として基質選択性を調節する働きがあることを見出した。RT の立体構造モデルを統合計算化学システム（MOE）によって構築し、結合シミュレーションにより ATP 結合部位を予測した。（横山勝、守宏美、佐藤裕徳）

(2) 薬剤治療時における HIV-1 変異率変動の分子機構

多剤併用治療に用いられる種々の RT 阻害薬、RT の

薬剤耐性変異、並びに RT 阻害薬と耐性変異の組み合わせが、ウイルス複製時の変異頻度に与える影響を解析した。大部分の RT 阻害薬と耐性変異は変異率を昂進し、一部の耐性変異は変異率を低下させること、RT 阻害薬と耐性変異の組み合わせは概ね相加的効果をもつことを見出した。RT の分子モデルでは、dNTP は RT 活性中心ではなく、フィンガードメインのβ3β4 ループに最も安定に結合することが予測された。基質結合によりフィンガードメインの構造変化が誘導され、基質がより安定な活性中心に再配置されると推定される。個々の RT 阻害薬および薬剤耐性変異が基質の初期基質の初期結合および induced-fit による活性中心への転移過程に与える影響を、RT の立体構造モデルに基づき検討した。全ての実験結果は上述の induced-fit モデルで矛盾無く説明できた。(横山勝、佐藤裕徳、Louis M Mansky [University of Minnesota])

2. HIV-1 Env Gp41 変異による膜融合活性変化の分子機構に関する研究

HIV-1 の標的細胞への結合と膜融合には外被蛋白質 Env の Gp41 が関与する。膜融合阻害薬に対する耐性株では Gp41 の 36 番目のアミノ酸に変異が生じる。そこで、高融合活性株由来の Gp41 エクトドメイン３量体（G36；36 位アミノ酸がグリシン）および低融合活性のそれ（D36；36 位アミノ酸がアスパラギン酸）の分子モデルを構築した。D36 では、側鎖が相対する C ヘリックスに近接して、C ヘリックス上の複数の側鎖に囲まれた位置に配置し、アスパラギン酸側鎖が立体障害となって Gp41 の 6 ヘリックスバンドル形成が進まず、融合活性が低下するらしい。G3 では側鎖が短いため、C ヘリックスとの間に十分な距離を保つことができ、C ヘリックスの側鎖による囲いこみも無いと推定された。(横山勝、佐藤裕徳、木ノ本正信[感染病理]、徳永研三[感染病理])

IV. 異種移植の安全性に関する研究

ブタ内在性レトロウイルス（PERV）研究

移植用臓器の不足を補うために、ヒトと大きさが近いブタ臓器の利用が計画されている。実際に臨床応用されると、PERV もしくはその変異ウイルスによる感染症が生じる可能性がある。そこで PERV の検出と安全性研究の基盤整備を目的として、ブタ臓器から感染性 PERV の分離を試みた。移植用に開発中の遺伝子改変ブタの抹消血リンパ球と卵巣細胞をヒト細胞（HeLa および 293)、ミンク細胞（S+L-Mink)、ブタ細胞（PK15 および ST-IOWA）と 5-10 日間共培養した後、リンパ球と卵巣細胞を除去し、継代培養を２ケ月続けた。経時的に培養上清の Mn++依存性逆転写酵素活性を測定した。その結果、293 を除く全ての試料に酵素活性を検出した。活性はブタ細胞、S+L-Mink、HeLa の順で高く、共培養後約２月の間、同レベルで持続した。(佐藤裕徳、中村浩美、神田忠仁)

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Mori, S., Wang, L., Takeuchi, T., and Kanda, T.: Two novel adeno-associated viruses from cynomolgus monkey: pseudotyping characterization of capsid protein. Virology, 330:375-383,2004.

2) Enomoto, Y., Enomoto, K., Kitamura, T., and Kanda, T: The keratinocyte-specific POU transcription factor hSkn-1a represses the growth of cervical cancer cell Lines. Oncogene, 23:5014-5022, 2004.

3) Motomura K, Toyoda N, Oishi K, Sato H, Nagai S, Hashimoto SI, Tugume SB, Enzama R, Mugewa R, Mutuluuza CK, Mugyeyi P, Nagatake T, and Matsushima K. ：Identification of a host gene subset related to disease prognosis of HIV-1 infected individuals. Int Immunopharmacol. 4:1829-1836, 2004.

4) Kukimoto I, Elderkin S, Grimaldi M, Oelgeschlager T, Varga-Weisz PD. ： The histone-fold protein complex CHRAC-15/17 enhances nucleosome sliding and assembly mediated by ACF.
Molecular Cell,13, 265-277, 2004

2. 和文発表

1) 神田忠仁：ヒトパピローマウイルス。分子予防環境医学、p216-225，本の泉社。2004 年。

II. 学会発表

1) 神田忠仁:ヒトパピローマウイルス感染予防ワクチンの開発。第 14 回国立感染症研究所シンポジウム。(2004 年 5 月、東京)

2) 森清一郎、竹内隆正、神田忠仁:アデノ随伴ウイルス(AAV)9、10 型ゲノムの分離とベクターへの応用。第 52 回日本ウイルス学会総会(2004 年 11 月、横浜)

3) 近藤一成、石井克幸、神田忠仁: 高リスク HPV 群の感染を予防するワクチン抗原。第 52 回日本ウイルス学会総会(2004 年 11 月、横浜)

4) 徳永研三、木ノ本正信、横山勝、佐藤裕徳、倉田毅、佐多徹太郎:サブタイプ A/G 組換え型 HIV-1 ガーナ分離株のプロテアーゼ阻害剤に対する低感受性。第 52 回日本ウイルス学会総会(2004 年 11 月、横浜)

5) 木ノ本正信、横山　勝、佐藤裕徳、生田和良、佐多徹太郎、徳永研三:高融合活性を規定する Env 領域のアミノ酸の同定および機能・構造解析。第 52 回日本ウイルス学会総会(2004 年 11 月、横浜)

6) L. Myint, Y. Tomita, H. Sato, M. Nishizawa, M. Fujino, N. Yamamoto & W. Sugiura:Impairment of intracellular Gag transport and virion assembly in protease inhibitor resistant human immunodeficiency virus type 1. 第 52 回日本ウイルス学会総会(2004 年 11 月、横浜)

7)藤秀義、田中真理、宮内浩典、松田善衛、有吉紅也、星野忠次、佐藤裕徳、横幕能行:HIV-1 env の迅速なクローニング、発現および組み換えウイルス作成システム構築。第 52 回日本ウイルス学会総会(2004 年 11 月、横浜)

8) 横山勝、木ノ本正信、徳永研三、佐多徹太郎、長縄聡、北村勝彦、蜂谷敦子、岡慎一、服部知秀、田中真理、横幕能行、有吉紅也、星野忠次、仲宗根正、佐藤裕徳:計算科学の HIV-1 研究への適用に関する基礎研究。(第 18 回日本エイズ学会総会、2004 年 12 月、静岡)

9) 富田康浩、Wadchara Pumpradit、Nuanjun Wichukchinda、Panita Pathipvanich、Pathom Sawanpanyalert、草川茂、武部豊、巽正志、田中真理、横山勝、有吉紅也、佐藤裕徳:HIV-1 CRF01_AE R5 ウイルス株 NH2 に固有の抗体回避機構。(第 18 回日本エイズ学会総会、2004 年 12 月、静岡)

10) 長縄聡、富田康浩、横山勝、鈴木健之、白井輝、上田敦久、岳野光洋、武部豊、加藤佳代子、椎野禎一郎、杤久保修、石ヶ坪良明、北村勝彦、佐藤裕徳:HIV-1 CRF01_AE R5 ウイルス V3 配列に起因する抗体回避機構。(第 18 回日本エイズ学会総会、2004 年 12 月、静岡)

11) 藤秀義、田中真理、宮内浩典、松田善衛、星野忠次、有吉紅也、星野洪郎、佐藤裕徳、横幕能行:HIV-1 env クローンライブラリー作成の試み-HIV-1 env の迅速なクローニング、発現および組み換えウイルス作成システム構築。(第 18 回日本エイズ学会総会、2004 年 12 月、静岡)

12) 徳永研三、木ノ本正信、横山勝、佐藤裕徳、倉田毅、佐多徹太郎:「西アフリカ未治療患者由来 HIV-1 株のプロテアーゼ阻害剤に対する低感受性」。(第 27 回日本分子生物学会、2004 年 12 月、神戸

１６.遺伝子資源室

室長　橋本雄之

概　要

遺伝子資源室の主業務である遺伝子バンクでは 1984 年より対がん１０カ年総合戦略事業の一環として、主にがん遺伝子、染色体特異的 DNA マーカーや多型マーカーDNA 断片の収集を行い、1985-94 年の 10 年間で、延べ 5,000 人をこえる内外の研究者に 20,000 サンプル以上を供給してきた。そうした業務を担う国立感染症研究所遺伝子資源室は平成 17 年 4 月に大阪府彩都地区に発足する独立行政法人医薬基盤研究所に移転し、生物資源研究部遺伝子資源研究室として活動することになっている。

2004 年にヒトのゲノム配列がほぼ解読され､ヒトの個体が約 25,000 の遺伝子の働きで形成されることが判明した｡それを土台とした今後の医科学研究の方向として、個々の遺伝子の機能解明、ヒトの遺伝的多様性の解明、ヒトに近縁な非ヒト霊長類のゲノム情報の解読があげられ、それらを利用した疾病要因の解明と創薬への応用が大事な課題となると思われる。

ヒトはそれぞれ異なったゲノムを持っており、平均して約 0.1%の塩基配列の違いがある｡ヒトの遺伝的多様性は疾患原因遺伝子の解明、テーラーメイド医療などの目的に広く利用されている｡また､解析精度の向上により、一塩基多型（SNP）がこれまで用いられたマイクロサテライトなどの多型マーカーよりも重要な役割を占めるようになると予想される。当バンクでは移行後もこの方向性に沿って、遺伝的多型情報（SNP データ）を付加した DNA サンプル（クローン）の研究開発を行っていくことを予定している。

これまで，当バンクではカニクイザル（Macaca fascicularis）とチンパンジー（Pan troglodytes) の cDNA クローンを大量に開発・収集し、一部は解析して内外の研究者に供給してきた。ヒトとチンパンジーとは DNA レベルで約 1%、ヒトとカニクイザルとは 5-7%程度異なっており、ヒトとマウスとの違い（30-40%）に比べるとその差は小さく、チンパンジーとカニクイザルは非常にヒトに近い動物であるといえる。ヒトに近縁な類人猿は倫理的に実験動物として使うことは困難だが、カニクイザルは実験霊長類として使用が許可されており、これからの創薬研究にとって不可欠なモデル動物といえる。我々はこれまでに約 70,000 個の cDNA クローンをカニクイザルの脳・精巣から、またチンパンジーの皮膚材料として、約 2,000 個の cDNA クローンを作製し、これらを保存・分譲できる体制を整えてきた。

ヒトゲノムにコードされている約 25,000 個の遺伝子のうち、疾患の原因もしくは発症に関係することが明らかにされている遺伝子は約 1,500-2,000 個ある。疾患研究の基盤を整備する目的でこれらの遺伝子の完全長 cDNA を収集すると同時に、ヒト疾患遺伝子に対応するカニクイザル cDNA も上記コレクションから集めて、疾患遺伝子バンクを構築し、両者の配列を比較することで疾患の起源を推定することを行ってきた。また、疾患遺伝子の機能を解明するために完全長ｃDNA を発現ベクターに組み込み、大腸菌や哺乳動物で疾患遺伝子タンパク質を大量に作らせ、疾患の発症機構や予防医学の研究に活用することを基盤研での活動として行う準備をしてきた。それらをセットとして利用することにより疾病の診断・治療が可能になることが期待される。

(通常経費以外に交付された研究費)

HS 財団科学研究費補助金、エイズ医薬品等開発研究「HIV 由来 nef タンパク質の細胞形質転換作用を抑制する新規な AIDS 脳症抑制剤の開発」分担(亀岡)

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業)「サル完全長 cDNA の配列決定とヒト遺伝子との比較解析および配列情報に基づくcDNAアレイ作製と応用に関する研究　」主任、橋本

業　績

調査・研究

１．遺伝子バンクとしての遺伝子育成・維持、供給業務

これまでに分離した約７万クローンの５’端配列を元に、ヒト参照(RefSeq)遺伝子配列に対してホモロジー検索を行い、45,000 クローンがヒト参照遺伝子の 8,200 種に対応することを明らかにした。それらの全長配列を決めることを台湾アカデミアシニカのグループと共同で進め、脳由来約 5,000、精巣由来約 2,000 の全長配列を決定し、公共データベースに登録した。ヒトとの配列比較解析を行った結果、脳で発現している遺伝子約 2,000 についてみると、他の組織の値と比べて、Ks（同義置換率）はほぼ６％と同じなのに対し、Ka（非同義置換率）は脳で１％と他組織に比べて 1/2 になっていることが分かった。脳では平均的に遺伝子の変化が少なくなっているとみられる。ヒト相同遺伝子をもつカニクイザル cDNA について、その 5'UTR を比較すると、配列がアラインできないような領域が存在し、その領域の相同配列はヒトゲノム配列には存在するが、通常のヒト転写物にみられなかった。そうしたエキソン領域をスタートエキソンとするなどの変化型 5'UTR が精巣 cDNA では２７％の割合で存在したが、脳由来 cDNA では１４％でそれほど高くなかった。ヒトやチンパンジーの精巣転写物にはそのような高率で変化型が見られないので、カニクイザル精巣特有のことと思われ、遺伝子発現の差を調べるよい材料になる。

疾患遺伝子の機能と霊長類の進化との関係を知るため、アミノ酸置換と発症との関係が明白な 1300 個のヒト疾患関連遺伝子に相補性をもつ 309 個のカニクイザル遺伝子 cDNA を全長配列決定遺伝子コレクションから選別した。このなかで、ヒトでは病因となるアミノ酸置換がカニクイザル遺伝子の正常配列となる例が９遺伝子で 11 カ所に認められ、これらは発症機構の解明に役立つものと思われる。

[橋本雄之、楠田　潤、高橋一朗、亀岡洋祐、長田直樹、田沼玲子、平田 誠]

2.カニクイザル完全長 cDNA とヒト相同遺伝子との塩基配列比較による、5’非翻訳領域の進化解析

ヒトゲノム配列が解読された現在、ヒトゲノムの機能解析・疾病研究は、単なるタンパク質コード配列に注目するだけでなく、遺伝子発現ネットワークを含めた発展的研究が必要だと考えられる。これに着目し、遺伝子発現に関係すると思われる 5’非翻訳領域が進化上どのように形作られてきたかについて解析を行った。302 のカニクイザル脳由来 cDNA、622 の精巣由来 cDNA をヒト相同配列と比較した。その結果、5’非翻訳領域には、タンパク質をコードしている翻訳領域と同様に、正の淘汰・負の淘汰の両方の選択圧がかかっていることが示された。また、塩基配列の置換パターンだけでなく、5’非翻訳領域でのイントロン-エキソン構造のヒト-サル間の違いというものも多く発見され、これらがヒトの生物学的特異性に大きく寄与していることが推測された。

[長田直樹、楠田　潤、田沼玲子、平田　誠、橋本雄之]

3. 非ヒト霊長類におけるヒト疾患遺伝子ホモログの網羅的解析

ヒト疾患の原因遺伝子がどのように進化してきたかを知るため、Human Gene Mutation Data Base(HGMD)に登録されている 1351 個の疾患遺伝子に相補的なカニクイザルおよびチンパンジー遺伝子を収集し、ヒトや他の哺乳類の相補遺伝子と比較解析した。約 7,000 個のカニクイザル完全長cDNA配列および公開されているチンパンジーゲノム配列中にはそれぞれ294個及び621個の疾患遺伝子ホモログが見いだされた。そのうち，ヒトの病因となるアミノ酸置換をもつものがカニクイザルで 9 遺伝子（11 アミノ酸置換）、チンパンジーで 27 遺伝子（33 アミノ酸置換）みつかった。これらのアミノ酸置換の約 58%はカニクイザル、チンパンジーとも疾病型をもっており、チンパンジーからヒトに進化する過程でヒト正常配列が獲得され、ヒトへの進化に貢献したことが予想される。

[楠田　潤、長田直樹、田沼玲子、平田　誠、橋本雄之]

4. 単鎖の核酸の挙動を追跡する試み

細胞内で、non-coding RNA の挙動を調べるため、タンパクに FLAG タグ、HA タグをつけるように、単鎖の核酸にタンパクを認識するタグ-アプタマーをつけることを検討した。 このアプタマー配列としては、GST タンパクを認識するもの、ストレプトアビジンタンパクを

認識するものなどが知られている。単鎖の核酸の３次構造に関しては、tRNA の構造以外あまり知られていない。そこで、今回は、単鎖の核酸として Xist RNA の一部を用い 5’側あるいは 3’側にアプタマー配列を挿入したプラスミドを構築し、T7 プロモーターで RNA に転写するように組み込んだ。結果は、この系では、ストレプトアビジンビーズに結合する RNA は得られなかった。これは、Xist RNA の３次構造により、5’側、3’側のアプタマーが、タンパク質を認識できなかったことと思われる。

[高橋一朗、橋本雄之]

5. MPO リーダーペプチド内の多型と炎症性疾患との関連

ミエロペルオキシダーゼ（MPO）は好中球の殺菌・殺ウイルス作用を担い、炎症反応で重要な役割を果たしている。MPO コード領域に Val53Phe（V53F）の変異があり、頻度は Phe 型がほぼ 0.112 と推定される。この変異は成熟 MPO には影響せず、成熟過程に影響する可能性がある。炎症性疾患としてリウマチ、MPO-ANCA 関連腎炎、C 型肝炎と健常対照での変異頻度の解析を行った。53F の出現頻度は C 型肝炎で 9.9%と対照 9.6%と差はなかった。リウマチ群全体では 10.7%であったが、病状進行度Ⅲ、Ⅳでは 12.5%で、Ⅰ、Ⅱでは平均 7.5%と重症例で増加するが有意の差ではない。MPO-ANCA 関連腎炎群では 53F 保持率は 38.5%と高く、アレル頻度は 0.205 を示し、有意ではないが関連が示唆された。

[亀岡洋祐、伊東玲子、笠間　毅（昭和大・医）、鈴木哲朗（ウイルス２）、猪原登志子（京大・院医）、武曾恵理（北野病院）、橋本雄之、鈴木和男（生物活性物質）]

6. Drosophila melanogaster マイクロアレイを利用した cis 制御による遺伝子発現多型の研究

遺伝子発現のパターンが個体間・種間で異なるということはこれまでの研究で良くわかっているが、その遺伝子発現の違いの原因である突然変異が、発現量の違いがある遺伝子近傍の発現調節因子上にあるか（cis 制御）、またはその遺伝子の発現を制御する別の遺伝子上にあるのか（trans 制御）について区別することは難しかった。この問題を明らかにするために、Z30 と Fr という二つの系統を用い、各染色体を別の系統で置き換えた Drosophila melanogaster について遺伝子発現量の違いと染色体の遺伝子型との相関を見た。その結果、遺伝子発現量の違いは主にその遺伝子が乗っている染色体の遺伝子型により決定されている（cis 制御されている）ことがわかった。

[長田直樹、Michael Kohn（Rice 大）、Chung-I Wu（シカゴ大）]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1.欧文発表

1)Osada,N., Hirata, M., Tanuma, R.,Kusuda,J., Hida, M., Suzuki, Y,.Sugano,S., Gojobori,T., Shen, C.-K. J., Wu, C.-I., Hashimoto, K.: Substitution rate and structural divergence of 5’UTR evolution: Comparative analysis between human and cynomolgus monkey cDNAs.
Mol. Biol. Evol. 22(10):1976-1982(2005)

2）Osada, N., Wu, C.-I.: Inferring the mode of speciation from the genomic data: A study of the great apes.
Genetics 169(1): 259-264 (2005).

3)Imanishi, T., et al (Hashimoto, K.): Integrative annotation of 21,037 human genes validated by full-length cDNA clones. PLoS Biol 2(6): e162(2004)

4) Oharaseki T, Kameoka Y, Kura F, Persad AS, Suzuki K, Naoe S.:Susceptibility loci to coronary arteritis in animal model of Kawasaki disease induced with Candida albicans-derived substances.
Microbiol Immunol. 49(2):181-189(2005).

5) Kameoka Y, Persad AS, Suzuki K.: Genomic variations in myeloperoxidase gene in the Japanese population.
Jpn J Infect Dis. 57(5):S12-13(2004).

6) Sugiyama H, Morishima Y, Kameoka Y, Arakawa K, Kawanaka M.: Paragonimus ohirai metacercariae in crabs collected along the Arakawa River in Tokyo, Japan.
J Vet Med Sci. 66(8):927-931(2004).

II. 学会発表

1. 国際学会

１）Naoki Osada, Makoto Hirata, Jun Kusuda, Reiko Tanuma, Katsuyuki Hashimoto:
Rate and pattern of 5' UTR evolution: comparative analysis between human and cynomolgus monkey.
International Workshop on Encoding Information in DNA Sequences, Okinawa, Feburary 2005.

2) Yosuke Kameoka, Genomic Variations in Myelo-peroxidase Gene in a Japanese Population.
4th International Peroxidase Meeting,
Kyoto, Japan, October 27-30, 2004

3) Yosuke Kameoka, Reiko Itoh, Tsuyoshi Kasama, Tetsuro Suzuki, Toshiko Ito-Ihara, Eri Muso and Kazuo Suzuki, A polymorphism on myeloperoxidase coding region and severity of inflammation.
4th International Peroxidase Meeting,
Kyoto, Japan, October 27-30, 2004

2. 国内学会

1) 坂手龍一，今西 規，平井百樹，橋本雄之，五條堀孝：ヒトとチンパンジーの cDNA 配列の比較解析から探るヒト遺伝子の進化
日本遺伝学会第 76 回 大会、吹田、2004 年 9 月

2) 長田 直樹, Kohn Mickael, Greenberg Anthony, Shapiro Joshua, Wu Chung-I:
Gene expression of Drosophila melanogaster head with sexual isolation - cis-associated difference and pattern of sex, virginity and genotype.
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸、2004 年 12 月

3) 高橋一朗、橋本雄之：
Xist RNA の反復配列に結合する蛋白の screening
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸、2004 年 12 月

4) 橋本雄之、長田直樹, 平田 誠、田沼玲子、楠田潤：カニクイザル精巣cDNAとヒト相同遺伝子との配列比較 -28%の 5'UTR に変化
第２７回日本分子生物学会年会、神戸、2004 年 12 月

5)楠田 潤、長田直樹、田沼玲子、平田 誠、平井百樹、橋本雄之：
神経疾患遺伝子の霊長類ホモログに関する研究
第２７回日本分子生物学会年会、神戸、2004 年 12 月

6) 亀岡洋祐、伊東玲子、笠間 毅、鈴木哲朗、猪原登志子、武曾恵理、橋本雄之、鈴木和男：ミエロペルオキシダーゼのリーダーペプチド内の多型と炎症性疾患との関連
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸 2004 年 12 月

7) 伊東玲子、亀岡洋祐、Persad Amanda、池田文恵、仁保善之、橋本雄之、鈴木和男：マロリーワイズ症候群患者で観察されたミエロペルオキシダーゼ欠損を起こす遺伝子変異
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸、 2004 年 12 月

8) 三川浩輝，亀岡洋祐，三浦典子，大野尚仁，鈴木和男：cDNA マイクロアレイ解析による血管炎に関与する炎症性分子の遺伝子発現
第 27 回日本分子生物学会年会、神戸、2004 年 12 月

9）三川浩輝、亀岡洋祐、 三浦典子、大野尚仁、鈴木和男：cDNA マイクロアレイによる血管炎惹起物質 C. albicans 由来菌体外多糖 CAWS 投与による脾細胞に発現する遺伝子解析
第 34 回日本免疫学会総会・学術集会、札幌、2004 年 12 月

17.バイオセーフティ管理室

室長　杉山和良

概　要

バイオセーフティ管理室は、感染研全体にわたる病原体等の安全な取り扱いに関する管理業務および共同利用施設であるバイオセーフティレベル（BSL）3 と 4 の実験室（指定実験室）の一元的な管理･運営を行っている。病原体等の安全管理に関わるバイオセーフティについての研究およびバイオセーフティについての教育・訓練並びにバイオセーフティについての情報収集・提供を行っている。

病原体等安全管理規程に基づく、病原体等の取り扱いと保有、移動についての手続きの点検と記録管理を行った。BSL2 実験室は各部長の指揮監督のもとに管理運営されているが、BSL2 実験室安全キャビネット定期点検プログラムの実施、病原体等の取扱い者の健康管理および血清保存等､所全体に関わる管理業務を行った｡また、特定病原体(HIV)取扱い者に対する抗体測定を行った。病原体の分与にあたっては、不適切な使用を防ぐため、分与先の管理体制、施設設備の状況などをより確実に把握するために病原体等安全管理規程の一部改正を行い、「病原体等の分与等に関する取扱要領」を規定した。また､BSL 分類表へ新たに掲載する病原体の検討およびウイルスの表記変更に関する作業を行った。感染研で取り扱っている全ての病原体について、事故時に取るべき対応措置、連絡する所内医師のリスト等を盛り込んだ､「病原体等曝露事故応急対応マニュアル」の作成を行った。

病原体取扱者へ感染のリスク、優良な微生物取扱い技術、安全管理に関する規則を熟知させることは感染事故を防ぐ上に必須である。新規に病原体等を取扱う者に対しては２ヶ月毎に､バイオセーフティ講習会を実施した。さらに、新規の BSL3 実験室利用者へは利用者講習を実施した。その他、緊急時対応についてのバイオセーフティ教育・訓練を実施するなど、病原体等の安全管理業務の充実をはかった。

施設整備に関しては、2003 年 1 月 24 日より運用を開始した村山庁舎 6 号棟の BSL3 実験室の２回目の年次総合点検を 11 月に実施した。他の指定実験室についても通常の年次点検を実施した。筑波支所においては BSL3 実験室サルケージの大型ケージ・アイソレーターへの取換えにともなう管理区内実験室の改修作業を完了し、2005 年 2 月 28 日より運用を開始した。村山庁舎新 3 号棟に BSL3 実験室が １室設置され、16 年度末までに完成したが運用は 17 年度以降の予定である。

研究業務としては、バイオハザード対策用の防護服の性能に関する研究、消毒剤によるインフルエンザウイルスの不活化に関する研究、アデノウイルスおよびノロウイルスの代替としてネコカリシウイルスを用いた塩素感受性に関する研究および感染性物質輸送についての調査研究を行った。

第 47 回米国バイオセーフティ学会総会に出席し、BSL3 実験室内の安全キャビネットの空調コントロール等に関わる研究成果を発表するとともにバイオセーフティについての最新情報の収集を行った。また、本学会の期間中に開催された国際バイオセーフティワーキンググループの会議に日本からのメンバーとして参加し、バイオセーフティ管理者の資格について等の諸問題について討議した。

バイオセーフティ管理室のホームページには、引き続き、病原体等取扱申請方法、バイオセーフティ講習会の年間予定とプログラム案内、病原体等安全管理規程、バイオセーフティ関連学会等の日程および日本バイオセーフティ学会活動などを掲載し情報の提供を行った。

人事では 16 年 10 月 1 日付けで富田康浩氏が研究官として着任し、施設の安全管理および感染性物質輸送等の調査研究業務に従事した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．バイオセーフティに関する研究

１．安全キャビネットの給排気量の検証

安全キャビネットの給排気量変動を検証中である。実験室内の圧力変動や並列接続された他の安全キャビネットの発停の影響などを長期間観察中である。

（篠原克明、深見　哲、大久保孝雄）

２．バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する研究

バイオハザード対策専用防護服の防護性能について、実証試験を行っている。試験方法について、国内外の規格や文献並びに海外を含めた関連学会、施設・設備などの調査を行っている。さらに、防護服の血液浸透防護性能や浮遊微生物の浸透防護性能を検証するための装置を開発した。その装置を用いて各防護服素材のデータを収集中であるが、各素材により防護性能に大幅な相違があることが判明した。

（篠原克明、渡邉道彦、小野澤哲夫、高木弘隆、杉山和良）

３．Norovirus の代替として Feline calicivirus を用いた塩素感受性差と消毒方法の検討

Norovirus の代替 virus として FCV ワクチン株(F9)と臨床株 9 株における NaClO 感受性(～450ppm)について検討したところ、200ppm･10 分の反応で、高感受性 5 株(4log 以上減少)、中程度感受性 3 株(2～4log 減少)、低感受性 2 株(2log 未満)となった。このうち低感受性及び中程度感受性から 4 株を選び、42℃感受性とエタノール感受性(反応 15 秒)を比較したところ、42℃処理では 120 分で概ね 2log 未満の減少となり、エタノールに対しては F9 以外有効な消毒効果は認められなかった。またこれらの結果により、Norovirus においても同様の現象が予想され、今後感染防止対策などのあり方を再考する必要性が示唆された（高木弘隆、富田康浩、篠原克明、杉山和良)。

４．カチオン系界面活性剤に対する Influenza virus 株間の感受性についての検討

Influenza virus について、アニオン系界面活性剤に対する感受性については株間差が存在することを昨年すでに報告したが、今回消毒で用いられるカチオン系界面活性剤について検討した。塩化ﾍﾞﾝｻﾞﾙｺﾆｳﾑ(BZC)、塩化ﾍﾞﾝｾﾞﾄﾆｳﾑ(BZN)、塩化ｼﾞﾃﾞｼﾙｼﾞﾒﾁﾙｱﾝﾓﾆｳﾑ(DDAC)及びｸﾞﾙｺﾝ酸ｸﾛﾙﾍｷｼｼﾞﾝ(CHG)という主要 4 種類の界面活性剤に対し、Influenza A/H1, A/H3, 及び B virus をそれぞれ 3 株ずつ計 9 株による感受性を調べたところ、BZN>DDAC>BZC>CHG の順で感受性が高く、BZC は Influenza B virus のみには不活性化効果が期待できるものの、CHG は 9 株全てで不活性化効果は期待できない結果となった（高木弘隆、富田康浩、篠原克明、杉山和良(ﾊﾞｲｵ)、西藤岳彦(動衛研)、二宮愛、今井正樹、小田切孝人(ｳ 3)）。

５．Adenovirus type3 株間による塩素感受性と感染防止対策としての消毒方法の検討

「プール熱」の主要感染因子とされる Adenovirus type3(ADV3)の消毒については ATCC 保有 GB3 株のみを用いた数例の報告があるのみで、感染経路の実態とﾌﾟｰﾙなどの水系感染対策が機能しているかは不明であり、ADV3 の塩素感受性についても株間差などはよくわかっていない。そこで GB3 株を含め臨床分離株を用いた塩素感受性とその他数種の薬剤による不活性化効果を試みた。塩素感受性については約 500ppm の NaClO を用いても 1 分間では完全に不活性化されず、これは初発ウイルス量非依存的であり、臨床分離株において感受性差が認められた。また GB3 を用いてエタノール、石鹸素地、ラウリン酸 K による不活性化を検討したところ、エタノール(反応 15 秒)では 90～40%、ラウリン酸 K(反応 2 分)では 0.1%以上で、3log10 TCID50 以上の減少が認められたが、石鹸素地では 0.2%でも感染価の減少は認められなかった(高木弘隆、杉山和良(ﾊﾞｲｵ)、桑山勝、宮崎佳都夫(広島保環ｾ)、重松美加、谷口清洲(情ｾ))。

６．感染性物質輸送に関する国際規則の大幅な改正に伴う情報の収集及び提供

本年、危険物輸送に関する国連勧告第 13 版において感染性物質輸送に関する項目が大幅に変更され、この改正に基づき国内航空法のひな形である ICAO Technical Instruction 及び荷送人が遵守すべき規則である IATA Dangerous Goods Regulations の内容も同様に変更された。

ICAO TI の改正に伴い国内航空法の改正も準備されているなか、我が国には上記規則に準拠した包装容器が存在しない、輸送手段が確立されていない等種々の問題点を抱えている。

一方で、IATA DGR にある「荷送人の責任」には、荷送人は IATA 公認の教育訓練を受けていることが義務付けられている。そこで、上記問題点に取り組む足がかりとして IATA 公認の航空危険物輸送全般の教育訓練を受講及び受験し航空危険物荷送資格を取得した。現在、国内関連省庁及び機関関係者との連携を深め、上記問題解決に取り組んでいる。

（富田康浩、杉山和良）

国際協力関係業務

１．WHO によるベトナムでのバイオセーフティ指導

WHO 西太平洋地区事務所の依頼により、ベトナム国立健康疫学研究所（NIHE）における初めてのバイオセーフティ講習を行った。講義と安全キャビネットおよび消毒に関する実習を含む５日間コースで実施した。ＢＳＬ３対応の実験室およびＢＳＬ２実験室の一部についての立入調査を実施し指導を行った。

２．台湾の SARS 実験室発生にともなうバイオセーフティの強化

2003 年 12 月に台湾で発生した SARS コロナウイルスによる実験室感染にともない、15 年度に台湾の BSL3,4 実験施設 8 ヶ所について立ち入り調査を台湾 CDC と協力して行った。16 年度は、フォローアップおよび新規施設の立入調査を実施し指導を行った。台湾 CDC の認定を受けたのちに BSL3 実験施設を稼働するように規制がなされていた。

研修業務

Ⅰ．バイオセーフティ講習会

新規受講者を対象としたバイオセーフティ講習会は年間予定に従い 2 ヶ月に一度、6 回実施した。また、外国人を対象としたバイオセーフティ講習会は随時行い、10 回開催した。16 年度から感染病理部、佐多徹太郎部長がバイオセーフティ委員長を務め、バイオセーフティ講習会で「バイオセーフティの考え方」について講演した。新規受講者講習会に引き続き試験を導入し講習の教育効果を高めるように努めた。また、バイオセーフティの実践として、「安全キャビネットの使い方」、「汎用消毒薬の基本と使い方」に加えて今年度から「病原体の輸送について」の項目を設け、安全キャビネットの正しい使用法、消毒剤の適切な使い方および病原体の輸送について指導を行った。

外国人研修生対象として、感染研エイズ国際研修、ポリオ国際研修およびハンセン病国際研修時にバイオセーフティについての講義を行った。

１．バイオセーフティ講習会受講者数

1) 平成 16 年度新規取扱者等対象講習会

実 施 年 月 日	受講者数
平成 16 年 4 月　5 日	71
6 月　2 日	53
8 月　2 日	46
10 月　5 日	33
12 月　1 日	44
平成 17 年 2 月　1 日	26
計	273

2) 平成 16 年度 外国人対象講習会

実 施 日	受講者数
平成 16 年 4 月　14 日	2
5 月　17 日	4
7 月　2 日	1
7 月　7 日	2
7 月　22 日	1
8 月　10 日	1
9 月　30 日	1
11 月　5 日	1
12 月　8 日	1
12 月　22 日	1
計	15

その他

１．指定実験室の管理・運営および利用状況

BSL3 と 4 の実験室（指定実験室）の一元的な管理・

運営を行った。戸山庁舎においては高木弘隆、富田康浩研究官および藤井弘毅､千葉裕子非常勤職員が担当した。村山分室においては篠原克明主任研究官および山口安子、甲原照子、佐藤真弓非常勤職員が担当した。筑波支所においてはバイオセーフティ管理室併任の明里宏文主任研究官が管理・運営を担当した。引き続き、各庁舎指定実験室の日常の管理・運営、施設管理技術者との作業調整と監督、施設の定期総合点検の計画立案と実施および指定実験室利用者に対する講習等の教育指導等を行った。

指定実験室の利用登録者と指定実験室利用者講習受講者を表に示した。

1) 平成 16 年度 指定実験室（BSL3）登録者数

庁　舎　名	登録者数
戸山庁舎	120
村山分室	52
筑波医学実験用霊長類センター	52
計	224

2) 平成 16 年度 利用者講習会月別受講者数

庁舎名 / 実施月	戸山		村山		筑波	
	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数
4 月	7	14	2	3	0	0
5 月	2	5	3	6	0	0
6 月	0	0	1	1	1	1
7 月	2	6	3	3	0	0
8 月	3	4	0	0	0	0
9 月	3	6	1	1	0	0
10 月	0	0	3	3	1	5
11 月	3	3	2	2	0	0
12 月	0	0	0	0	0	0
1 月	2	5	0	0	0	0
2 月	1	1	0	0	0	0
3 月	0	0	1	1	0	0
計	23	44	16	20	2	6

２．バイオセーフティ教育と情報提供

バイオセーフティ教育の一環として、大学、民間等の各種機関でバイオセーフティに関わる業務関係者を対象とした講義を行った。感染研が受け入れている保健医療科学院および国際協力事業団(JICA)からの研修生に対し、バイオセーフティについての講義を行った。結核研究所における外国人研修時にバイオセーフティについての講義も引き続き行った。

外部機関から病原体等安全管理規程についての問い合わせや分与依頼、病原体のバイオセーフティレベル分けや実験施設・設備、各種病原体についての消毒法、BSL3 の管理運営法、バイオセーフティ委員会、バイオセーフティシステム構築等についての問い合わせが引き続き多数寄せられ、これらについて資料・情報提供を行った。また、施設見学の受け入れと、これら見学者に対してバイオセーフティについての解説も多数行った。

病原体等の取扱いにおける安全管理運営、安全装置および実験施設設計等のバイオセーフティに関する学術研究の推進並びにバイオセーフティの普及を図り、バイオセーフティの向上発展に寄与することを目的として、2002 年 1 月 19 日に設立された日本バイオセーフティ学会に参加し、2004 年 11 月に行われた第４回総会・学術集会の運営にたずさわった。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1）Kazuo O., Masahiro S., Tomohiro K., Kiyoko A., Tadayoshi T., Masataka K.,Yashuko T-Y., Masanmichi O., Kiichi Y., Naomi T., Shu-ichi H., Manabu A., Hideki F., Yoshimasa T., Shigeru M., Koji I., Tetsutaro S., Hirotaka T., Shigeyuki I., Takato O., Tatsuo M., Ichiro K., Takeshi K., Hiroshi Y., Toshitada T., Immunological Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus by Monoclonal Antibodies Jpn. J. Infect. Dis., 58, 88-94, 2005

２．和文発表

1) 杉山和良：SARS の実験室感染とその対策 感染症と化学療法 Vol.7, No.6, 37-40, 2004

2) 杉山和良:医学研究におけるバイオセーフティとバイオセキュリティ Mebio 22(6), 73-80, 2005

3) 篠原克明:バイオハザード対策設備における防護服について． セイフティ・ダイジェスト． （Safety & Health Digest）Vol.50. No.8. 31-35. 2004. 8 月． 社団法人 日本保安用品協会（JSAA）.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Shinohara, K., Okubo, T., Kogure, K., Yamanaka, Y., Matsuazaki, K., Uezono, M., Koba, Y., Miura, Y., Sekiguchi, K., Takagi, H., Sugiyama, K. and Kitabayashi, A. Performance of new BSC control system in BSL3 laboratory. American Biological Safety Association, 47th Annual Biological Safety Conference, October 18-20, 2004, San Antonio, USA.

2) Shinohara, K., Takagi, H., Sugiyama, K. and Kurata, T. New BSL-3 laboratory in NIID Japan. American Biological Safety Association, 47th Annual Biological Safety Conference, October 18-20, 2004, San Antonio, USA.

3) Hirotaka T., Ysuhiro T., Katsuaki S., Shinji A., Kazuyoshi S., Decontamination by chemical disinfectants and safety method of genome isolation for B.anthracis spores
ABSA the 48th Annual Biological Safety Conference, Oct.23-26,2005 Vancouver, Canada

２．国内学会

1) 篠原克明、関口勝美、鈴田博健、北林厚生、小暮一俊、山中祐二、大久保孝雄、杉山和良、高木弘隆：生物学用安全キャビネット流入開口部風速の経時変化（その 2)。第 22 回空気清浄とコンタミネーションコントロール大会、2004 年 4 月、東京

2) 山崎省二、高鳥浩介、狩野文雄、横地明、篠原克明、木ノ本雅通、池田耕一：クリーンルームの微生物汚染評価。第 22 回空気清浄とコンタミネーションコントロール大会、2004 年 4 月、東京

3) 高木弘隆、篠原克明、杉山和良：汎用洗剤中の各種界面活性剤によるウイルス不活化効果について。日本防菌防黴学会　第 31 回年次大会、2004 年 5 月、東京

4) 篠原克明：バイオハザード対策と個人曝露防止用防護服。
第 4 回日本バイオセーフティ学会総会・学術総会、2004 年、11 月、横浜

5) 篠原克明、高木弘隆、富田康浩、杉山和良、明星敏彦：バイオハザード対策用防護服素材の液体浸透防護性能の検証。第 2 回防護服研究会学術総会、2005 年 2 月、東京

6) 高木弘隆、篠原克明、杉山和良：各種界面活性剤によるウイルス不活性化効果に関する一考。　第 4 回　日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2004 年 11 月、横浜

7) 前田秋彦、前田潤子、高木弘隆、荻野倫子、倉根一郎、堀内基広：無血清培養 VeroE6 細胞でのウエストナイルウイルスの増殖。日本ウイルス学会　第 52 回学術集会、2005 年 11 月、横浜

8) 高木弘隆、西藤岳彦、富田康浩、篠原克明、杉山和良：Influenza virus 株間における cation 系界面活性剤の感受性について。日本防菌防黴学会　第 32 回年次大会、2005 年 5 月、大阪

9) 高木弘隆、富田康浩、篠原克明、杉山和良：Norovirus の代用としての Filine calisivirus における塩素感受性について。 日本防菌防黴学会　第 32 回年次大会、2005 年 5 月、大阪

10) 高木弘隆：バイオセーフティと消毒　－実験室から一般社会まで－。　ウォーター研究会総会　第 34 回セミナー、2005 年 6 月、東京

18.放射能管理室

室長　前川秀彰

概　要

放射性同位元素等の安全取り扱いに常々取り組んでおり、今年度も特に問題はなかった。職員各位の一層の注意を望む。来年度の法改正に向けて開催される講習会に参加し対応策を検討している。10 月に文科省の立入検査があった。指摘事項はあったがおおむね良好との判定であった。講習会は下表の通り新規(６回)、外国語(３回)及び継続（５回）に分けてそれぞれ実施された。受講者は新規日本語１２３名、外国語３名、継続３８６名であった。新規受講者に対する試験は全員１回で合格した。継続者について、今年度は低線量放射線の影響について土田、文科省の通達・通知を元に安全行政の動向、事故、安全取り扱いについて前川が講習した。放射能管理室併任に引き続き独法国立健康栄養研江崎部長がなり、村山分室の主任者は、ウイルス第 2 部の武田室長にお願いした。村山分室管理室業務補佐として引き続き菅原氏が在籍した。日大の及川氏、佐藤氏が退所し、信州大大学院に進学した及川氏が引き続き在籍した。新たに日大の中島氏が年度末から在籍した。前川が放射線安全功労者として文部科学大臣より表彰された。昨年に引き続きそれぞれの研究が進められ以下の成果が得られた。

Ⅰ．放射性同位元素使用状況

１．戸山研究庁舎

（健康栄養研・保健医療科学院分も含む）

（単位　kBq）

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	572300	982200	934500
^{14}C	118311	108957	98620
^{32}P	2250250	3524250	4444350
^{33}P	0	0	0
^{35}S	634250	1517000	1698750
^{51}Cr	37000	296000	314500
^{125}I	82140	85470	12210

保管量合計１群換算 34133.648kBq

２．村山分室

（単位　kBq）

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	120115	64750	107077
^{14}C	6981	11100	14014
^{32}P	48850	397750	401090
^{33}P	6950	55500	53200
^{35}S	240500	2077500	2225500
^{51}Cr	0	0	0
^{125}I	0	0	0

保管量合計１群換算　1554kBq

Ⅱ．従事者登録数

１．戸山庁舎　　381 名

(健康栄養研、保健医療科学院分も含む)

２．村山分室　　106 名

Ⅲ. 講習会受講者数

１．通常講習会

日時	受講者数	備考
平成16年 4月 7日	46	新規
5月11日	┐	継続
5月12日	┘ 289	継続
5月14日	81	継続（村山）
6月 4日	11	継続
6月 4日	24	新規
6月 8日	5	継続（村山）
8月 3日	19	新規
10月 4日	11	新規
12月 3日	9	新規
平成17年 2月 4日	14	新規
合計	509	

(健康栄養研、保健医療科学院を含む)

２．外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成16年 4月2日	1	新規
12月2日	1	新規
平成17年 3月1日	1	新規
合計	3	

業　績

調査・研究

放射性同位元素等を使用した生物学利用の研究

Ⅰ．新たな導入ベクターに関する研究

１．遺伝子導入系の開発

新たな遺伝子治療ベクターに利用できることを前提にレトロトランスポゾン及びレトロポゾンを使った導入系を開発し解析している。

（１）RNA 介在型転位因子様配列の挿入機構の解析。非 LTR 型レトロトランスポゾン BMC1 の ORF1、および ORF2 を持ったクローンを作成したが、再度バキュロウイルスとの組換ウイルスを作成中である。

［藤本、松浦（阪大微研)、武田（ウイルス２部)、土田、高田、前川］

（２）転移因子マリナー様配列の水平伝播ついての考察

沖縄を含む日本の昆虫(鱗翅目、鞘翅目)、珊瑚などに存在するマリナー様配列の中で同じ逆位繰変えし配列を持つグループを比較することで地理的移動を解析できることが示唆できた。この方法を使えば媒介昆虫の移動の追跡に応用できる可能性がある。

［中島（琉球大)、藤本、高田、土田、前川］

II.　放射線感受性部位の高次構造の解析

１．放射線によるＤＮＡ二本鎖切断検出のための PCR 法の利用

プラスミド pBR322 をモデルにして PCR 法による DNA 二本鎖切断検出法を開発した。閉環状構造を持つプラスミドは照射により PCR による増幅度が 200～300%も上昇することが明らかになっている。照射線量の設定を細かく 5～10Gy 幅で照射を行った。フィットポイント法とセカンドデリバティブ法のどちらが適切か検討した結果、セカンドデリバティブ法の方が適切であると判断した。　シミュレーション計算のパラメーターと実験結果のすり合わせを一部行っている。　［及川（信大)、藤本、斎藤（原研東海)、渡辺（原研東海)、土田、高田、中垣（信大)、前川］

２．放射線照射ゲノム DNA への PCR 法の応用

電気泳動法が利用できないゲノム DNA に対してこの PCR 法を応用することができる。閉環状構造のプラスミドで見られた PCR 反応の未照射 DNA に対して 20～50%の増幅現象は観察されなかった。この理由としては、用いた DNA の長さが約 20kb と短いためと考えている。そのため、rＤＮＡ、R1Bm、R2m 各単位内で高次構造をとっていないかを判定するためゲノムＤＮＡを制限酵素 EcoRI で消化したものに放射線を照射しＰＣＲ増幅のパターンを解析した。一部差が検出されたが全てにおいてパターンとしては似ていた。Bac クローンを使用することが必要であろう。　［及川（信大)、藤本、土田、高田、松浦(阪大微研)、武田（ウイルス 2 部)、中垣（信大)、前川］

III. 放射線損傷 DNA のシミュレーション計算による解析

分子動力学を用いたシミュレーション計算により損傷ヌクレオチドによる二本鎖 DNA の高次構造の変化を解析している。

［藤本、ピナック（原研東海)、斎藤（原研東海)、土田、高田、前川］

IV.　放射線照射による損傷指標としての翅原基の利用

ガンマ線をカイコ幼虫に照射すると翅が小さくなる現象が知られている。カイコ N4 系統 5 齢幼虫にセシウム 137 のガンマ線を照射し蛹の翅の長さに対する全長の比を照射線量に対してプロットすると線量に依存して蛹の翅の長さが短くなることが明らかとなった。そこで他の系統（n02、P22、P20、w16、N4）に対して同様のことをコバルト 60 線源を使って行うとそれぞれ線量に依存して蛹の翅が短くなっていった。それぞれのパターンから放射線抵抗性感受性を調べることが出来ることが分かった。

［高田、藤本、伴野(九大)、藤井(九大)、西川(九大)、西

坂(九大)、田村(九大)、土田、前川］

V. 脂質輸送機構の解析

脂質は細胞膜構成成分や栄養分、また生理活性脂質性メディエイターの材料として必須の成分である。脂質は水に溶けないので生体内を輸送するためには何らかの装置が必要である。脂質の一つであるカロチノイド特異結合タンパク質（CBP）を発見し、哺乳類のステロイドホルモン合成にとって必須の細胞内因子 Steroidogenic Acute Regulatory Protein(StAR) ファミリーに属することを明らかにしてきた。このタンパク質はヒトとマウスから 15 種類同定されているが、その生理機能や脂質リガンドも未知のままである。この StAR がカロチノイドを結合するという新たな生理機能を持つことを明らかにする過程でファミリーの機能を総括的に明らかにしたい。

またヒトの目のルテイン集積機構の解明に合わせて貢献したい。

１．CBP 遺伝子の解析

カロチノイドの取込機構は未だ明確ではない。カロチノイド輸送に関連した突然変異体の解析から CBP 遺伝子と Y 遺伝子の関係を調べた。突然変異体Ｙ、＋^{Y}から単離されたＣＢＰｃＤＮＡのＯＲＦの塩基配列には差が認められなかったが、ｍＲＮＡの大きさに差があった。そのため何故＋ＹがＣＢＰを作れないのかを明らかにするためにゲノム遺伝子の解析を行った。

［土田、作道（東大）、藤本、前川、伴野（九大）、藤井（九大）、高田、片岡（東大）］

２．CBP 遺伝子アイソフォームの同定

4 つの予想膜貫通領域をコードするクローンが得られ哺乳類の StAR 相同分子でステロイドホルモン合成への関与が示唆されている metastatic lymph node 64(MLN64)と同じ特徴であった。このクローン 40kb の中に CBP の３’側配列ばかりか 5’側も存在したため得られたクローンは CBP のアイソフォームと考えられた。それらの発現を突然変異体を使って解析を行っている。

［作道（東大）、土田、藤本、前川、高田、片岡（東大）］

管理業務

Ⅰ．講習会

ほぼ例年通り実施された。最初の表参照：

II. 日常業務

１．通常の管理業務を行った。

２．10 月 12 日に実施された文科省による立入検査でおおむね良好であったが指摘事項が 2 項あった。それぞれに適切に対処した。

３．２月に文科省より通知があり管理区域、非管理区域において放射性同位元素等が無いか点検するよう指示があった。総務部も含めた各部の協力の基点検を行ったが特に問題なかったので通常の管理状況報告書とともに平成 17 年度に提出の予定。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

1)　欧文発表

1. K.Tsuchida, Z.Jouni, J.Gardetto, Y.Kobayashi, H.Tabunoki, M.Azuma, H.Sugiyama, N.Takada, H.Maekawa, Y.Banno, H.Fujii, H.Iwano and M.A.Wells (2004) Characterization of the carotenoid-binding protein of the Y-gene dominant mutants of *Bomb*

yx mori. J. Insect Physiology, 50, 363-372.

2. H.Fujimoto, Y.Hirukawa, H.Tani, Y.Matsuura, K.Hashido, K.Tsuchida, N.Takada, M.Kobayashi and H.Maekawa (2004) Integration of the 5’ end of the retrotransposon, R2Bm, can be complemented by homologous recombination. Nucleic Acids Res., 32, 1555-1565.

3. H.Fujimoto, M.Pinak, T.Nemoto, P.O’Neill, E.Kume, K.Saito and H.Maekawa (2005) Molecular dynamics simulation of clustered DNA damage sites containing 8-oxoguanine and a basic site. J. Comput. Chem. 26, 788-798.

Ⅱ．学会発表

1)　国際学会

1. H. Maekawa, E.Yamauchi, H.Fujimoto, R.Watanabe, K.Saito, M.Oikawa, M.Murakami, K.Tsuchida, N.Takada, Detection of DNA strand breaks using real time PCR

amplification for irradiated pBR322 plasmid DNA with scavenger and application for the simulation model. International workshop on biological responses to low dose radiation. Sendai, Aug. 2004.

2. H.Maekawa, M.Oikawa, E.Yamauchi, H.Fujimoto, R.Watanabe, K.Saito, K.Tsuchida, N.Takada, M.Nakagaki, M.Kobayashi, Y.Nakajima. PCR detection for strand breaks of irradiated plasmid DNA is applied for structural analysis of rDNA cluster including retrotransposons. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

3. K.Tsuchida, W.Hara, S.Sosnicki, N.Takada, H.Maekawa, M.Kobayashi. Carotenoid binding protein is encoded by Y gene which transport carotenoid into hemolymph of *Bombyx mori*. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

4. N.Nakajima, T.Nakamura, Y.Banno, H.Fujimoto, K.Sahara, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, N.Takada and H.Maekawa. Comparison of mariner-like elements among *Bombyx mandarina* individuals inhabiting east Asia in the light of the segregation of *B.mori* & *B.mandarina*. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

5. N.Nakajima, T.Nakamura, Y.Banno, H.Fujimoto, Kusakabe, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, N.Takada and H.Maekawa. Possible horizontal transfer of *mariner*-like sequences into some invertebrates including lepidopteron insects, grasshopper & a coral among Japan islands. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

6. Y.Nakajima, H.Fujimoto, T.Nakamura, Y.Banno, K.Sahara, T.Kusakabe, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, N.Takada and H.Maekawa. Studies on segregation & divergent events of some insects inhabiting east Asian region by use of mariner-like sequences classified into the *Cecropia*-ITR-MLE as the indicator. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

7. Y.Nakajima, H.Fujimoto, T.Nakamura, Y.Banno, K.Sahara, T.Kusakabe, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, N.Takada and H.Maekawa. Studies on the segregation and divergent events of some wild silk moth inhabiting in Japan islands and *B. mandarina* distributing East Asian region by comparing the *mariner*-like elements (MLEs) classified into the *Cecropia*-ITR-MLE. The International Workshop on Wild Silkmoths and Silks "Current Advances and Development in Wild Silkmoths and Tropical *Bombyx* Silks", October, 2004, Khonkaen, Thailand.

8. Y. Kawanishi, R. Takaishi, H. Fujimoto, Y. Banno, K. Sahara, T. Kusakabe, Y. Yasukochi, K. Tsuchida, H. Maekawa and Y. Nakajima. Studies on the segregation and divergent events of some insects, invertebrates and vertebrates inhabiting east Asian region by use of *mariner*-like-elements(MLES) classified into the *Cecropia*-ITR-MLE. International Workshop on Encoding Information in DNA Sequences, 2004.Feb. 21-27. Okinawa,Japan.

2) 国内学会

1. 土田耕三：新規カロチノイド結合タンパク質の生理機能とカロチノイドと食い輸送系。ワークショップ「昆虫の体色多形成発現および斑紋形成に潜む分子メカニズム解明への挑戦」2004 年 10 月、上田

２．及川美代子、高田直子、山内美恵子、藤本浩文、屠振力、渡辺立子、斎藤公明、土田耕三、中垣雅雄、前川秀彰：昆虫病理学の立場からカイコの放射線抵抗性を解析する点の方法論を考察する。第 6 回昆虫病理研究会シンポジウム、富士吉田、2004 年 10 月

３．前川秀彰、及川美代子、藤本浩文、渡辺立子、斎藤公明、山内美恵子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子：PCR 法を用いた放射線によるゲノム DNA の切断頻度の検出。第 47 回放射線影響学会大会、2004 年 11 月、長崎

４．中島裕美子、高石礼子、伴野豊、中村隆、佐原健、安河内祐二、日下部宜宏、椎野禎一郎、藤本浩文、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、前川秀彰： 東アジアに生息する昆虫を含む生物における *Cecropia*-ITR-MLE を指標とした生物地理学的考察。第 27 回日本分子生物学会大会、2004 年 12 月、神戸。

５.藤本浩文、ミロスラフ・ピナク、根本俊行、ピーター・オニール、久米悦雄、斎藤公明、土田耕三、高田直子、前川秀彰：クラスター損傷をもつ DNA 分子の MD シミュレーション。第 27 回日本分子生物学会大会、2004 年 12 月、神戸。

６．及川美代子、藤本浩文、渡辺立子、斎藤公明、屠振

力、土田耕三、中垣雅雄、高田直子、前川秀彰：リアルタイム PCR 法による放射線照射ゲノム DNA の損傷検出とその構造解析への利用。第 27 回日本分子生物学会大会、2004 年 12 月、神戸。

19.動物管理室

室長　山田靖子

概　要

動物管理室は戸山庁舎、村山分室の動物管理区の管理運営を担っている。平成１６年度はこれまで感染研の中央経費より半額が補助されていた研究用動物の飼育に係わる経費が、全額使用者負担となった。これに伴い、戸山庁舎で使用している放射線滅菌飼料の見直しを行い、質はなるべく落とさずコストダウンを行った。平成１６年度末に獣医科学部第４室が基盤研（大阪）に移転するのに伴い、動物管理区内で同室が飼育していた系統マウスおよび機材が搬出された。村山分室では、平成１６年１１月にユニセフワクチンに関してWHOの査察を受けたが、動物飼育管理について特に指摘は受けなかった。筑波霊長類センターの改築に伴う同施設の飼育可能頭数減少のため､村山分室で可能な範囲で霊長類を受け入れ、飼育を行った。

人事では平成 16 年５月より座本綾が研究員として着任し、平成17年3月に山田保利が定年退官を迎えた。

動物管理室の研究は、昨年度に引き続いたテーマで行われた。実験動物の感染症に関する研究では、人獣共通感染症であるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスの抗体検査を微生物モニタリング項目に加えられるよう、研究を進めた。また、免疫不全マウスのマウス肝炎ウイルスへの感受性について研究を進めた。モデル動物の開発研究では、麻疹ウイルス病態モデルとしてのカニクイザル、およびガングリオシドーシスのモデルとしてβ-ガラクトシダーゼノックアウトマウスの研究を行った。重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究では､実験動物の中で発症が確認されているフェレットのウイルスリセプターについて研究が行われた。

動物管理室は動物実験委員会の事務局を担当している。平成 16 年度は新規に動物実験を行う研究者を対象に、隔月に動物実験委員会の全所対象の講習会を開催した。平成 16 年度に申請された動物実験計画は 266 件であった。

動物管理区の利用状況

戸山庁舎と村山分室の動物管理区において、新規に施設を利用する研究者を対象に講習会を行っている。各施設の利用登録者数は平成 17 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎401人、村山分室 187 人である。

Ⅰ．実験動物施設利用者講習会および動物実験講習会

		受講者数 (新規)		
開催月日	開催場所	施設利用 (戸山)	施設利用 (村山)	動物実験 (全所)
4月5日	戸山	27	0	37
6月2日	戸山	21	0	30
7月13日	村山	0	5	0
7月14日	村山	0	5	0
8月2日	戸山	11	0	15
8月18日	村山	0	3	0
10月5日	戸山	11	0	15
12月1日	戸山	5	0	11
1月5日	戸山(臨時)	1	0	0
2月1日	戸山	5	0	9
合計		81	13	117

Ⅱ．微生物モニタリング

戸山庁舎、村山分室の各飼育室にモニター動物を配置し，月一回定期的に微生物モニタリングを行っている。緑膿菌、黄色ブドウ球菌に陽性が散見されたが、これらはいわゆる日和見病原体で免疫機能が正常な動物には病原性はない。それ以外の病原体については全て陰性であり，飼育室は清浄に保たれている。(空欄は検査を実施していない)

（網康至、須崎百合子、松野久美子、滝本一広、田原口元子、座本綾、星谷武、増子芳郎、山田保利、大池正明、吉岡利夫、小川敏雄、山田靖子）

微生物モニタリング

病原体検査項目		検査方法	年間検査結果 (陽性数/検査数)					
			戸山庁舎			村山分室		
			マウス	ウサギ	モルモット	マウス	ウサギ	モルモット
サルモネラ	Salmonella spp.	培養	0/372	0/2	0/10	0196	0/75	0/96
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/372	0/2	0/10	0/196	0/75	0/96
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	0/372	0/2	0/10	10/196	0/75	1/96
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	16/372	0/11	15/55	55/196	6/75	63/96
腸粘膜肥厚菌	Citrobacter rodentium	培養	0/372			0/196		
パスツレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/372			0/196		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/372			0/196		
マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養・血清反応	0/372			0/196		
ウサギパスツレラ	Pasteurella multocida	培養		0/11			0/75	0/96
気管支敗血症菌	Bordetella bronchiseptica	培養		0/11	0/55		0/75	0/96
溶血連鎖球菌	Streptococcus zooepidemicus	培養			0/10			0/96
肺炎球菌	Streptococcus pneumoniae	培養			0/55			0/96
センダイウイルス	Sendai virus (HVJ)	血清反応	0/372	0/2	0/10	0/196	0/75	0/96
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus(MHV)	血清反応	0/372			0/196		
エクトロメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/372			0/196		
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/372					
スピロヌクレウス (ヘキサミタ)	Spironucleus muris (Hexamita muris)	鏡検	0/372					
ネズミ盲腸蟯虫	Syphacia spp.	鏡検	0/372					
ネズミ大腸蟯虫	Aspiculuris tetraptera	鏡検	0/372					
嚢尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検・肉眼所見	0/372					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/372					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/372					
コクシジウム	Eimeria caviae, Eimeria spp.	鏡検		0/2	0/10			
嚢尾虫	Cysticercus pisiformis	剖検・肉眼所見		0/2				
ウサギ疥癬ダニ	Psoroptes cuniculi	鏡検		0/2				

業　績

調査・研究

Ⅰ. 実験動物の感染症に関する研究

Ⅰ-1　マストミス、スナネズミのリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)に対する感受性と抗体検出

LCMV は、人獣共通感染症の原因として重要である。自然宿主であるマウス、ハムスター同様、マストミス、スナネズミも LCMV に対し感受性があるかを検討した。マストミス、スナネズミから LCMV 感染血清を得、組換え LCM-NP を抗原とした ELISA で抗 LCMV 抗体を検出した。二次抗体に抗マウス IgG、抗ラット IgG を使用することにより、マストミス、スナネズミ共に LCMV に対する特異抗体が検出され、LCMV に対する感受性が示唆された。

［滝本一広、田原口元子、森川　茂 1)、山田靖子（1) ウイルス 1 部)］

Ⅰ-2　陽性コントロールとしての組換え LCM-NP 免疫血清の反応性について

組換え LCM-NP 免疫血清が LCMV 感染血清の代わりに陽性コントロールとして使用できるかを検討した。マウス、ハムスター、マストミス、スナネズミから得た組換え LCM-NP 免疫血清と、各動物から得た LCMV 感染血清との反応性を ELISA で比較したところ、全動物種において感染血清とほぼ同等の強い反応を示し、感染血清の代替として使用可能であることが示唆された。

［滝本一広、田原口元子、森川　茂 1)、山田靖子（1) ウイルス 1 部)］

Ⅰ-3 マウス肝炎ウイルス感染におけるマスト細胞の役割の解明

ウイルス感染におけるマスト細胞の役割について解明する目的で、遺伝的にマスト細胞を欠損する WBB6F1-W/W^V マウスおよびそのコントロール+/+マウスにマウス肝炎ウイルス(MHV)を感染させ、生存率を比較した。また、感染マウスの臓器内においてウイルス増殖を比較するため、MHV の検出を試みた。MHV 感染によって、W/W^V マウスは、+/+マウスと比較して、致死率が高く生存率が低下することが明らかになった。臓器内のウイルス増殖は、接種後 1 週目では、W/W^V と+/+マウス共に各臓器で検出されたが、ウイルス量は全臓器においてW/W^{V}マウスの方が著しく多かった。2 週目のW/W^{V}マウスでは、脳以外の臓器でウイルス量は減少し、3 週目では脳のみで増加し検出された。2 週目以降+/+マウスでは、ウイルスは検出されなかった。

(田原口元子、山田靖子)

Ⅱ. モデル動物の開発

Ⅱ-1 感染症モデル動物の開発と病態解析

麻疹ウイルスの脳内侵入経路を明らかにするとともに中枢神経への持続感染モデル作出を目的として、カニクイザルを用いて、感染末梢単核細胞を、同一個体の視床に接種した。このうち１頭において、感染約１００週後も、高力価の血清中麻疹ウイルス中和抗体、抗麻疹ウイルス IgM 抗体、脳脊髄液中の麻疹ウイルス中和抗体が持続して検出された。また、麻疹ウイルスに対する T 細胞反応を、特異的刺激における細胞内γIFN の産生頻度で検出したところ、他の個体より高値を示した。これらの結果は、中枢神経内に麻疹ウイルスが持続感染していることを示唆するものと考えられる。

（網　康至、須崎百合子）

Ⅱ-2　GM1 合成酵素高発現マウスの糖脂質解析

ガングリオシド合成能を高めるために GM1/GA1 合成酵素遺伝子を導入したβ-ガラクトシダーゼ KO マウス（ライン＃116）の大脳および肝臓における GM１、アシアロ GM１の含有量を生化学的に検索した。遺伝子導入 KO マウスと KO マウスとで、大脳、肝臓のいずれにおいても GM1 およびアシアロ GM1 の含有量に変化は認められなかった。

［滝本一広、松田潤一郎 1)、鈴木　治 1)、山本美江 1)、高野　薫 1)（1) 獣医科学部)］

Ⅲ. 重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究

Ⅲ-1 フェレット ACE2 の同定と SARS-CoV レセプターとしての機能

フェレットの、SARS 関連コロナウイルス(SARS-CoV)ウイルスレセプターと考えられるアンギオ

テンシン変換酵素２（ACE2）について調べた。フェレット ACE2 は全長 805 アミノ酸残基で、既に報告のあるヒトおよびマウスとのホモロジーは 80.88%と 76.43%であった。また、配列中には 17 残基のシグナル配列や C 末端上流の膜貫通領域などが含まれていた。次に、フェレット ACE2 の恒常的発現細胞を作製し、SARS-CoV を感染させたところ、培養上清中のウイルス価は非発現細胞より明らかに高く、FeACE2 が SARS-CoV のレセプターとして機能することが示唆された。

（座本　綾、田原口　元子、山田　靖子）

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌上発表

Ⅰ-1　欧文

(1) Li TC, Suzaki Y, Ami Y, Dhole TN, Miyamura T, Takeda N. (2004): Protection of cynomolgus monkeys against HEV infection by oral administration of recombinant hepatitis E virus-like particles. Vaccine, 22:370-7.

(2) Uda A, Tanabayashi K, Yamada YK, Akari H, Lee YJ, Mukai R, Terao K, and Yamada A. (2004): Detection of 14 alleles derived from the MHC class I A locus in cynomolgus monkeys. Immunogenetics, 56: 155-163.

Ⅰ-2　和文

(1) 網　康至(2004): 麻疹ウイルスによる動物脳炎モデル作成の試み。 NEUROINFECTION, 9: 75-78.

(2) 山田靖子(2004): 実験動物とウイルス。日本実験動物学会ニュース、5-7.

(3) 山田靖子(2004): 実験動物における人獣共通感染症。Medical Corner, 115(2), 19-22.

(4) 山田靖子(2004): 人と動物の共通感染症　–実験動物―。Pharma Medica, 22(11), 55-58.

Ⅱ. 学会発表

Ⅱ-１　国内学会、等

(1) 滝本一広、中山一栄、山田靖子：マウス・ラット以外の小型齧歯類実験動物におけるセンダイウイルスに対する感受性と抗体検出法の検討。第 51 回日本実験動物学会総会、平成 16 年 5 月、長崎。

(2) 山田靖子：実験動物における人獣共通感染症。ラジオ短波メディカル・コーナー、平成 16 年 5 月 9 日放送。

(3) 山田靖子、水谷哲也、高橋一朗、福士秀悦、西條政幸、倉根一郎、森川　茂：SARS-CoV の継代感染による変異ウイルスの出現。第５２回日本ウイルス学会、平成１６年１１月、横浜。

(4) 山田靖子：動物・人の健康と獣医師－実験動物の立場から－。日本獣医師会学会年次大会、平成１７年２月、新潟。

(5) 座本綾、田口文広、福士秀悦、森川茂、杉山広、田原口元子、山田靖子：フェレット ACE2 の同定と SARS-CoV、レセプターとしての機能。第 139 日本獣医学会学術集会、平成１７年 3 月、和光市。

20.感染症情報センター

センター長　岡部信彦

概　要

平成 9 年 4 月国立予防衛生研究所は「国立感染症研究所」と名称変更になり、それまでの感染症疫学部は発展解消し「感染症情報センター（初代センター長・井上栄博士)」が発足した。主な機能は、１）感染症サーベイランスデータの集計、感染症情報の収集、解析、その情報の国民への提供、２）外国の感染症機関との情報交換、３）感染症集団発生の疫学調査、およびそれを実行する専門家の養成、４）感染症予防制圧戦略の研究および提言、５）不明病原体に関する検索並びに研究、技術伝達、等である。

平成 11 年 4 月に施行された感染症法では、サーベイランスシステムの強化が示されている。同法に基づいた基本指針の中には患者発生状況サーベイランスと同様に病原体に関する情報の収集、分析及び提供と公開も必要であるとされている。感染症情報センター(IDSC)は、国のサーベイランス事業の中で中央感染症情報センターとして位置づけられ、地方感染症情報センターならびに都道府県等の協力を得て、感染症法に規定された 1−4 類感染症（平成 15 年 11 月 1−5 類に類型が変更された）を中心にしたサーベイランスを行っている。病原体情報については WISH Net, IDSC ホームページ(http://idsc.nih.go.jp/index-j.html)、病原微生物検出情報（IASR）を中心として、疾患の発生動向については感染症週報(IDWR: Infectious Diseases Weekly Report)などを中心として、収集された情報の迅速な還元と公開を行っているところである。血清疫学調査としては、感染症流行予測調査事業の中でこれを行っている。このデーター等を基礎とし、感染症対策の重要な一角としての予防接種のあり方についてのエビデンスを求めることも IDSC の重要な業務である。

感染症発生への適切な対応の一環として実地疫学の重要性が理解されつつあるが、これにかかわる人材の育成は急務である。感染研では業務の一つとしてこの人材教育（実施疫学調査専門家養成コース(FETP)）が行われているが、研修実施の主体は IDSC が行っている。

平成 14 年 4 月より感染症情報センター第五室、第六室が村山庁舎に新設され、第五室においては細菌、第六室においてはウイルスについて、自治体における病原体検査の研修等を行い、また病原体検査に関する情報の収集、検査法の開発等を行うようになった。

情報センターは現在以下の 6 室で分担し、業務研究を行っている。

第一室　（感染症対策計画室）

国内外における感染症の流行、 集団発生・異常集積時の疫学調査、感染症対策のための計画立案とそのための研究などを行っている。 ことに積極的疫学調査、 これに関わる感染症実地疫学専門家の養成を行っている（Field Epidemiology Training Program)。院内感染対策も一室のテーマとしている。

第二室　（感染症情報室）

地方感染症情報センターならびに都道府県等の協力を得て国内感染症サーベイランスデータの収集・分析、 及びその結果の還元と提供及びそのための研究を行っている。

第三室　（予防接種室）

感染症流行予測調査事業の一環として行われている血清疫学調査の立案と実施、現行予防接種の効果と副反応に関するモニタリング、これらの結果の公表と広く一般への情報提供、予防接種対象疾患の感染症として人に与える影響 （disease burden） に関する調査研究、及び今後の我が国における予防接種の有用性に関する総合的研究を行っている。また感染症研究所として行われている国内血清銀行の管理を行っている。

第四室　（病原診断室）

他の部の所管に属さない病原体に関すると思われる原因不明疾患の微生物学的検査、レファレンス、病原診断のための方法の開発を行っている。

第五室 （細菌研修室）

細菌性疾患の検査に関する情報の収集・解析、 情報提供を行っている。また国内外の関連機関と連携し、 公衆衛生における細菌検査の技術向上・標準化等を支援している。公衆衛生に携わる公的機関の職員を対象に細菌検査に関する講習の立案・遂行、 新規検査法の研究などを行っている。

第六室 （ウイルス研修室）

ウイルス性疾患の検査に関する情報の収集・解析、 情報提供を行っている。また国内外の関連機関と連携し、公衆衛生におけるウイルス検査の技術向上・標準化等を支援している。公衆衛生に携わる公的機関の職員を対象にウイルス検査に関する講習の立案・遂行、 新規検査法の研究などを行っている。

各室の業務、研究、作業は、独立した個別のテーマもあるが、その多くは各室のスタッフが、それぞれが重なり合い、協力し合いながらテーマ別に集合して取り組んでいることが多い。したがってそれぞれの業務・研究・行政等について各室別に業務研究内容を表すのではなく、本年報ではその内容ごとに情報センターの１年間の活動内容を記した。詳細については以下それぞれの項目別に記されている。

なお、岡部センター長は以下の委員の委嘱を国より受け、情報センター業務・研究の結果、成績などを背景として国における感染症対策の検討に参画した。

厚生労働省健康危機管理調整会議委員
厚生労働省厚生科学審議会臨時委員
（感染症分科会員）
厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員
（医療機器・体外診断薬診断部会員）
厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員
（食中毒部会員）
厚生労働省疾病・障害認定審査会臨時委員
（感染症・予防接種審査分科会員）
厚生労働省疾病・障害認定審査会委員
（感染症・予防接種審査分科会員）
内閣府食品安全委員会専門委員
（肥料・飼料等専門調査会委員
緊急時対応専門調査会専門委員
微生物ウイルス専門委員）
農林水産省食料・農業・農村政策審議会臨時委員
厚生労働省地域保健対策検討会委員
医薬品医療機器総合機構専門委員

業　績

１．調査・研究

１－I. 感染症発生動向調査事業に関する研究

１－I－１. サーベイランスシステムの改善に関する研究

厚生労働省新興再興感染症研究事業として「効果的な感染症発生動向調査のための国及び県の発生動向調査の方法論に関する研究(主任研究者　谷口清州)を組織し、感染症サーベイランスの在り方について研究を行った。[谷口清州、重松美加、木村幹男、多田有希、山下和予、橋戸円、中瀬克己（岡山保健所)、田中政宏、岡部信彦]

１－I－２. 感染症発生動向調査に基づく注意報・警報システムおよび全国罹患数推計に関する研究

全数報告疾患のうち２類および４類の一部について、1999 年 4 月から 2004 年 12 月までの報告情報の解析を行い、日本公衆衛生学会、国際旅行医学会などで発表し、情報の還元および今後の改善課題について検討した。定点報告疾患の全国罹患数の推計の求め方についての検討および従来の検討方法の再評価、性感染症における定点設定の妥当性についての検討を行った。[重松美加、谷口清州、橋戸円、橋本修二（藤田保健衛生大学)、村上義孝（国立環境衛生研究所)、永井正規（埼玉医科大学)、川戸美由紀（藤田保健衛生大学）]

１－I－３. 症候群サーベイランスの基礎的研究

バイオテロリズム、パンデミック、および大規模感染症の早期検知を目的とした症候群サーベイランスの導入を目指し、その対象の選定、効果的システムのあり方などに関しての情報収集、意見交換、実験的サーベイランスシステムの構築などを基礎的研究として行った。その一環として、OTC（市販薬、大衆薬）の売り上げ、外来患者、および救急車搬送の過去のデータの解析を行い、サーベイランス対象としての有効性について評価し、暫定的にアラートシステムを構築した。その成果は、国内外の学会で報告した。関係者との頻繁な意見交換を重ね、その実用化に向けての検討を進めた。 [大日康史、重松

美加、谷口清州、菅原民枝（筑波大学)、村田厚夫（杏林大学医学部）]

１－I－４．手術部位感染の疫学に関する研究

日本環境感染学会の学会事業である JNIS（Japanese Nosocomial Infections Surveillance）の一環として、院内感染の中でも発生の影響が特に大きい手術部位感染に関して、医療機関で行われるサーベイランスのデータを集積し集計を行い、各施設へのフィードバックを実施した。さらに、手術部位感染のリスク因子に関する研究的解析を行い、学会報告した。[森兼啓太、日本環境感染学会 JNIS 委員会]

１－I－５.アメリカ合衆国の院内感染サーベイランスシステム事業への参画および研究的解析

財団法人ヒューマンサイエンス振興財団若手研究者育成活用事業による CDC の院内感染対策部門へ派遣を受け、アメリカ合衆国の院内感染サーベイランスシステムの改訂作業を行った。また、手術部位感染に関する同システムに集積されたデータを用いて、日米の発生動向の相違や発生のリスク因子に関する検討を行ない、学会報告を行った。[森兼啓太、Teresa Horan（CDC)、Mary Andrus（CDC)、Jonathan Edwards（CDC）]

１－I－６.海外で感染した可能性のある症例報告の検討

発生動向調査の情報の解析をもとに、海外での感染が推定される例の多い感染症の最近の動向、報告における問題点、推定される宿主要因の変化などにつき検討し、国内外の学会において報告した。[重松美加、山下和予、岡部信彦]

１－I－７．性感染症（ＳＴＤ）発生動向調査の評価と解析

現行のＳＴＤ発生動向調査に関して、定点の妥当性等を含め、その信頼性を調査研究するとともに、わが国の近年のＳＴＤの最近の動向を解析した。[橋戸円、中瀬克己]

１－II. パンデミック、バイオテロ、公衆衛生対策に関する研究

１－II－１．新型インフルエンザのパンデミック対策に関する研究

（１）数理モデルを用いて、新型インフルエンザの被害を予想し、公衆衛生的対応を評価、検討した。個人の日常の移動パターンを組み入れた individual base model を開発し、休校や地域封鎖の影響について評価し、その成果をＷＨＯの会合で報告した。[大日康史、谷口清州]

（２）国内の実践的パンデミック対策計画を確立するため､世界各国の指針､行動マニュアルなどの情報を収集、分析、評価し、WHO チェックリストの翻訳および各項目についての国内状況の評価を開始した。[谷口清州、重松美加、森兼啓太、中島一敏、大日康史、田中政宏、砂川富正]

１－II－２．高病原性鳥インフルエンザウイルス対策の調査研究

厚生労働省特別研究事業「高病原性鳥インフルエンザウイルス対策の調査研究（主任研究者　谷口清州)」の研究活動として、ベトナム共和国ハノイ、ホーチミン市において、現地保健省、国立衛生疫学研究所、国立小児病院、ホーチミン・パスツール研究所などを訪問し、鳥インフルエンザウイルス感染症の流行現状に関する情報収集および各分野の専門家との意見交換を行った。また、ベトナム国立衛生疫学研究所との今後の協力と情報交換を行う可能性および、ホーチミン・パスツール研究所との協力関係を維持するための協議、さらに、日本政府による BSL レベル 3 実験室の無償供与に関連した、日本の技術協力の必要性についてのベトナム政府の見解についての情報収集を行った。[谷口清州、田中政宏、森兼啓太、中嶋建介、川名明彦（国立国際医療センター)、工藤宏一郎（国立国際医療センター）]

１－II－３．バイオテロ（天然痘）の被害予想と公衆衛生的対応の評価

数理モデルを用いて、バイオテロの被害を予想し、それに対する公衆衛生的対応を評価、検討した。その成果は、論文として報告した。また、天然痘ワクチンの科学的備蓄規模と使用に関する研究班(主任研究者　蟻田功)の研究として日本における備蓄量の検討を行った。[大日康史、谷口清州]

１－II－４．国際保健規則および国際的感染症ネットワークの研究

大規模感染症発生時における行政機関、医療機関等の間の広域連携に関する研究班(主任研究者　大久保一郎)の研究の一環として、IHR のアルゴリズムについての検討を行うとともに、その妥当性について基礎的な検討を行った。[大日康史、重松美加、谷口清州]

１－III. 感染症の疫学、統計等に関する研究

１－III－１．インフルエンザによる超過死亡の評価

人口動態調査の月別全死因死亡者数のデータから、インフルエンザ流行の我が国の人口動態に与える影響を、「感染研」モデルを用いてインフルエンザによる超過死亡を推定し検討した。比較的大きな流行を経験した 2002/03 シーズン（推計患者数 1,450 万人、超過死亡 11,215 人）に比べ、2003/04 シーズンは流行の規模は中等度で、患者数は約 923 万人、インフルエンザ関連死亡迅速把握からのデータによる超過死亡も 2 月だけにみられ、2,400 人と非常に少なかった。この結果は、病原微生物情報 vol.25, No.11, pp.288-286, 2004 で情報還元した。2004/05 シーズンは、3 月を越えて患者報告がみられ、推計総患者数および超過死亡ともに、再び増加することが見込まれる。[大日康史、重松美加、谷口清州]

１－III－２．インフルエンザ関連死亡迅速把握に関する研究

14 大都市から提供されるインフルエンザ関連死亡（インフルエンザ及び肺炎死亡）数を用い、「感染研」モデルと同種の超過死亡推定モデルを適用し、各都市ごとの週単位の超過死亡を推定し、迅速な情報還元を行った。迅速把握においては、約 2 週間の遅れで、2 ヵ月遅れの人口動態から推計した結果とよく相関した情報を提供することができ、インフルエンザにおける超過死亡の早期警戒に有用であると考えられた。昨年度に引き続き、データ入手後 3 日以内のウェブによる還元を実現した。[大日康史、重松美加、谷口清州、松岡静香、NEC、厚生労働省健康局結核感染症課、14 大都市・特別区衛生主幹部局]

１－III－３．インフルエンザによる患者数の迅速把握（毎日患者報告）事業の解析と還元システムの構築

インフルエンザ定点 5,000 の 1 割弱に相当する約 500 の定点医療機関よりインターネットを利用し、インフルエンザ様症状で受診した患者数の報告を、毎日受けるシステムを構築。この情報をリアルタイムで統計学的処理し、推計罹患者数を推計したものをウェブ上で提供し、効果的な対策に役立つよう、インフルエンザの流行状況を早期に情報提供した。このデータは、休診日やその前後の影響が非常に強く、そうした曜日効果を排除するアルゴリズムに関して検討を加えた。また、有志の医師によって運用されているインフルエンザの毎日患者報告である MLflu の運用に参加し、解析を行った。この成果は、国内外の学会で発表した。[大日康史、重松美加、谷口清州、砂川富正、西藤なるを（西藤こどもクリニック）、数理システム、厚生労働省健康局結核感染症課]

１－III－４．インフルエンザワクチン需要予測

インフルエンザワクチンの生産本数を決定するために、世帯調査を実施し、そのコンジョイント分析から予測を行い、国の需要見通しへ反映した。[大日康史]

１－III－５．狂犬病対策の数理モデルの開発

獣医学部との共同で、狂犬病予防法の評価のための数理モデルを開発した。特に、野犬、飼い犬の間での拡散を視覚的にモデル化し、その上で、アニメーションとして表現した。研究成果は保健所、検疫所等関係部局に配布した。［大日康史、井上智（獣医科学部）］

１－III－６．中小規模施設での院内感染発生時の対応に関する研究

厚生労働科学特別研究事業「院内感染地域支援ネットワーク及び相談体制の改善・普及や、データベースおよびバックアップ体制の構築に関する研究（H16-医療-11)」において、「病院感染および病院内新興感染の制御のためのバックアップ体制に関する研究」分担研究班に参画し、院内感染やそのアウトブレイクの発生に際し支援を行う地域支援ネットワークや大学病院・研究機関・学会などの役割に関する研究を行った。[森兼啓太、大久保憲（NTT 西日本東海病院)、倉辻忠俊（国立国際医療センター）]

１－III－７. 実地疫学専門家養成プログラム（ＦＥＴＰ）の評価・改善に関する研究

「感染症実地疫学専門家の機能及びネットワークに関する調査研究」（平成 16 年度厚生労働科学研究地域保健総合推進事業）において計画・実施された「ＦＥＴＰ修了生に対するアンケート」を担当し、ＦＥＴＰ終了後の人材・ネットワークの有効活用とその課題に関して研究をおこなった。[中島一敏、大山卓昭]

１－III－８.「検疫感染症等死亡疑い死体対応マニュアル」についての研究

「大規模感染症発生時における海港検疫所と地方公共団体等との広域連携に関する研究」（平成 16 年度厚生労働科学研究新興・再興感染症研究事業）において計画・作成した「検疫感染症等死亡疑い死体対応マニュアル」に関して、調査票、接触状況調査指針、船長への指示等（英文を含む）を担当した。[ポール・キツタニ、大山卓昭]

１－III－９. ENTER-NET への参加

腸管感染症に関する海外情報のネットワークである ENTER-NET に参加し、ヨーロッパ各国よりファックスおよびインターネットにより得られるサルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157 感染事例および菌情報の迅速収集を行うと同時に、同組織に対しては、感染症情報センターで入手したわが国におけるこれらの菌の検出状況の提供を行い、国際情報交換の窓口となった。[岡部信彦、渡邊治雄（細菌第一部）]

１－III－１０. ビブリオバルニフィカスの魚貝類における実態調査

近年問題となっているビブリオバルニフィカス感染症の実態を把握するために５つの地研と協力して、毎月、魚貝類におけるビブリオバルニフィカス及び腸炎ビブリオの定量的なデータを収集し、解析を行った。[岡部信彦、田村和満（細菌第一部）、荒川英二（細菌第一部）、山本茂貴（国立医薬品食品衛生研究所）]

１－III－１１. エンテロウイルス重症感染症の疫学研究

厚生科学研究：重症エンテロウイルス脳炎の疫学的ウイルス学的研究ならびに臨床的対策にする研究(岩崎班)で実施した全国アンケート調査につき更に詳細に解析を行った。回収率は、都道府県別に差は認められなかったが、大学、国公立病院、子供病院の回収率が高かった。EV71 による手足口病が流行した年は、重症化例が多く発症していた。重症化例は７月をピークに６−８月に多く発生していた。年齢は０歳、次いで５歳にピークがあり、２日齢から１８歳に分布していた。男性は女性の１．７倍多かった。４４．３%が集団生活を送っていた。入院日数は 1〜234 日（中央値 6 日）で、２１日以上の長期入院症例は 19 名報告された。年齢群によって入院となった原因疾患の割合が異なっていた。[多屋馨子、鈴木葉子、大山卓昭、北本理恵、早川丘芳、丹生隆、大日康史 逸見佳美、鈴木里和、新井智、岡部信彦]

１－III－１２. 麻疹、風疹感受性人口に関する研究

2003 年に 0-59 歳であった人の麻疹、風疹に対する推計感受性者は麻疹で約 300 万人、風疹で約 1000 万人であった。0-59 歳であった人の風疹に対する感受性者は女性約 380 万人、男性約 730 万人と男性、特に成人男性に多く、女性のみに定期接種が実施されていた年代の男性はその他の年齢群より感受性者が多かった。成人男性への風疹感受性人口の蓄積から女性に対する風疹ワクチン接種がワクチンを受けていない男性の風疹罹患を予防していたことが推定された。[多屋馨子、新井智、佐藤弘、荒木和子、岡部信彦、担当都道府県ならびに都道府県衛生研究所]

１－IV. 予防接種、薬剤等に関する研究

１－IV－１. 水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌による肺炎等の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究

厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌による肺炎等の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究」（岡部班）の研究の一環として、水痘-帯状疱疹、流行性耳下腺炎に関する基礎、臨床、疫学的研究を実施した。

（１）水痘、ムンプス

ア.水痘、ムンプスの重症化例に関する研究

平成 16 年１月〜12 月の１年間に、国内で水痘、ムンプスに関連して入院あるいは死亡、及び、水痘ワクチン、

おたふくかぜワクチンに関連して入院あるいは死亡した患者につき全国アンケート調査を実施した。その結果、30%回収段階における中間報告であるが、全国で数千人の水痘、ムンプスによる入院患者が存在し、５名が水痘で死亡していた。小児のみならず成人例も多く重症化していた。[多屋馨子、佐藤弘、丹生隆、新井智、荒木和子、森兼啓太、岡部信彦]

イ.保育園における水痘、ムンプス流行に関する研究

保育園における水痘、ムンプスの発生状況ならびにワクチン接種率を検討し、保育園における両疾患の流行蔓延に関する対策研究を行った。保育園児における両ワクチン接種率は、全国で推計されている約 20-30%より遙かに低く、10%以下の接種率であることが判明した。今後更に、対象を増やして検討予定である。[安井良則（堺市保健所)、藤井史敏(堺市保健所)、越田理恵(金沢市)、多屋馨子、岡部信彦]

ウ.動物実験モデルによるムンプスウイルスの神経病原性に関する研究

哺乳ラット脳内接種試験（$10^{2.0}$pfu/dose）により、水頭症の程度、脳病理標本、平均生存日数、病理組織学的検査成績について検討した。[一戸貞人、斉加志津子、岡部信彦]

（２）風疹

厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業（岡部班)、平原分担研究班の研究の一環として、風疹流行および先天性風疹症候群の発生抑制に関する研究を実施した。

ア.風疹流行および先天性風疹症候群の発生抑制に関する緊急提言作成

本提言のうち、提言Ⅰ風疹予防接種の勧奨、提言Ⅲ流行地域における疫学調査の強化の章を担当し、これを作成した。[岡部信彦、多田有希、多屋馨子、中島一敏、砂川富正、田中政宏、安井良則、谷口清州、新井智、大日康史、大山卓昭、佐藤弘、重松美加、上野正浩、太田正樹、鈴木葉子、松館宏樹、山口亮]

イ.風疹 Q&A、風疹予防接種申込書・予診票、風疹予防接種に関するガイドライン作成

上記３部作を作成し、感染症情報センターホームページ上に公開した。

http://idsc.nih.go.jp/disease/rubella/index.html[多田有希、田中政宏、多屋馨子、岡部信彦]

ウ.2003 年の風疹地域流行の全体像把握調査（徳之島における風疹予防対策調査）

徳之島で認められた風疹の流行対策として､鹿児島県、鹿児島県衛生研究所、徳之島保健所と共同で、風疹の流行抑制に関する検討を行った。

感染症発生動向調査、出席停止状況、医療機関からの積極的な情報収集により風疹の地域流行を把握し、CRS の全体像の把握として、感染症発生動向調査の強化、聴覚障害調査（ABR スクリーニング)、小児先天性心疾患児の情報収集、小児先天性白内障児の情報収集、人工妊娠中絶の把握、風疹に対する感受性者及び予防接種状況の把握について検討を行った。[中島一敏、田中政宏、多屋馨子、多田有希、砂川富正、安井良則、谷口清州、新井智、大日康史、大山卓昭、佐藤弘、重松美加、上野正浩、太田正樹、鈴木葉子、松館宏樹、山口亮、岡部信彦]

（３）日本脳炎

ア.日本脳炎ワクチンと ADEM に関する研究

日本脳炎ワクチン後 ADEM 症例が発症したことから、全国の小児科標榜病院約 3000 施設を対象に 2003-04 年に発生した ADEM とその類縁疾患の疫学調査を行なった。現在症例集積中であるが、100 例以上が報告されており、年齢、性別、発症月、原因疾患、ワクチン接種との関連、予後について解析中である。[宮崎千明、多屋馨子、岡部信彦]

（４）水痘および流行性耳下腺炎の定期接種化の費用対効果分析

水痘および流行性耳下腺炎の Disease Burden の推定に基づいて、定期接種化のための費用対効果分析を行った。成果は、国内学会等で報告した。[大日康史、菅原民枝（筑波大学)、多屋馨子、岡部信彦]

１－IV－２．トラベラーズワクチンに関する研究

国際医療協力研究委託事業　海外旅行者の健康管理及び疾病予防に関する研究班（岡部班）で実施した調査について更に検討した。渡航からワクチン外来受診までの日数は平均 56.7 日であり、渡航までに 1 か月未満の者が多く、ワクチン接種期間に余裕がなかった。渡航予定期間は平均 94.1 日であり､長期渡航者はある程度余裕を持って受診しているが、長期渡航者であっても直前の受

診者がいた。[多屋馨子、橋本迪子、新井智、岡部信彦]

（１）狂犬病

ア.狂犬病のワクチン接種による拡大抑制効果の評価と対策の検討

イヌの狂犬病は流行している地域のイヌの 70%にワクチン接種を行なうことによって排除または防止できるとされている。しかしながら、その検討は全て野犬が高密度に生息した環境下での検討で、日本にはそのまま当てはめることができない。そこでそれぞれの事例の評価を基に日本においてどのような予防措置が必要か、狂犬病ワクチンの評価も含めて検討した。

[新井智、井上智(獣医科学部)、大日康史]

イ.複数ワクチンの同時接種時の狂犬病ワクチンによる抗体価の上昇に関する研究

狂犬病ウイルスの glycoprotein に対する平均抗体価は、接種回数が増加するにつれて上昇し、2 回接種群が最も高い平均抗体価を示した。一回接種では抗体価の上昇が認められない接種者もいたが、2 回のワクチン接種により、ほとんどの場合で防御レベルと考えられる 0.5IU/ml 相当以上の抗体価の上昇が確認された。可能な限り 2 回以上の接種を実施することが望ましいと考えられた。他の不活化ワクチンとの同時接種での干渉作用は確認されなかった。接種期間が十分に確保できない場合には、複数のワクチンの同時接種も有効なワクチン接種方法であると示唆された。[新井智、橋本迪子、多屋馨子、岡部信彦]

（２）破傷風

小児期に DPT ワクチンを接種していると考えられる 35 歳未満の年代においては接種前から破傷風抗体は維持されており、1 回接種で十分なブースター効果が認められた。35 歳以上の者については抗体を保有していない者が高率に存在しており、この年代以降の者に対する破傷風ワクチンは重要である。ワクチン接種前に抗体陰性であった者に対しては少なくとも 2 回接種が必要である。[多屋馨子、橋本迪子、荒木和子、新井智、岡部信彦]

（３）A 型肝炎

30 歳未満ではワクチン接種前抗体陽性の者はいなかった。1 回のワクチン接種で高率に抗体陽転を認めたものの、確実に陽転化するためには少なくとも 2 回の接種が必要である。複数ワクチンの同時接種であっても抗体反応は良好であった。副反応は 102 回接種中 14 回で認められたが、いずれも軽微で重篤な副反応は認められなかった。[多屋馨子、橋本迪子、田中幸江、新井智、岡部信彦]

１－IV－３．麻疹、風疹ワクチンに関する研究

近年の年齢別麻疹、風疹、MMR ワクチン接種状況に関して検討した。1 歳児麻疹ワクチン接種率は、「1 歳になったらすぐ」をキャッチフレーズにした全国的なワクチンキャンペーンの効果により 2001 年 52%、2003 年 63.4%と上昇を認めた。2 歳児の接種率も 80%から 90%に上昇した。1 歳児風疹ワクチン接種率は、2001 年度 35%、2003 年 35%と変化なく低値であった。MMR ワクチンについては、接種世代のピークが 2003 年度 14-15 歳であり、接種率は約 40%であった。経過措置により風疹ワクチンが定期接種の対象であった 10 代後半から 20 代前半の年齢層における風疹ワクチン接種率は、この経過措置終了前後２年間で上昇していなかった。[多屋馨子、新井智、佐藤弘、荒木和子、岡部信彦、担当都道府県ならびに都道府県衛生研究所]

１－IV－４．混合ワクチンの品質確保に関する研究

厚生労働科学研究医薬安全総合研究事業（宮村班）の分担研究 2 年目として研究を行った。0 歳児の DPT ワクチン接種率は 30.4%と低く、百日咳、ジフテリア抗体保有率は 30%台と低値であった。百日咳の抗体保有率が年齢と共に減少しないのは、年長児、成人層で百日咳菌の曝露を受けていることが示唆される。年長児、成人の軽症百日咳が乳児への感染源となることが報告されているため、対策が重要である。40 代以上では小児期に DPT ワクチンを接種していないため、破傷風の抗体保有率は 4%台と著明に低値であった。破傷風の患者報告はほとんどが 40 歳以上であることを考慮すると、成人層での破傷風トキソイドの必要性が示唆される。小児期に受けた DPT ワクチン、DT トキソイド、DP ワクチンにより、20 年以上は抗体が維持され、現行のワクチンの有用性が示された。[多屋馨子、佐藤弘、新井智、荒木和子、丹生隆、北本理恵、岡部信彦、流行予測調査事業グループ（厚生労働省、山形、茨城、東京、福井、大阪、愛媛、福岡、宮崎の各都府県及びその衛生研究所)、武田直和（ウイル

ス第二部)、宮村達男（ウイルス第二部）]

１－IV－５．ポリオワクチンの効果に関する研究

厚生労働科学研究新興再興感染症研究事業：ポリオ及び麻疹の現状とその予防接種の効果に関する研究（加藤班）の研究協力者として、ポリオウイルス感受性調査を昨年に引き続き実施した。[長野秀樹（北海道立衛生研究所)、沖村容子（宮城県保健環境センター)、水田克巳（山形県衛生研究所)、岩井雅恵（富山県衛生研究所)、山下照夫（愛知県衛生研究所)、岡本玲子（山口県環境保健研究センター)、近藤玲子（愛媛県立衛生環境研究所)、多屋馨子、佐藤弘、新井智、北本理恵、早川丘芳、岡部信彦、清水博之（ウイルス第二部)、宮村達男（ウイルス第二部）]

１－IV－６．ワクチンの製造株の品質管理に関する研究

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業（加藤班）の分担研究１年目として実施した。現行の予防接種後副反応報告ならびに予防接種後健康状況調査より、報告された副反応を解析し、予防接種後副反応報告に関しては、必要な検索が容易に実施できるようなデータベースファイルを作成した。予防接種後健康状況調査については、平成 8-14 年分を累積してワクチン別に健康状況の変化を集計した。予防接種副反応報告については、今回作成したデータベースファイルを用いることにより、ワクチン別、ロット別に副反応報告を迅速に集計、解析可能となり、新たなレイアウトを作成することにより、解析目的に応じた検索システムの作成が容易となった。今後シードロットシステムが導入された後は、現行の予防接種後副反応報告あるいは、別の報告システムを構築して副反応を収集し、このファイルに入力することにより、これまでのワクチンとの比較ならびに新しいワクチンの副反応解析が容易になると考えられた。[多屋馨子、岡部信彦]

１－IV－７．熱帯病･寄生虫症治療のための国内未承認薬の確保･供給

平成 16 年度から開始された創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「熱帯病･寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究」班（主任研究者:名和行文）の主要な活動として、熱帯病や寄生虫症に対する治療薬剤で、国内で認可されていないが必要なものを許可を得て輸入し､全国 22 ケ所の保管機関に配付し、それらの機関を通じて薬剤入手を可能にする体制を構築し、運営してきた。そして、これらの国内未承認薬へのアクセスを容易にすることを目的に、研究班のホームページを充実させた。また、平成 16 年度には医療従事者を対象とした研修会「輸入感染症・寄生虫症診療の最前線」を開催した。

平成 14 年度に発行した「寄生虫症薬物治療の手引き 2003 年改訂第 5 版」については、その後数回にわたり小規模な改訂を行い、研究班のホームページから PDF 版でダウンロードできるようにしたが､現在「改訂第 5.4 版」に更新されている。[木村幹男、日谷明裕、宮村和夫]

１－V．病原体等の研究

１－V－１．日本脳炎ウイルス

（１）日本脳炎ウイルス自然感染率の検索

日本脳炎ウイルス自然感染率の検索のために、血清銀行の血清および宮崎県で採取された血清を用いて日本脳炎ウイルス非構造蛋白質である NS1 に対する抗体保有率を検索した。その結果、2001 年に採血された宮崎県、福岡県、山梨県、長野県、愛知県、秋田県、福島県、山形県の住人の NS1 に対する抗体保有率は、全体で約 4%であった。[新井智、早川丘芳、丹生隆、小西英二（神戸大)、山本正悟(宮崎衛研)、多屋馨子、岡部信彦]

（２）ブタとニワトリが近接して飼育されている環境での日本脳炎ウイルス感染状況の検索

ブタおよびニワトリが非常に近接して飼育されている環境で、ブタおよびニワトリでの日本脳炎ウイルス感染状況の推移を調査した。その結果、ニワトリもブタもともに感染は確認できたものの、感染ウイルス量は微量でウイルス分離できる量ではなかった。[新井智､多屋馨子、岡部信彦、大竹正剛(静岡中小試験場)、岩澤敏幸(静岡中小試験場)、堀内篤(静岡中小試験場)、池谷守司(静岡中小試験場)、鈴木滋(静岡中小試験場)、高崎智彦(ウイルス第一部)、沢辺京子(昆虫医科学部)]

（３）蚊媒介性ウイルスのベクター要求性の解明と創薬探索に関する研究

蚊によって媒介されるウイルスのベクターステージの

生物学的意義およびウイルスライフサイクルにおけるベクターの重要性とウイルス生存への影響を解析した。解析には、日本で家畜に使用されている日本脳炎ウイルス生ワクチン株とその親株を用いた。ワクチン株３株、親株２株の合計５株の全塩基配列を決定した。塩基配列からワクチン株に共通のアミノ酸変異はわずかに１カ所のみで、1 アミノ酸の変異が病原性やベクター内での増殖に影響を与えている可能性が示唆された。 [新井智、高崎智彦(ウイルス第一部)、多屋馨子、辻正義(酪農大)、石原智明(酪農大)、倉根一郎(ウイルス第一部)、岡部信彦]

１－V－２．風疹ウイルス

（１）国際的動向を踏まえた体外診断薬の品質管理に関する研究

厚生労働科学研究費補助金医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業（竹森班）の研究協力として、風疹抗体検出キットの品質管理に関する研究を行った。風疹抗体測定において赤血球凝集抑制試験，酵素免疫法、ラテックス免疫比濁法による成績を比較し、赤血球凝集抑制試験の抗体価を基準とした場合の他法における測定値の評価の目安が得られた。[佐藤弘，多屋馨子，逸見佳美，岡部信彦，竹森利忠（免疫部）]

１－V－３．ダニ媒介性疾患関連病原体の解析および疫学調査

ダニによる刺咬後、熱症状を呈するダニ媒介性不明熱疾患の疫学調査および解析を目的として、ダニ媒介性疾患の疫学調査を実施した。疫学調査地域は、ダニ媒介性疾患の日本紅斑熱の存在が確認されている島根県宍道湖周辺を対象とした。調査対象は、バベシア原虫、エルリキア、およびその他ダニによって媒介される可能性のある病原体を対象とした。その結果、宍道湖周辺の野鼠にバベシア原虫およびエルリキアなどの感染が確認された。[新井智、田原研司(島根県環境研)、板垣朝夫(元：島根県環境研)、辻正義(酪農大)、石原智明(酪農大)、岡部信彦]

１－V－４．エンテロウイルス

（１）エンテロウイルスの同定法の検討

無菌性髄膜炎および不明発疹症の患者から得られた臨床検体からエンテロウイルスの分離同定および遺伝子診断を行うとともに、エンテロウイルス検出同定法の検討を行った。

静岡県と宮崎県の患者から分離同定したエコー16 型 24 株について、ウイルスゲノムの塩基配列の比較を行った。[荒木和子、多屋馨子、元明秀成(宮崎県衛生環境研究所)、岡部信彦]

（２）PCR 法によるアデノウイルス血清型の同定

アデノウイルスの分離、同定には時間がかかるため、簡便で感度、精度とも高い検査法の開発が要求される。昨年に引き続き、PCR-制限酵素切断法(REA)およびマルチプレックス PCR 法による血清型同定の試みを継続している。今回は、アデノウイルス眼感染症を迅速に診断するため、分離頻度の高い、アデノ３、７、８、１９、３７型に特異的なプライマーを作成し、マルチプレックス PCR 法により、一回の PCR 増幅のみで高精度な血清型同定法を開発した。[アディカリ　アルンクマー、ウルミラ　バニク、向山淳司、松野重夫、稲田敏樹、岡部信彦]

１－VI. 学校等におけるウイルス性集団発生の防止法の確立に関する研究

日本学術振興会科学研究の研究班として、学校で集団発生を起こし、社会的に問題となっているノロウイルスの防止策に取り組んだ。[西尾治、藤本嗣人(兵庫県立健康環境科学研究センター)]

１－VII. 局在性付着大腸菌の血清型と *eae* 遺伝子型について

わが国で下痢症患者または健常者から、またタイ国で患者から分離された局在性付着大腸菌の血清型と付着性に直接関与しているインチミンをコードしている *eae* 遺伝子の遺伝子型を調べた。遺伝子型は PCR の増幅産物を用いた Heteroduplex Mobility Assay (HMA)法で行った。わが国で分離される大腸菌は古典的な血清型に属するものが少ないこと、H 血清型と *eae* 遺伝子型に相関があることがわかった。[伊藤健一郎、山﨑貢（愛知県衛生研究所)、森屋一雄･諸石早苗(佐賀県衛生薬業センター)、八柳潤（秋田県衛生科学研究所)、倉園貴至（埼玉県衛生研究所)、蛭田徳昭（横須賀市衛生試験所)、Orn-Anong Ratchtrachenchai（タイ国保健研究所）]

１－VIII．リアルタイム PCR (SmartCycler)による迅速診断法の開発

１－VIII－１．大腸菌

EPEC及びEHECの局在性付着に関する *eae*遺伝子、腸管凝集性大腸菌の凝集性付着に関する *aggR* 遺伝子及び耐熱性腸管毒素 *astA* 遺伝子を対象として、TaqMan probe によるリアルタイム PCR 法を開発した。それぞれのプローブを異なる蛍光色素（FAM/VIC/ROX）で標識することにより、１本のチューブで３種類の遺伝子を同時に検出することができる。[伊藤健一郎]

１－VIII－２．チフス菌・パラチフス菌の薬剤耐性の検査

サイクリングプローブ法を用いて *gyrA* の変異部分にプライマーを設計し、それぞれの変異を明確に区別できる方法を確立した。サイクリングプローブ法は、RNAとDNAのキメラプローブとRNase Hを組み合わせた検出法で、遺伝子断片の特定配列を効率よく検出できる。

最初に野生株と同じであるかをスクリーニング試験して、蛍光が上昇すれば同じと判定できる。上昇しない場合は変異があることを示し、変異の部位の塩基の種類を判別する確認試験を行う。最近分離され細菌第一部に送付されたチフス菌・パラチフス菌を試したところ、シーケンスの結果及び薬剤耐性試験の結果と完全に一致した。[伊藤健一郎・広瀬健二(細菌第一部)]

１－VIII－３．レジオネラ菌

レジオネラ属に共通する16S ｒRNA領域と *mip*遺伝子の *Legionella pneumophila* に特異的な配列を対象として、TaqMan probe によるリアルタイム PCR 法を開発した。それぞれのプローブを異なる蛍光色素（FAM/ROX）で標識することにより、１本のチューブで２種類の遺伝子を同時に検出することができる。[伊藤健一郎、倉文明・前川純子(細菌第一部)、佐藤卓（岩手県環境保健研究センター）]

２．サーベイランス業務

２－I．感染症発生動向調査事業の実施および情報の還元

２－I－１．病原体情報の収集と月報・年報の作成

病原微生物検出情報事務局において、病原体情報センター業務として、オンラインによる報告票の収集、電算機処理、情報ファイル作成、作表、月報および年報の作成、配布に関する一連の作業が継続的に実施された。

(1)情報処理：2004 年 1 月－2004 年 12 月の検出病原体報告数は、病原菌については地研・保健所 9,792、検疫所 2,485、都市立感染症指定医療機関 500 であった。ウイルス（リケッチア，クラミジアを含む）に関しては 13,032 件の検出報告をうけた。

(2)月報の編集：本年度中に病原微生物検出情報月報が 12 号（第 25 巻）および第 25 巻索引が編集・発行された。また、インターネットを介して毎月、病原微生物検出情報が国内外に提供された。

(3)年報の編集：病原体情報に関する年報は、欧文による 2000 年年報が、Jpn. J. Infect. Dis., 2001 Vol. 54 Supplement として編集・発行された。[山下和予、齊藤剛仁、赤塚昌江、加藤信子、野地元子、徳永真里子、木村幹男、ポール・キツタニ、岡部信彦]

２－I－２.感染症疫学情報の解析に基づく特集記事の作成

毎月１回の編集委員会で、特定の感染症を患者発生情報と病原体情報の両面から分析し、「病原微生物検出情報」の特集記事を作成した。掲載された記事は、2004 年４月号：アデノウイルスと咽頭結膜熱、5 月号：食品媒介寄生蠕虫症、6 月号：腸管出血性大腸菌感染症、7 月号：HIV/AIDS、8 月号：性器クラミジア感染症、9 月号：手足口病、10 月号：溶血性レンサ球菌感染症、11 月号：インフルエンザ、12 月号：水痘、2005 年 1 月号：ロタウイルス、2 月号：髄膜炎菌性髄膜炎、3 月号：百日咳である。[山下和予、齊藤剛仁、赤塚昌江、加藤信子、徳永真里子、野地元子、木村幹男、多田有希、岡部信彦、谷口清州、重松美加、多屋馨子、伊藤健一郎、西尾治、井上栄、渡邊治雄（副所長・細菌第一部）、寺嶋淳（細菌第一部）、池辺忠義（細菌第一部）、高橋英之（細菌第一部）、廣瀬健二（細菌第一部）、倉根一郎（ウイルス第一部）、岸本寿男（ウイルス第一部）、安藤秀二（ウイルス第一部）、井上直樹（ウイルス第一部）、宮村達男（ウイルス第二部）、田代眞人（ウイルス第三部）、小田切孝人（ウイルス第三部）、荒川宜親（細菌第二部）、新谷三春

（細菌第二部）、蒲地一成（細菌第二部）、遠藤卓郎（寄生動物部）、川中正憲（寄生動物部）、小林睦生（昆虫医科学部）、神山恒夫（獣医科学部）、佐多徹太郎（感染病理部）、石井則久（ハンセン病研究センター）、山本直樹（エイズ研究センター）、石川直子（国際協力室）、中嶋建介（厚生労働省・国際協力室）、山本茂貴（国立衛研）、田中義枝（企画調整主幹）、中谷比呂樹（企画調整主幹）、倉田毅（所長）、吉倉廣（顧問）、中里栄介（厚生労働省）、滝本浩司（厚生労働省）、河村成彦（厚生労働省）、浅沼一成（厚生労働省）、猿田克年（厚生労働省）、田中剛（厚生労働省）]

２－I－３．感染症週報の発行

平成 11 年 4 月施行の「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」、および平成 15 年 11 月施行の一部改正の主旨のもとに、感染症週報の発行を継続しており、当感染症情報センターのホームページ上に PDF 版と HTML 版とで掲載している。

感染症週報には「発生動向総覧」以外に、「注目すべき感染症」としてその時々で問題となる感染症を 1～2 件取り上げ、詳細な解説を行い、「病原体情報」として、その時々で問題となる感染症の患者からの病原微生物検出状況を掲載している。

また、「速報」においては、主に地方衛生研究所から投稿される、国内で問題となったアウトブレイクに関する最新の記事などを掲載し、成田空港検疫所の協力で「海外感染症情報」のコーナーを設けて、最新の海外感染症に関する記事を紹介し、「感染症の話」においては所内外の協力を得て、感染症法に規定された疾患、あるいはそれ以外の疾患も取り上げて解説を行い、「読者のコーナー」においては、外部からの問い合わせのあった質問につき、掲載する価値があると判断されたものを多くの読者にも公開している。[岡部信彦、木村幹男、多田有希、安井良則、谷口清州、多屋馨子、重松美加、森兼啓太、齋藤剛仁、菊池仁(成田空港検疫所)、石井俊也（成田空港検疫所)、大竹由里子、松岡静香、加藤信子、中里篤、FETP 研修生 5 期＆6 期、砂川富正、中島一敏、大山卓昭、田中政宏]

２－I－４．感染症発生動向調査事業年報 CD-ROM 版データ集（2003/1-2003/12）の発行

感染症法が施行されてからの感染症発生動向調査の確定データを迅速に還元するためには、時間のかかるコメントの作成を最小限にしてデータ集の形で発行するのが望まれる。このため、利用者がデータ処理をできるようにエクセルの表を中心として収載した CD-ROM 版(2003/1-2003/12) を平成 17 年 3 月に発行した。疾患の詳細分類、推定感染地毎の分類を行い、データの経年変化も収載した。[岡部信彦、木村幹男、谷口清州、多田有希、多屋馨子、安井良則、重松美加、FETP 研修生 5 期&6 期、加藤信子、進藤義宏、中里篤]

２－I－５．感染症発生動向調査事業年報 1999 年(4～12 月)・2000 年（冊子版）の編集

感染症法発生動向調査に基づく患者情報および病原体情報は、その迅速な還元を目的に、感染症法施行以降は CD-ROM 版データ集の発行を行っているところであるが、冊子での保存も望まれていた。このため、厚生労働省結核感染症課発行による「感染症発生動向調査事業年報 1999 年(4～12 月)・2000 年」冊子版の編集を行った。今後 2001 年以降についても順次発行予定である。[岡部信彦、木村幹男、多田有希、加藤信子、中里篤、大竹由里子、松岡静香、進藤義宏、安井良則、山下和予、赤塚昌江、齋藤剛仁、徳永真里子、野地元子]

２－I－６．インターネット等による病原体情報の提供

(1) 病原体情報報告機関に対して、速報を還元するために主要病原体の動向を WWW-WISH の電子会議室の病原体情報フォーラムにアップロードした。また WWW-WISH の個別情報システムによる還元情報速報閲覧のために新しいデータのアップロードを毎日行った。

(2) IDSC ホームページの「病原微生物検出情報」のページに、オンラインで随時報告されるデータの追加・変更を反映させた速報グラフを更新・掲載した。地方衛生研究所などからの速報記事を随時掲載した。また、累積データに基づく統計表とグラフおよび病原体名、疾病名から検索できる月報特集記事索引を毎月作成し更新・掲載した。

(3) インフルエンザシーズン中、ウイルス第三部へのインフルエンザウイルス情報の転送と、WHO の FluNet

への日本の週別型別分離数データのアップロードを毎週行った。

(4) 地方衛生研究所と検疫所の検査情報担当者メーリングリストを整備し、毎月の予定についての連絡、バージョンアップやインフルエンザ検査担当者やSARS検査担当者への連絡に活用した。[齊藤剛仁、赤塚昌江、徳永真里子、野地元子、加藤信子、山下和予]

２－Ⅱ．感染症発生動向調査のシステムの改善

２－II－１．感染症検査情報収集還元オンラインシステムの改良

平成 12 年 1 月より運用を開始した感染研－地研・検疫所間の感染症検査情報（病原体情報）コンピュータオンラインシステム Version4 について、不具合修正と機能追加のためプログラムの改善を行った。2004/05 インフルエンザシーズン用抗血清コードを追加した Version4.70 を平成 16 年 10 月に、さらに検出病原体コードなどを追加修正した Version4.71 を平成 17 年 1 月より運用開始した。またフルバージョンの CD-ROM 版マニュアルを作成し各報告機関に配布した。[山下和予、齊藤剛仁、徳永真里子、加藤信子、赤塚昌江]

２－II－２．感染症法に基づく発生動向調査の報告規準改定に関する技術的支援業務

2004 年 11 月の感染症法改定に続き､最新の疾病情報、検査診断技術の進歩を反映し、より的確に患者発生動向を把握するための報告基準改正を実現するために、各疾患別に再評価を実施し、科学的、医学的見地からの情報提供、および提言を実施した。[岡部信彦、谷口清州、重松美加、田中政宏、木村幹男、多田有希、多屋馨子、新井智、山下和予]

２－III. 感染症発生動向調査事業に関する業務

２－III－１．感染症発生動向調査、各種疾患別情報および新着情報、鳥インフルエンザ関連緊急情報、インフルエンザ Q&A などのインターネットホームページへの掲載、更新、維持

感染症発生動向調査の解析結果、時系列グラフ、地図グラフをホームページ上に掲載し、定期的に更新、維持管理を行った。各種疾患別情報および新着情報、鳥インフルエンザ関連緊急情報、およびインフルエンザ Q&A などのページについても内容を検討し、HTML および PDF ファイル等の作成、維持管理を行った。[大竹由里子、松岡静香、安井良則、重松美加、森兼啓太、田中政宏、多田有希、木村幹男、加藤信子]

２－III－２．海外感染症情報の収集と評価

WER (WHO)、MMWR (米国 CDC)、Eurosurveillance Weekly (EU)、CDR Weekly (英国)、SCIEH Weekly Report (スコットランド)、CDI(豪州)、Lancet、N. Engl. J. Med.、 J. Infect. Dis.、Clin. Infect. Dis.、 J. Travel Med.などや、電子メールでの ProMED、Outbreak Verification List (WHO、参加機関のみ) や TravelMed (国際旅行医学会、会員のみ)、あるいは、その他種々のウエブページ上での感染症情報を収集･評価し､必要な情報を関係機関に提供した。[岡部信彦、木村幹男、谷口清州、多屋馨子、多田有希、新井智、安井良則、重松美加、森兼啓太、大日康史、田中政宏、大山卓昭、砂川富正、齊藤剛仁、中島一敏、ポール・キツタニ、FETP 研修生 5 期＆6 期]

２－IV. 感染症流行予測調査事業に関する業務

２－IV－１．感染症流行予測調査報告書の作成

厚生労働省健康局結核感染症課及び感染研関係各部と共同で，平成 15 年度（2003 年度）報告書を作成した。

２－IV－２．感染症流行予測調査結果速報の発信

平成 16 年度感染症流行予測調査のうち，A) インフルエンザ HI 抗体保有状況を 11 月 26 日から 12 月 24 日まで計 3 回，B) 全国日本脳炎ブタ情報 (HI 抗体保有状況) を 6 月 30 日～12 月 1 日まで計 17 回速報としてホームページ上に公開した。C)麻疹、風疹、MMR ワクチンの年齢別接種率をホームページ上に公開した。

２－IV－３．感染症流行予測調査実施要領の作成

厚生労働省健康局結核感染症課と共同で，平成 16 年度版を作成した。

２－IV－４．データバンク保存

２－IV－５．オンライン入力システムの改訂、検証

都道府県からの結果送付用のシステムおよび集計システムを改訂、検証した。

２－IV－６． 事務局業務

厚生労働省健康局結核感染症課，都道府県，都道府県衛生研究所，感染研関係各部との密接かつ円滑な連携を保つための業務を行った。[多屋馨子，新井智，佐藤弘，北本理恵，早川丘芳、丹生隆，荒木和子，岡部信彦]

２－V. サーベイランス事業の支援

２－V－１．院内感染対策サーベイランス事業の支援

厚生労働省事業として行われている「院内感染対策サーベイランス」を支援する、厚生労働科学研究費補助金「薬剤耐性菌の発生動向のネットワークに関する研究」の分担研究班:「院内感染サーベイランスにおける解析結果の還元・提供に関する研究」および「手術部位感染症における効果的な感染症発生動向の把握と感染症リスク因子解析に関する研究」に対して横断的に担当し、解析結果のフィードバックに関するアンケート調査や、入力支援・データ提出・解析・フィードバックの流れを一元的に管理できるソフトウエアの開発に参画した。[森兼啓太、谷口清州、岡部信彦、荒川宜親（細菌第二部)、小西敏郎（NTT 東日本関東病院)、針原康（同)、フィンガルリンク株式会社、片岡穣（厚生労働省医政局指導課)、溝口達也（同）]

２－V－２．国内感染症集団発生事例に対する調査支援

-病原性大腸菌 Ｏ１５７感染症広域集団発生事例（岡山県、香川県、石川県、福井県）
-施設内ＶＲＥ集団発生事例（山口県山口市）
-施設内ＶＲＥ集団発生事例（山梨県巨摩郡）
-施設内ＶＲＥ集団発生事例（鳥取県米子市）
-施設内ＶＲＥ集団発生事例（京都府京都市山科区）
-風疹の地域的流行事例（鹿児島県徳之島）
-施設内ノロウイルス感染症集団発生事例（広島県福山市）

[森兼啓太、田中政宏、砂川富正、中島一敏、多屋馨子、谷口清州、岡部信彦]

２－V－３．地方自治体における麻疹対策強化活動の支援

埼玉県さいたま市保健福祉局による、麻疹対策強化活動「はしかゼロ・マーチ」運動（2004 年 10 月開始）に、同市対策会議の委員として麻疹サーベイランスの強化活動に関する協議運営に協力支援した。[田中政宏]

-沖縄はしかゼロプロジェクトの特別委員として全数報告制度などの運用に協力支援した。

[中島一敏、登坂直規、砂川富正]

２－V－４．国際的な感染症対策の枠組みに係わる技術支援

世界保健機関により行われている国際保健規則(IHR)の改正に関連して、その条文を技術的に検討し、作業部会にての議論を行い、また政府間調整会議で議論を行った。またバイオテロ対策やパンデミック対策において、G7+メキシコの GHSAG の会議に参加し、技術的な支援を行った。[田中政宏、重松美加、中島一敏、大日康史、谷口清州]

２－VI. 感染症情報の収集、評価及び予防対策の策定

２－VI－１．生物学的製剤に起因する感染症に関する安全性関連情報収集業務

移植片、輸血、タンパク製剤など生物由来の医療関連材料によると考えられる感染症を、早期に把握し、情報提供することにより、健康被害の拡大を防ぐことを目的とした情報収集と、そのためのシステム構築を開始。昨年度に引き続き、2000 年以降の海外の文献情報を遡り検索し、関連情報をデータベース化した。2003 年 9 月以降は、報道機関ニュースと、各国および国際的機関の公式情報を毎日、国内外の文献情報を定期的に収集し、生物学的製剤との関連を検討評価し、データベースに蓄積した上で、事務局として、生物学的製剤由来感染症評価検討委員会へ提出し、その調査、対応の緊急性を評価し、関係諸機関へ報告した。また、情報検索および蓄積・検索データベースのシステム開発に関与し、試験稼働を開始した。[谷口清州、重松美加、多屋馨子、柴田博子]

２－VI－２．SARS に対する情報収集と対策

SARS の再流行を懸念し、引き続き WHO、CDC を始

め各国が随時発出する情報を常時監視し、情報収集とその評価、および適宜日本語に翻訳し、迅速な提供に努めた。感染症情報センターのホームページには、医療従事者のみならず国民からのニーズの高い「SARS に関するQ&A」や、検査室対応をはじめとした各種指針、および前述の翻訳文（約 100 文書）を掲出し、広く情報提供に努めた。また、所内および他研究所における実験室内感染の防止のための指針作りや、緊急時連絡体制の確立に対し、助言と協力を提供した。リスクコミュニケーションとして、情報センター長を中心に報道機関への毎週、あるいは隔週のブリーフィングを行い、社会への正確で迅速な情報の提供と、科学的知識の普及に努めた。[重松美加、森兼啓太、田中政宏、大日康史、多田有希、安井良則、松岡静香、FETP5 期＆6 期、砂川富正、中島一敏、ポール・キツタニ、大山卓昭、谷口清州、岡部信彦]

２－VI－３．トリインフルエンザの汎アジア的発生に対する情報収集とヒト流行への予防的対策

2003 年末からアジアで発生している鳥インフルエンザ（H5N1）の、ヒト感染が確認されたベトナムにおける疫学情報や実験室診断に関する情報収集を行い、現地担当者と情報交換を実施し、感染拡大防止の対策などの情報提供、技術支援を行った。WHO、OIE（国際獣疫事務局)や各国衛生主管部局より発信された情報を整理し、随時日本語に翻訳（約 150 文書）して情報センターのホームページに迅速に掲出し、国民の情報ニーズに対応するとともに、定期的なメディア・ブリーフィングの実施など、リスクコミュニケーションの向上を図った。並行して、日本で鳥インフルエンザからのヒトでのパンデミック発生に備えた対応計画の策定のための情報収集と、既存の各国の計画の評価を行った。[重松美加、森兼啓太、田中政宏、大日康史、砂川富正、中島一敏、ポール・キツタニ、大山卓昭、FETP5 期＆6 期、谷口清州、岡部信彦]

２－VI－４．インフルエンザ流行期におけるインフルエンザ総合対策（強化サーベイランス、電話、メール問いあわせおよびウェブ情報の提供）

厚生労働省インフルエンザ総合対策の一環として、インフルエンザの発生動向調査に基づく注意報警報システム、インフルエンザ様疾患の迅速報告システムとインフルエンザ関連死亡迅速把握システムを運用、解析、情報提供するとともに、インフルエンザのＱ＆Ａを更新し、医療従事者以外の要望の強い情報も提供した。インフルエンザホットライン業務を 12 月から 3 月までの平日日中時間帯に実施した。[岡部信彦、谷口清州、多屋馨子、重松美加、森兼啓太、田中政宏、大日康史、松岡静香、木村幹男、多田有希、安井良則、新井智、荒木和子、大山卓昭、砂川富正、中島一敏、FETP 研修生 5 期＆6 期]

３．国際協力関係業務

３－I. 国際的調査協力及び支援

３－I－１. 国際的感染症集団発生事例に対する調査協力

（１）アジアにおける鳥インフルエンザの感染拡大をうけて、ベトナムを統括する WHO から現地情報収集・解析にあたるスタッフ派遣の要請があり、これに応じて約１ヶ月ずつ６名をWPROへ、1名をWHO本部へ派遣し、感染拡大防止活動へ協力した。[山口亮、神垣太郎、松舘宏樹、三村敬司、太田正樹、森山和郎、小林幹子]

（２）中国における SARS（重症急性呼吸器症候群）の実験室感染事例に対し、WPRO（国際保健機関西太平洋事務局）からの要請を受けて、国際専門家調査団の一員として、院内感染対策、疫学調査、診断検査法の検証、実験室内バイオセーフティ対策について、北京市および安徽省合肥市、淮南市における調査協力を行った。 [重松美加]

（３）中国におけるポリオ対策の支援のため、国際チームの一員として現地にて技術的な協力を行った。[上野正浩]

３－I－２．大規模災害における国際的支援

（１）2004 年 12 月 26 日にスマトラ沖で発生した大規模地震と、それに続く津波により、タイ、インドネシア、スリランカ、モルジブ、インドなど、周辺の沿岸部を中心に多くの被災民の発生を含む深刻な被害が生じた。特に、被害の大きかったバンダアチェ州（インドネシア）の被災民救済のために、日本政府が派遣した国際緊急救援隊の医療チームへ参加し、長崎大学熱帯医学研究所と共に、被災地における今後の感染症の流行可能性の調査と評価を行い、今後の対策に関して現地州政府、インド

ネシア保健当局、WHO および関連国際機関への情報提供および提言を行った。
[田中政宏、重松美加、高木正洋（長崎大学熱帯医学研究所)、砂原俊彦（長崎大学熱帯医学研究所)、石田正之（長崎大学熱帯医学研究所）]

（２） 2004 年スマトラ島沖地震・津波災害後の感染症予防対策を実施しているＷＨＯチームに対し、WHO の要請を受けて、インドにおける WHO の南東アジア地域事務局（SEARO）およびジュネーブにおける WHO 本部(HQ)で各１名ずつ、感染症対策の短期アドバイザーとしての技術的・専門的支援を行った。[ポール・キツタニ、小林幹子]

（３） 2005 年 3 月、各省庁からの 33 名で構成された、スマトラ沖大地震及びインド洋津波被害政府調査団に参加し、タイ及びスリランカを訪問、感染症関連のアセスメントを行い、日本の長期支援に関する提言を行った。[中島一敏]

３－II ．国際研修

３－II－１．感染症管理指導者研修

Immunization schedule and measles/rubella control in Japan.2004.2.5.
[多屋馨子]

３－II－２．海外からの来所者への感染症情報センターの活動および感染症対策に関する情報提供と広報

国立国際医療センター海外研修生、JICA 留学生、各国保健医療および政府関係者などの来所時に、感染症情報センターの活動、国内感染症の発生動向、国内および国際連携による感染症対策の現状、SARS を含む国際感染症対策、パンデミック対策などについての情報提供、広報業務をおこなった。[岡部信彦、谷口清洲、重松美加、森兼啓太、田中政宏、砂川富正、中島一敏、木村幹男、多田有希、多屋馨子、齋藤剛仁、山下和予]

４．研修業務

４－I. 感染症危機管理およびそれに関わる人材養成（実地疫学専門家養成プログラム）に関する業務

４－I－１．全般実施状況

FETP の実施は 6 年目となり、平成 16 年 4 月、6 期生 9 名（山口亮、三村敬司、松舘宏樹、森山和郎、神垣太郎、登坂直規、小林幹子、鈴木葉子、太田正樹）を迎えた。平成 17 年 3 月には 5 期生（上野久美、上野正浩、増田和貴）が研修終了した。また平成 13 年度から Dr John Kobayashi （Washington University, 米国）に長期コンサルタントを依頼し、感染症疫学研究、地方自治体との積極的疫学調査などが充実した。

４－I－２. 感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 16 年度において、実地疫学専門家養成プログラム（FETP）は、以下の感染症集団発生事例に対して、地方自治体からの要請を受けて、調査協力を行った。

-病原性大腸菌 Ｏ１５７感染症広域集団発生事例（岡山県、香川県、石川県、福井県）
-施設内ＶＲＥ集団発生事例（山口県山口市）
-施設内ＶＲＥ集団発生事例（山梨県巨摩郡）
-施設内ＶＲＥ集団発生事例（鳥取県米子市）
-施設内サルモネラ菌感染症集団発生事例（茨城県つくば市）
-原因不明の急性脳症集団発生事例（新潟県、秋田県、山形県）
-施設内ＶＲＥ集団発生事例（京都府京都市山科区）

４－I－３．研修活動

FETP のトレーニングの一環として、初期導入研修（ John Kobayashi, Richard Dicker, Piyanit Tharmaphornpilas；4 月）とともに、国際的なインフルエンザ予防対策および SARS 対応（Timothy Uyeki； 5 月)、食品・水を介する感染症（Robert Qick；8～9 月)、院内感染（Mike Bell；10 月)、サーベイランスの理論と実際（Julia Fitzner, Conchy Roces；3 月）に関するセミナーを開催した。

４－I－４．教育研修経験

教育経験のための研修として、全国感染症危機管理研修会での講義、地方自治体の感染症危機管理研修会（埼玉県、東京都、神奈川県、鹿児島県、新潟県、熊本県、青森県、岩手県、秋田県、三重県）での講義・討論をおこなった。

４－I－５．感染症疫学研究

平成 15 年度に研修終了した 5 期生が以下の長期プロジェクト研究発表をおこなった。

-「感染症発生動向調査のデータを利用した麻疹流行の予測」（上野久美）

-「2004 年京都府における鳥インフルエンザ事例の疫学調査」（上野正浩）

-「腸管出血性大腸菌感染症（ＥＨＥＣ）における感染危険因子の検討」（増田和貴）

４－I－６．感染症サーベイランス活動

毎週ごとに収集されるサーベイランス報告対象疾患の情報を監視・解析し、必要に応じて地方自治体とともに公衆衛生的介入を実施した。

-レジオネラ症増加に対する注意喚起

-ＨＩＶ／ＡＩＤＳ発生動向に基づいた提言

-風疹症例増加に対する予防接種推奨とそれに伴う先天性風疹症候群の対応、等

４－I－７．感染症情報の還元

感染症サーベイランス、感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力などで得られた情報を病原体検出情報（月報)、感染症週報などを通じて一般住民、公衆衛生従事者などに還元した。また、インフルエンザ流行時期（10 月～3 月）には、一般住民からのインフルエンザに関する問い合わせ、公衆衛生・医療関係者からの SARS、鳥インフルエンザ等に関する問い合わせに対応した。[岡部信彦、FETP5 期＆6 期、感染症情報センタースタッフ一同]

４－II. 国立保健医療科学院による研修の実施

４－II－１．特別課程ウイルスコース

国立保健医療科学院による特別課程ウイルスコースとして、平成 16 年 9 月 14 日から 10 月 15 日に感染研村山分室で研修会を実施した。ウイルス学、免疫学および分子疫学等について体系的な理解と新しい知見・ウイルス診断技術を習得することを目的とし、地方衛生研究所でウイルスに関する業務につく 25 名が参加した。本研修は、感染症情報センターをはじめ、感染研各部室、厚生労働省結核感染症課、愛媛県立衛生環境研究所、静岡県環境衛生科学研究所、群馬県衛生研究所、鹿児島県環境保健センター、兵庫県立健康環境科学研究センター、広島市衛生研究所の協力を得て遂行された。[西尾治、伊藤健一郎]

４－II－２．特定研修、新興再興感染症技術研修

国立保健医療科学院による特定課程新興再興感染症技術研修として、平成 16 年１１月８日から１１月１２日に、感染症研究所村山分室で研修を行った。本研修は、地方衛生研究所において細菌検査業務に従事するものを対象として、細菌感染症の現状に対応した新しい技術及び知識の習得を目的としている。①レジオネラ②細菌性呼吸器感染症③ボレリア・レプトスピラを中心として、５日間行った。参加者は、地方衛生研究所１１名・中核市保健所４名の合計１５名であった。 [伊藤健一郎・西尾治、川端寛樹・小泉信夫・池辺忠義・高橋英之・倉文明・前川純子(細菌第一部)、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、原田誠(名古屋検疫所名古屋空港検疫支所)、黒木俊郎・鈴木理恵子・渡辺祐子(神奈川県衛生研究所)、河野喜美子(宮崎県衛生研究所)、松﨑充宏（日本海事検定協会理化学分析センター食品衛生チーム）]

４－III. 危機管理研修会、健康危機管理保健所長等研修会

４－III－1．危機管理研修会

平成 16 年 9 月 16 日～17 日､内閣府食品安全委員会、厚生労働省各部局、農林水産省の協力の下、今年度は、鳥インフルエンザの対策、感染症ネットワーク、種々のアウトブレイク調査報告などを中心に、地方自治体職員約 120 名の参加を得て、平成 16 年度の感染症危機管理研修会を行った。[感染症情報センタースタッフ]

４－III－２．健康危機管理保健所長等研修会

第１回から第４回健康危機管理保健所長等研修会において、ＳＡＲＳ，鳥インフルエンザ、ウエストナイル熱および脳炎など、新興・再興感染症の動向を中心とした感染症の現状と対策、対応について講義を行った。[谷口清州、重松美加]

４－IV. 希少感染症診断技術向上事業に関する業務

平成１６年度は対象疾患として、食品媒介性細菌感染症、赤痢アメーバ、クラミジア、破傷風、ガス壊疽、E型肝炎、ポリオ、高病原性鳥インフルエンザ、SARS が取り上げられた。研修会は平成１７年２月、当感染研で２日間開催され、５６地研が参加した。それぞれの疾患は細菌第一部、細菌第二部、獣医科学部、ウイルス第一部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、寄生動物部、感染症情報センターの協力により行われた。また、本事業の一環として、レファレンスセンター（カンピロバクター、エンテロウイルス、レジオネラ、寄生虫、アデノウイルス、ジフテリアおよび百日咳、レンサ球菌）の運営が国立医薬品食品衛生研究所、東京都健康安全研究センター、感染研ウイルス第二部、細菌第一部、細菌第二部、寄生動物部、感染症情報センターおよび各地方衛生研支部の協力でなされた。[稲田敏樹、橋戸円、倉根一郎（ウイルス第一部）]

４－V. その他の研修の実施

４－V－１． 国立感染症研究所安全連絡協議会研修

風疹、プール熱等の現状と対応について.2004.9.28. [多屋馨子]

４－V－２．インフルエンザ研修

厚生労働省血液対策課主催の都道府県インフルエンザワクチン担当者会議において、インフルエンザを含む感染症の動向について、研修を実施した。 [多屋馨子]

４－V－３．検疫所による感染症検査技術研修会の実施

医薬食品局検疫所業務管理室の依頼により、検疫所を対象とした平成１６年度感染症検査技術研修会に参加した。６月３０日から７月１日にかけて横浜検疫所輸入食品・検疫検査センターで開催された。参加者は空港検疫所（６）、輸入食品・検疫検査センター（２）を含む検疫所から派遣された 12 名であった。担当したのは赤痢菌の迅速診断法で、リアルタイム PCR の実習と講義を行った。[伊藤健一郎、原田誠(名古屋検疫所名古屋空港検疫支所)]

４－V－４．バイオセーフティ研修

バイオセーフティ室を支援する形で、中国における SARS 実験室内感染を中心とした事例を踏まえた講義を行った。 [重松美加]

４－V－５．各地院内感染、SARS、パンデミック対策などのセミナー

[岡部信彦、感染症情報センタースタッフ一同]

５．その他

５－I. 情報提供及び広報活動

５－I－１．電話、メールによる問い合わせ業務

予防接種、人獣共通感染症、SARS、インフルエンザ、鳥インフルエンザ、風疹、麻疹、ポリオ、下痢症ウイルス等、その他感染症に関する電話、メールによる問い合わせに対応した。年間の問い合わせ件数は一人当たり電話約 500 件、メール約 50 件にのぼった。[岡部信彦、谷口清洲、重松美加、森兼啓太、田中政宏、木村幹男、多田有希、安井良則、多屋馨子、新井智、佐藤弘、稲田敏樹、伊藤健一郎、西尾治]

５－I－２.来所者への感染症情報センターの活動および感染症対策に関する情報提供と広報

国内生徒、学生の修学旅行や社会見学、などの来所時に、感染症情報センターの活動、国内感染症の発生動向、国内および国際連携による感染症対策の現状、SARS を含む国際感染症対策、パンデミック対策などについての情報提供、広報業務をおこなった。[岡部信彦、谷口清洲、重松美加、森兼啓太、田中政宏、砂川富正、中島一敏、木村幹男、多田有希、多屋馨子]

５－I－３．メディアへの対応

通常の場合は、情報センター内において担当者を決め、取材等の対応に応じている。しかし、SARS、鳥インフルエンザ、原因不明急性脳症など、社会的影響の大きい疾患や、集団発生に対しては、多数のメディアからの取材申し込みへの対策として、昨年度の SARS 対応時の体制を継続し、情報センター・メディア感染症情報交換会（仮称）を１週間あるいは２週間に１回のメディアに対する情報提供、解説、意見交換を行った。感染症情報センターが、センター長を責任者として、あくまでも感染症としての付加価値的説明を行う形式をとり、感染研の

公式見解、公式発表、記者会見では無いことを出席希望社（者）に了解して貰った上で、Risk communication の一環として、取材届けを提出してもらい実施した。[岡部信彦、感染症情報センタースタッフ一同]

５－II. 血清銀行に関する業務

５－II－１．血清の保管

感染症流行予測調査事業のため各都道府県において収集された血清の一部を国内血清銀行に受け入れ、保管した。平成 16 年度に受け入れた血清は、計 3,427 本であった。また、平成 16 年職員血清として計 560 本の血清を受け入れ保管した。

５－II－２．研究目的での血清の払い出し

使用申請があった 1 研究に対して計 2,434 本の払い出しを行った。

５－II－３．その他

血清銀行事務局として血清銀行を倫理委員会に申請するための準備を行った。血清銀行運営委員会規程の草案を作成した。

５－II－４．保管血清の管理

[荒木和子、丹生隆、多屋馨子、佐藤弘、新井智、早川丘芳、田中幸江、岡部信彦]

５－III. 急性脳症患者検体の保管に関する業務

平成 16 年 9-11 月に東北地方を中心に複数例の急性脳症の発生があり、その原因としてスギヒラタケの摂食が疑われたが確定はされなかった。感染症の疑いも残されており、検体の散逸を防ぐため厚生労働省の指示により、各県から感染研感染症情報センターに検体が送付収集された。合計、７県 36 名の患者から採取された 189 検体{血清（104)、髄液（27)、便（31)、咽頭拭い液（21)、尿(5)、脳（1)}の保管を行った。[佐藤弘、荒木和子、丹生隆、新井智、多屋馨子、岡部信彦]

５－IV. 予防接種に関する業務

５－IV－１．予防接種情報公開に関する業務

1） 感染症情報センターHP 内に日本の予防接種スケジュール 2004 を公開した。

2） 感染症情報センターHP 予防接種のページを更新した。 [多屋馨子、松岡静香、新井智、岡部信彦]

５－IV－２．日本ワクチン学会に関する業務

ニュースレター事務局業務を行った。著者への連絡、原稿収集、ワクチン関連トピックスを担当し、その原稿を作成した。[岡部信彦、多屋馨子]

５－IV－３．予防接種後副反応・健康状況調査検討会

上記委員として、調査解析に参加した。[岡部信彦、多屋馨子]

５－IV－４．予防接種法政省令改正に関する技術的支援業務

厚生労働省結核感染症課において、健康局長の諮問機関である予防接種に関する検討会の運営を行い、また予防接種法政省令改正に関する技術的支援業務をおこなった。[田中政宏（厚生労働省結核感染症課併任）]

５－V. 感染事故応急対応医師小委員会業務

バイオセーフティ管理の一環として、病原体等曝露事故対応応急マニュアルの作成に参加した。

予防接種に関するマニュアルの作成に参加した。[多屋馨子、谷口清州、木村幹男、岡部信彦、佐多徹太郎（感染症病理部）]

５－VI. 公的機関の委員

（１）厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員（乳肉水産食品部会）の委嘱を国より受けた。[西尾治]

（２）内閣府食品安全委員会専門委員の任命を国より受けた。[西尾治]

６．検査実施状況

	行 政	研 究	合 計
ウイルス分離同定	0	137	137
核酸・抗原検出	0	812	812
血 清 反 応	0	1493	1493
合 計	0	2442	2442

感染症情報センター

氏名	身分	期間	出身
神谷元	協力研究員	H17.3.1-	聖路加国際病院
John M. Kobayashi	客員研究員	H17.3.1-	ワシントン州保健局
川上桂子	協力研究員	H17.2.1-	国立保健医療科学院
日谷昭裕	協力研究員	H17.1.1-	医療法人社団善仁会
松﨑充宏	協力研究員	H16.12.1-	日本海事検定協会
浦島充佳	協力研究員	H16.12.1-	東京慈恵会医科大学
中瀬克己	協力研究員	H16.9.1-	岡山市保健所
加來浩器	協力研究員	H16.9.1-	陸上自衛隊衛生学校
松井珠乃	協力研究員	H16.9.1-	天草中央総合病院
田中毅	協力研究員	H16.9.1-	福岡検疫所
加藤茂孝	客員研究員	H16.8.1-	CDC 客員研究員
森下高行	協力研究員	H16.7.1-	愛知県食品衛生検査所
斉藤章暢	協力研究員	H16.7.1-	埼玉県衛生研究所
荒川香南子	協力研究員	H16.5.1-	無職
田村務	協力研究員	H16.5.1-	新潟県保健環境科学研究所
松永泰子	協力研究員	H16.5.1-	元職員
中村明子	客員研究員	H16.4.1-	東京大学客員研究員
金澤保	客員研究員	H16.4.1-	産業医科大学
長谷川斐子	客員研究員	H16.4.1-	元職員
三村敬司（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	陸上自衛隊
神垣太郎（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	岩手県立磐井病院
山口亮（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	北海道保健福祉部
森山和郎（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	大阪府茨木保健所
鈴木葉子（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	東京女子医科大学
登坂直規（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	会津中央病院
太田正樹（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	札幌市保健福祉局
松舘宏樹（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	岩手県食肉衛生検査所
小林幹子（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	富山県新川厚生センター
奥村順子	協力研究員	H16.4.1-	東京大学大学院
藤井達也	協力研究員	H16.4.1-	三宿病院
逸見佳美	協力研究員	H16.4.1-	陸上自衛隊
島田靖	協力研究員	H16.4.1-	日本医科大学
吉田英樹	協力研究員	H16.4.1-	大阪市保健所
森伸生	協力研究員	H16.4.1-	北里生命科学研究所
上野久美（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	東北大学大学院
上野正浩（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	東京都立墨東病院
増田和貴（FETP）	協力研究員	H16.4.1-	東京都健康局

加藤由美子	協力研究員	H16.4.1-	バイオマトリックス研究所
ARUN KUMAR ADHIKARY	協力研究員	H16.4.1-	東京大学　医学部
URMILA BANIK	協力研究員	H16.4.1-	チタゴング　医学部
小松崎眞	協力研究員	H16.4.1-	東京慈恵医科大学
佐藤弘	協力研究員	H16.4.1-	酪農学園大学　大学院
寺村知子	協力研究員	H16.4.1-	京都市衛生公害研究所
樋口薫	協力研究員	H16.4.1-	自宅開業医
藤井逸人	協力研究員	H16.4.1-	京都市役所　保健福祉局
安井良則	協力研究員	H16.4.1-	大阪　堺市保健所
齋藤利江	協力研究員	H16.3.1-	日本冷凍食品検査協会

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

原著・総説

1）2001. Editorial Committee of Findings of Infectious Agents in Japan: Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan, 2000. Jpn. J. Infect. Dis. 54(Suppl).

2）Asada, Y. and Y. Ohkusa. 2004. Analysis of Health-related Quality of Life (HRQL), its distribution, and its distribution by income in Japan, 1989 and 1998. Soc. Sci. Med. 59:1423-1433.

3）Banik, U., A. K. Adhikary, E. Suzuki, T. Inada, and N. Okabe. 2005. Multiplex PCR assay for rapid identification of oculopathogenic adenoviruses by amplification of the fiber and hexon genes. J. Clin. Microbiol. 43:1064-1068.

4）Bayard, V., P. T. Kitsutani, E. O. Barria, L. A. Ruedas, D. S. Tinnin, C. Munoz, I. B. de Mosca, et al. 2004. Outbreak of hantavirus pulmonary syndrome, Los Santos, Panama, 1999-2000. Emerg. Infect. Dis. 10:1636-1642.

5）Fujimoto, T., T. Okafuji, M. Ito, S. Nukuzuma, M. Chikahira, and O. Nishio. 2004. Evaluation of a bedside immunochromatographic test for detection of adenovirus in respiratory samples, by comparison to virus isolation, PCR, and Real-Time PCR. J. Clin. Microbiol. 42:5489-5492.

6）Hansman, G. S., L. T. P. Doan, T. A. Kguyen, S. Okitsu, N. Nishio, et al. 2004. Detection of norovirus and sapovirus infection among children with gastroenteritis in Ho Chi Minh city, Vietnam. Arch. Virol. 149:1673-1688.

7）Hirakata, Y., K. Arisawa, O. Nishio, and O. Nakagomi. 2005. Multiprefectural spread of gastroenteritis outbreaks attributable to a single genogroupⅡ norovirus strain from a tourist restaurant in Nagasaki, Japan. J. Clin. Microbiol. 43:1093-1098.

8）Inokuma, H., M. Tsuji, S.-J. Kim, T. Fujimoto, M. Nagata, E. Hosoi, S. Arai, et al. 2004. Phylogenetic analysis of Theileria sp. from sika deer, Cervus nippon, in Japan. Vet. Parasitol. 120:339-345.

9）Kano, S.and M. Kimura. 2004. Trends in malaria cases in Japan. Acta Trop. 89:271-278.

10）Kimura, M. 2004. Vaccination and malaria prophylaxis for international travelers. Health Eval. Promot. 31:592-593.

11）Kimura, M., M. Sakamoto, T. Adachi, and H. Sagara. 2005. Diagnosis of febrile illnesses in returned travelers using the PC software GIDEON. Travel Med. Infect. Dis. 3:157-160.

12）Li, L., H. Shimizu, L. T. P. Doan, P. G. Tung, S. Okitsu, O. Nishio, E. Suzuki, et al. 2004. Characterizations of adenovirus type 41 isolates from children with acute gastroenteritis in Japan, Vietnam and Korea. J. Clin. Microbiol. 42:4032-4039.

13）Matsui, T., S. Suzuki, H. Takahashi, T. Ohyama, J. Kobayashi, H. Izumiya, H. Watanabe, et al. 2004. Salmonella Enteritidis outbreak associated with a school-lunch dessert: cross-contamination and a long incubation period, Japan, 2001. Epidemiol. Infect. 132:873-879.

14）Matui, T., T. Ono, and Y. Inoue. 2004. An Outbreak of Vibrio vulnificus Infection in Kumamoto, Japan, 2001. Arch. Dermatol. 140:888-889.

15）Ohkusa, Y. 2005. Policy evaluation for the subsidy for influenza vaccination in elderly. Vaccine 23:2256-2260.

16）Ohkusa, Y. and K. Taniguchi. 2005. Prediction of Outbreak in Smallpox and Evaluation of Control Measure Policy in Japan,

by using Mathematical Model. J. Infect. Chemother. 11:71-80.

17）Phan, T. G., M. Okame, T. A. Nguyen, O. Nishio, S. Okitsu, and H. Ushijima. 2005. Genetic diversity of sapovirus in fecal specimens from infants and children with acute gastroenteritis in Pakistan. Arch. Virol. 150:371-377.

18）Seto, Y., N. Iritani, H. Kudo, A. Kaida, T. Murakami, K. Haruki, O. Nishio, et al. 2005. Genotyping of norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 and March 2003 in Osaka City, Japan. Microbiol. Immunol. 49:275-283.

19）Shinkawa, H., H. Yasuhara, S. Naka, K. Morikane, Y. Furuya, H. Niwa, and T. Kikuchi. 2004. Characteristic features of abdominal organ injuries associated with gastric rupture in blunt abdominal trauma. Am. J. Surg. 187:394-397.

20）Takahashi, H., M. H. Kramer, Y. Yasui, H. Fujii, K. Nakase, K. Ikeda, T. Imai, et al. 2004. Nosocomial Serratia marcescens Outbreak in Osaka, Japan, From 1999 to 2000. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 25:156-161.

21）Tanaka-Taya, K., J. Sashihara, H. Kurahashi, K. Amo, H. Miyagawa, K. Kondo, S. Okada, et al. 2004. Human herpesvirus 6 (HHV-6) is transmitted from parent to child in an integrated form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA. J. Med. Virol. 73:465-473.

22）Harada, S., Y. Kamata, Y. Ishii, H. Eda, N. Okabe, et al. 2004. Maintenance of serum immunoglobulin G antibodies to EBV nuclear antigen2 in healthy individuals from different age groups in a Japanese population with a high childhood incidence of asymptomatic primary EBV infection. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 11:123-130

23)Tanaka, T., H. Takahashi, J. M. Kobayashi, T. Ohyama and N. Okabe. 2004. A Nosocomial Outbreak of Febrile Bloodstream Infection Caused by Heparinized-Saline Contaminated with Serratia marcescens, Tokyo, 2002. Jpn. J. Infect. Dis. 57:189-192.

24)Adhikary, A. K., T. Inada, J. Numaga, E. Suzuki, H. Ushijima, U. Banik, A. Mukouyama, S. Matsuno and N. Okabe. 2004. Characterization of hexon and fibre genes of a novel strain of adenovirus involved in epidemic keratoconjunctivitis. J. Clin. Path. 57:95-97.

書籍・単行本

1）Hirose, K., K. Itoh, and H. Watanabe. Salmonella spp. Encyclopedia of Diagnostic Genomics and Proteomics. 2005, New York: Marcel Dekker.

２．和文発表

原著・総説

1） 国立感染症研究所，厚生労働省結核感染症課．病原微生物検出情報： 月報，2004-2005．25 巻 4 号ー26 巻 3 号．

2） 予防医学事業中央会．ヒト由来病原体の検出数（統計のページ）．予防医学ジャーナル，2004-2005．Nos.394-405．

3） 新井智，多屋馨子，岡部信彦，高崎智彦，倉根一郎．わが国における日本脳炎の疫学と今後の対策について．臨床とウイルス，2004．32：13-22．

4） 新井智，辻正義，石原智明．バベシア 新興再興感染症 SARS の教訓．からだの科学，2004．増刊：122-125．

5） 新井智，高崎智彦，多屋馨子，早川丘芳，倉根一郎．近年の日本脳炎患者発生状況および感染リスク．獣医畜産新報，2004．57：653-656．

6） 新井智．動物園などの展示動物の注意点．Pharma Medica，2004．22：29-32．

7） 藤本嗣人，近平雅嗣，西尾治，岡藤輝夫，岡藤隆夫．平成 15 年に兵庫県で発生した過去 10 年間で最大規模の咽頭結膜熱の流行時におけるウイルス検索結果および臨床現場におけるアデノウイルス迅速診断結果の有効性に関する検討．兵庫の公衆衛生，2004．19：24-25．

8） 春木宏介，櫻井裕，木村幹男．新興再興感染症．SARS の教訓．第 3 部 再興感染症と注目される感染症．マラリア．からだの科学，2004．増刊：229-233．

9） 橋戸円，岡部信彦．性感染症の現状．化学療法の領域，2005．21(8)：1083-1089．

10） 橋戸円．性感染症(STD)の最近の動向．産科と婦人科，2005．72(7)：825-831．

11） 日谷明裕，木村幹男．マラリア予防におけるスタンバイ治療の位置づけ．日本醫事新報，2004．4225：26-31．

12） 日谷明裕，木村幹男．病院内での疥癬の集団発生におけるイベルメクチンの使用経験．日本臨床寄生虫学会誌，2004．15：68-71．

13） 日谷明裕，木村幹男．特集 プライマリケアのため

の寄生虫症および動物媒介疾患．トピックス．マラリア治療の落とし穴．治療，2004．86：2814-2817．

14） 稲田敏樹，多屋馨子，新井智，佐藤弘，荒木和子．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」DNA 診断とその臨床応用．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：327-331．

15） 稲田敏樹，多屋馨子，新井智，佐藤弘，荒木和子．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」 抗原、抗体法．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：320-323．

16） 稲田敏樹，多屋馨子，新井智，佐藤弘，荒木和子．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」検体の採取方法、送付方法．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：332-334．

17） 稲田敏樹，多屋馨子，新井智，佐藤弘，荒木和子．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」培養、同定．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：324-326．

18） 狩野繁之，木村幹男．特集 新興感染症の今．マラリアの輸入は続く．保健の科学，2004．46：574-578．

19） 川上桂子，木村幹男，橋本迪子，青木和子，浜田勝．日本人渡航者のマラリア予防対策についての状況．厚生の指標，2005．52(4)：23-27．

20） 木村幹男．特集 話題の感染症．6．海外旅行と輸入感染症．INFECTION CONTROL，2005．14：531-535．

21） 木村幹男．特集「寄生虫病とペット病－新たな認識と実地診療」．輸入感染症．日本医師会雑誌，2004．131：1763．

22） 木村幹男．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」四類感染症．マラリア．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：164-169．

23） 木村幹男，中村哲也，名和行文．特集 国際化時代の感染症対策－海外渡航者の感染症．［診断・治療の実際］研究班の薬剤保管体制と熱帯病・寄生虫症薬物治療の動向．クリニカルプラクティス，2004．23：1050-1053．

24） 木村幹男，名和行文．特集 プライマリケアのための寄生虫症および動物媒介疾患．治療．治療の現状．治療，2004．86：2767-2771．

25） 木村幹男，狩野繁之．〔蚊が媒介する感染症〕5．輸入マラリアの現状と治療・予防．感染症，2004．34：81-91．

26） 木村幹男，狩野繁之．特集 日常病にどう対処しますか？－頻度順に考える症状/疾病の対処法－．その他で比較的多い健康問題の対応（感染症・呼吸器系）．輸入感染症．治療，2004．86 増刊：1130-1132．

27） 小西敏郎，針原康，森兼啓太．手術部位感染サーベイランス．日本外科学会雑誌，2004．105：720-725．

28） 森伸生，他．本邦に置けるA型肝炎・E型肝炎の感染症発生動向調査のまとめ．小児科，2004．45：1465-1470．

29） 森伸生，多屋馨子，砂川富正，谷口清州，石田久美子，岡部信彦．中学校での麻疹集団発生における疫学調査と対策．日本小児科学会雑誌，2004．108：615-619．

30） 森兼啓太．大腸外科における手術部位感染．日本医事新報，2005．4214：85．

31） 森兼啓太．院内感染予防．治療，2005．87：351-355．

32） 森兼啓太．鳥インフルエンザについて、私たちが知っておきたいこと．INFECTION CONTROL，2004．13：456-458．

33） 森兼啓太．感染対策問題集・手術部位感染．INFECTION CONTROL，2004．13：978-980．

34） 森兼啓太．手術部位感染サーベイランスのポイント．感染と抗菌薬，2004．7：321-323．

35） 森兼啓太．手術部位感染対策・術中／術後の対策．INFECTION CONTROL，2004．13：1263-1267．

36） 森兼啓太．CDC アップデート．Carlisle，2004．9：11．

37） 中島一敏．A型肝炎ワクチンとB型肝炎ワクチン．臨床と微生物，2004．31：321-325．

38） 西尾治．ノロウイルスによる感染症と食中毒．日本醫事新報，2005．4221(105)．

39） 西尾治．ノロウイルス感染と遺伝子迅速検査の現状と維持．The Medical & Test Journal，2005．919：5．

40） 西尾治，杉枝正明．ノロウイルスによる食中毒について．乳酸菌ニュース，2005．447：3-6．

41） 西尾治．ウイルスの季節がやってきた！ －ノロウイルス、A 型および E 型肝炎ウイルス－．食と健康，2004．575：54-61．

42） 西尾治，吉澄志磨，野田衛．ウイルス性食中毒について －特にノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス－．日本食品微生物学会雑誌，2004．21：179-186．

43） 西尾治，秋山美穂，愛木智香子．ノロウイルスによ

る食中毒．月刊 HACCP，2004．109：48-50．
44） 岡部信彦，新井智．日本脳炎ワクチン．臨床と微生物，2004．31：343-347．
45） 大日康史，重松美加，谷口清州．2003/04 シーズンのインフルエンザ流行のインパクト．病原微生物検出情報（IASR），2004．25：285-286．
46） 大日康史，菊池宏幸．確率数理モデルを用いたＳＡＲＳ対策の評価：大阪の事例の検討．厚生の指標，2004．51：34-41．
47） 大日康史．全殺処分か、予防的ワクチネーションか？鳥インフルエンザ防疫策に関する数理モデルからの評価．鶏卵肉情報，2004：68-74．
48） 大日康史．予防接種の政策評価．保健の科学，2004．46：597-603．
49） 大日康史，菅原民枝．水痘ワクチンの医療経済学的評価．病原微生物検出情報（IASR），2004．25：14-15．
50） 大日康史．インフルエンザの流行状況把握システム．季刊インフルエンザ，2004．6：51-60．
51） 大日康史．パンデミックプランニングの最先端：数学的モデルの政策への応用．季刊インフルエンザ，2004．6：61-69．
52） 重松美加．保育園・幼稚園における腸管出血性大腸菌感染症．メディカルトリビューン，2004．30：supple．
53） 重松美加，谷口清州．SARS の脅威（1）流行と疫学．臨床病理レビュー特集，2004．129：78-85．
54） 重松美加，谷口清州．アデノウイルス感染症－咽頭結膜熱（プール熱）．からだの不思議，2004．1：26-28．
55） 重松美加，岡部信彦．SARS 流行 2002～2003、そして 2004．臨床と研究，2004．81：1-7．
56） 新川奈緒美，川元孝久，秋山美穂，加藤由美子，西尾治．吐物が感染源と推察されたノロウイルス集団胃腸炎事例について．臨床とウイルス，2004．32：195-201．
57） 菅原民枝，大日康史，他．スイッチＯＴＣの医療費への効果．総合臨床，2004．53：3070-3077．
58） 杉枝正明，新川奈緒美，大瀬戸光明，徳竹由美，山口卓．Norovirus 感染により排泄されるウイルス量について．臨床とウイルス，2004．32：189-194．
59） 砂川富正．新しいウイルス感染症・鳥インフルエンザ．東京小児科医会報，2004．23(2)：124-127．
60） 多田有希．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」四類感染症．成人麻しん．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：261．
61） 多田有希，岡部信彦．サーベイランスからみたウイルス感染症の流行．小児内科，2004．37(1)：11-21．
62） 多田有希，藤生道子．川崎市における BCG 接種技術評価の経験．外来小児科，2004．8(1)：58-62．
63） 田中政宏，岡部信彦．海外における予防接種の動向．小児診療，2004．67：1819-1827．
64） 谷口清州．インフルエンザの最新動向．調剤と情報，2004．10：1482-1486．
65） 谷口清州．ウイルス性出血熱．日本内科学会雑誌，2004．93：2303-2308．
66） 谷口清州．世界規模の感染症監視体制．臨床と研究，2004．81：1573-1577．
67） 谷口清州．GOARN を中心に．カレントテラピー，2004．22：113．
68） 谷口清州．今日の疫学状況-国内サーベイランスを中心に．総合臨床，2004．54：239-245．
69） 谷口清州．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」高病原性鳥インフルエンザ．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：122-125．
70） 谷口清州．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」咽頭結膜熱．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：228-229．
71） 谷口清州．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」インフルエンザ．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：266-269．
72） 谷口清州．感染症流行情報と臨床での対応．小児科，2004．45：483-490．
73） 谷口清州．「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」無菌性髄膜炎．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：300-303．
74） 多屋馨子．予防接種の現状と問題点:定期接種　副反応．小児看護，2004．27：1609-1615．
75） 多屋馨子．わが国の風疹の現状と対策．LABEAM，2004．16：1-4．
76） 多屋馨子．かぜ、インフルエンザの最新知識の総力特集～昔からの知恵袋から最新の医学知識まで．健，2004．33：27-31．
77） 多屋馨子．かぜ、インフルエンザの基礎知識．健，

2004．33：22-24．

78） 多屋馨子．インフルエンザワクチン接種の必要性と動向．内科，2004．93：142-148．

79） 多屋馨子．医療関係者に対する予防接種．綜合臨床，2004．53：1886-1890．

80） 多屋馨子．わが国の麻疹・風疹の現状と対策　この秋にぜひ風疹ワクチンを．臨床と微生物，2004．31：446-447．

81） 多屋馨子．急性ウイルス感染症　かぜ・インフルエンザ・SARS の診断と治療.インフルエンザ-予防．診断と治療，2004．92：2249-2254．

82） 多屋馨子．新興感染症　HHV-6/HHV-7．新興再興感染症 SARS の教訓．からだの科学，2004．増刊：67-71．

83） 多屋馨子.「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」伝染性紅斑．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：244-245．

84） 岡部信彦．　炭疽菌-国立感染症研究所からの最新情報-　新潟医学会雑誌，2004．118：105-110．

85） 岡部信彦．　21 世紀における感染症対策と展望．　臨床病理，　2004．特集 129 号:1-8.

86） 岡部信彦、新井智．日本脳炎ワクチン．臨床と微生物，2004．31：343-347．

87） 岡部信彦．　国際感染症対策-インフルエンザ-．　臨床と微生物学，2004．31：407-411．

88） 岡部信彦．予防接種法（予防接種制度）．小児看護，2004．27：1569-1573．

89）岡部信彦．　新興感染症の脅威、そしてその対策．日本病院薬剤師会雑誌，2004．40：1373-1377．

90）岡部信彦．　SARS の脅威は消えたのか．公衆衛生，2004．　68：861-864．

91） 岡部信彦．　ウイルス感染症時代　-SARS アウトブレイクが教えたこと-．現代医療，2004．　36：2176-2183．

92） 岡部信彦．　人と動物の共通感染症　-なぜ今話題になってきたか、その対策は-．　Pharma Medica，　2004．22：11-15．

93）米山徹夫、清原和子、下池貴志、森伸生、岡部信彦．A 型肝炎-我が国の最近の発生動向を中心に-．　臨床とウイルス，2004．　32：149-155．

94） 中島一敏、岡部信彦．　SARS 集団発生の発端と経緯．化学療法の領域，2004．　20：19-23．

95） 砂川富正、岡部信彦．　SARS -最近の動向を踏まえて-．最新医学，2004．　59：1833-1838．

96） 岡部信彦．　「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」痘そう（天然痘）．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：70-73．

97） 岡部信彦．　「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」．手足口病．日本医師会雑誌，2004．132(臨時増刊 No．12)：240-243．

書籍・単行本

1） 新井智，岡部信彦．　Zoonoses の現況と対策・治療，日本薬剤師会雑誌 2004．p．65-70．

2） 新井智，辻正義，石原智明．　バベシア症，　人と動物の共通感染症ハンドブック 2004．p．190-191．

3） 萩原敏且，木村幹男．　性器クラミジア感染症，　感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店：東京．p．199-200．

4） 萩原敏且，木村幹男．　発疹チフス，　感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店：東京．p．241-243．

5） 橋戸円．　性器ヘルペスウイルス感染症，　感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店：東京．p．135-137．

6） 木村幹男，三浦聡之．　39．マラリア，　感染症，竹田美文，　木村哲編集．2004，朝倉書店：東京．p．167-172．

7） 木村幹男．　リケッチア症．A チフス群リケッチア感染症．A-1 発疹チフス，　感染症予防必携（第 2 版），山崎修道他，編集．2005，（財）日本公衆衛生協会．p．417-419．

8） 木村幹男．　6 臓器別感染症診療の手順．6.9 輸入感染症，　研修医のための感染症クリニカルガイダンス 2005，ヴァンメディカル．p．247．

9） 木村幹男，石井明．　第 3 章　抗生物質・抗菌薬療法の実際．A．感染症からみた抗生物質・抗菌薬の選択と使用の実際．マラリア，　実践　抗生物質・抗菌薬療法ガイド 2005，文光堂．p．408-412．

10） 森兼啓太，今井栄子（翻訳）．　サーベイランスのための CDC ガイドライン－NNIS マニュアル 2004 年版より，小林寛伊，　広瀬千也子監修．2004，メディカ出版：大阪．

11） 森兼啓太．　III-30　サーベイランス，　在宅ケアと

感染制御，小林寛伊（編集）. 2005，メジカルフレンズ社: 東京．p．221-228．

12） 森兼啓太．III-6 風疹， 病院感染 こんなときどうする！？，小林寛伊（監修）．2005，南山堂: 東京．p．70-72．

13） 西尾治． 小型球形ウイルス(ノロウイルス，サポウイルス，アストロウイルス)， 食品衛生検査指針微生物編，厚生労働省監修．2004，社団法人日本食品衛生協会: 東京．p．450-474．

14） 西尾治． アデノウイルス， 食品衛生検査指針微生物編，厚生労働省監修．2004，社団法人日本食品衛生協会: 東京．p．500-512．

15） 岡部信彦，多屋馨子：監修， 予防接種に関する Q&A 集 2004，社団法人細菌製剤協会: 東京．p．1-86．

16） 大日康史． ワクチンの費用対効果分析， ワクチンの事典 2004，朝倉書店: 東京．p．281-290．

17） 重松美加，岡部信彦．重症急性呼吸器症候群(SARS)，感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．117-120．

18） 多田有希，木村幹男，岡部信彦． 第 6 章．主要疾患の現状と予防対策 8．感染症“管理栄養士講座 公衆衛生学”（伊藤ちぐさ， 村松康弘編著）．2004，健帛社．p．130-141．

19） 多田有希，岡部信彦．A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎，感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．24-25．

20） 多田有希，岡部信彦． 百日咳， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．214-216．

21） 多田有希，岡部信彦．伝染性紅斑， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．168-169．

22） 多田有希，岡部信彦． 細菌性髄膜炎， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．99-100．

23） 谷口清州．ネオエスカ 感染症患者情報と感染症対策， 感染症生体防御とアレルギー2004，同文書院．p．200-203．

24） 谷口清州． 発展途上国における予防接種計画， ワクチンの事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．272-280．

25） 谷口清州． RS ウイルス感染症， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．9-12．

26） 谷口清州． 急性脳炎， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．62-63．

27） 谷口清州． 感染性胃腸炎， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．44-45．

28） 谷口清州． 咽頭結膜熱， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．13-14．

29） 谷口清州． ヘルパンギーナ， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．229-230．

30） 谷口清州． マイコプラズマ肺炎， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．235-236．

31） 谷口清州． 無菌性髄膜炎， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．246-248．

32） 谷口清州． 高病原性トリ型インフルエンザ， 感染症，竹田美文編．2004，朝倉書店: 東京．p．111-115．

33） 多屋馨子． 能動免疫と受動免疫（翻訳）， R-Book 2003 日本版-小児感染症の手引き-，岡部信彦監修.米国小児科学会編集．2004，日本小児医事出版社: 東京．p．1-53．

34） 多屋馨子． 水痘， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．128-130．

35） 多屋馨子，新井智． 風疹ワクチン， ワクチンの事典，日本ワクチン学会編．2004，朝倉書店: 東京．p．54-67．

36） 多屋馨子． 突発性発疹， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．177-178．

37） 多屋馨子． 急性灰白髄炎（ポリオ、小児麻痺）， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．64-66．

38） 多屋馨子． 麻疹， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．237-240．

39） 多屋馨子． 伝染性単核症， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．170-173．

40） 多屋馨子，岡部信彦． 手足口病， 感染症の事典，国立感染症研究所学友会編．2004，朝倉書店: 東京．p．

164-165.

41) 多屋馨子. サイトメガロウイルス感染症, 感染症の事典, 国立感染症研究所学友会編. 2004, 朝倉書店: 東京. p. 103-106.

42) 多屋馨子. 流行性耳下腺炎（ムンプス、おたふくかぜ）, 感染症の事典, 国立感染症研究所学友会編. 2004, 朝倉書店: 東京. p. 261-262.

43) 多屋馨子. 風疹, 感染症の事典, 国立感染症研究所学友会編. 2004, 朝倉書店: 東京. p. 217-218.

44) 多屋馨子. ヘルペス脳炎, 感染症の事典, 国立感染症研究所学友会編. 2004, 朝倉書店: 東京. p. 231-234.

45) 多屋馨子. ライ症候群, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2638-2640.

46) 多屋馨子. 流行性耳下腺炎（ムンプス）, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2641-2642.

47) 多屋馨子. ヘルパンギーナ, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2642-2643.

48) 多屋馨子. かぜ症候群, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2652-2653.

49) 多屋馨子. ムンプス髄膜炎, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2633-2635.

50) 多屋馨子. 風疹（三日ばしか）, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2699-2700.

51) 多屋馨子. 麻疹（はしか）, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2700-2702.

52) 多屋馨子. 手足口病, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2705-2706.

53) 多屋馨子. 水痘（みずぼうそう）, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2706-2707.

54) 多屋馨子. 流行性髄膜炎（急性脳脊髄膜炎）、その他の化膿性髄膜炎, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2633-2635.

55) 多屋馨子. 伝染性紅斑（リンゴ病）, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2702-2703.

56) 多屋馨子. 突発性発疹（小児バラ疹）, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2702.

57) 多屋馨子. ウイルス性髄膜炎（無菌性髄膜炎）, 最新版家庭医学大全科, 高久史麿他監修. 2004, 株式会社法研: 東京. p. 2636-2637.

58) 多屋馨子. インフルエンザ Q&A.2004 年版 2004, 診療新社. p. 2-3.

59) 多屋馨子. インフルエンザ Q&A.2004 年版 2004, 診療新社. p. 8.

60) 岡部信彦. 輸入感染症, 標準感染症学 第 2 版, 斎藤厚, 那須勝, 江崎孝行編集. 2004, 医学書院. p.149-164.

61) 岡部信彦・編 新興再興感染症, からだの科学, 日本評論社. 2004.

62) 岡部信彦. 黄熱ワクチン, 感染症の事典, 国立感染症研究所学友会編. 2004, 朝倉書店: 東京. p.240-246.

63) 岡部信彦. 天然痘（痘瘡）, 感染症, 竹田美文、木村哲編集. 2004, 朝倉書店: p.21-24.

64) 監修/訳 岡部信彦. R-Book 2003 -小児感染症の手引き-, 米国小児科学会編. 2004, 小児医事出版.

65) 岡部信彦. 共通感染症の疫学 人の感染症と疫学, 共通感染症ハンドブック, 2004, 日本獣医師会.

66) 岡部信彦. 学校における予防接種 学校保健の動向, 2004. 日本学校保健会編/発行. p.39.

67) 岡部信彦, 木村幹男, 小泉信夫, 斎藤典子, 堀田国元編. 感染症の事典, 担当単著・インフルエンザ, 腎症候性出血熱, 痘瘡, ニパウイルス感染症, 感染症法とサーベイランス, 国立感染症研究所学友会 2004. 朝倉書店.

URL・その他

1)感染症情報センター. インフルエンザ関連死亡迅速把握システム 03/04 年シーズン, 04/05 年シーズングラフ. http://idsc.nih.go.jp/disease/influenza/inf-rpd/index-rpd.html

2)感染症情報センター. インフルエンザ情報早期把握シ

ステム， 2004 年度インフルエンザ統計情報，2003 年 12 月～2004 年 5 月.
http://www.flu.msi.co.jp/graph/
3)感染症情報センター．インフルエンザ流行レベルマップ，2004 年 11 月～2005 年 3 月（継続 6 月 28 日まで）.
http://idsc.nih.go.jp/disease/influenza/inf-keiho/index.html
4)感染症情報センター．ＳＡＲＳ（重症呼吸器症候群）：WHAT'S NEW.
http://idsc.nih.go.jp/disease/sars/index.html
5)感染症情報センター．高病原性鳥インフルエンザ：WHO 感染確定症例数.
http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/toriinf-case.html
6)感染症情報センター．高病原性鳥インフルエンザ：WHO 更新情報.
http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/toriinf-whoup.html
7)感染症情報センター．高病原性鳥インフルエンザ：新着情報.
http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/index.html
8)松岡静香，多屋馨子，新井智，佐藤弘，岡部信彦．日本の定期/任意予防接種スケジュール 2004 年． 2004 年 3 月 26 日.
http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/ImmJP_04.gif
9)松岡静香，多屋馨子，新井智，佐藤弘，岡部信彦．日本の定期/任意予防接種スケジュール 2005 年（1～3 月）.
http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/GIF/JP01-03.gif
10)松岡静香，多屋馨子，新井智，佐藤弘，岡部信彦．Immunization schedule，Japan 2004.
http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/ImmEN_04.gif
11)松岡静香，多屋馨子，新井智，佐藤弘，岡部信彦．Immunization schedule，Japan 2005 (Jan-Mar).
http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/GIF/JP01-03.gif
12)感染症情報センター．トリインフルエンザの分布図，2004 年 2 月 2 日.
http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/toriinf-map.html
13)国立感染症研究所感染症情報センター．重症急性呼吸器症候群（SARS）に関する Q&A 「一般向け」・「医療従事者向け」， 2004 年 5 月 7 日.
http://idsc.nih.go.jp/disease/sars/QA/QAver2.html
14)佐藤弘，新井智，北本理恵，丹生隆，荒木和子，多屋馨子．全国日本脳炎ウイルス抗体保有状況調査， 2004 年 6 月 30 日，第 17 報：12 月 1 日.
http://idsc.nih.go.jp/yosoku/Smenu.html
15)中島一敏，松館宏樹，多屋馨子，砂川富正，上野正浩，多田有希，谷口清州，田中政宏，重松美加，安井良則，大日康史，新井智，佐藤弘，大山卓昭，山口亮，鈴木葉子，太田正樹，岡部信彦，千村浩（鹿児島県），相星壮吾（徳之島保健所）．わが国における風疹の現状とその対策，2004 年 9 月 17 日.
http://idsc.nih.go.jp/disease/rubella/0409kagoshi.html
16)感染症情報センター．インフルエンザＱ＆Ａ 「一般向け」・「医療従事者向け」，（平成 16 年度版）， 2004 年 10 月.
http://idsc.nih.go.jp/disease/influenza/fluQA/index.html
17)田中政宏，多田有希，多屋馨子，岡部信彦．風疹Ｑ＆Ａ， 2004 年 11 月 19 日.
http://idsc.nih.go.jp/disease/rubella/041119QA.html
18)多屋馨子，多田有希，田中政宏，岡部信彦．風疹予防接種申込書・予診票（任意接種用），説明書，2004 年 11 月 19 日.
http://idsc.nih.go.jp/disease/rubella/041119/041119m.pdf
19)多田有希，田中政宏，多屋馨子，岡部信彦．風疹予防接種に関するガイドライン， 2004 年 11 月 19 日.
http://idsc.nih.go.jp/disease/rubella/041119/041119guide.pdf
20)感染症情報センター．鳥インフルエンザに関する Q&A，2004 年 11 月 22 日.
http://idsc.nih.go.jp/others/topics/flu/QA040401.html
21)佐藤弘，新井智，北本理恵，丹生隆，荒木和子，多屋馨子．インフルエンザ HI 抗体保有状況（速報）， 2004 年 11 月 26 日，第 3 報：12 月 24 日.
http://idsc.nih.go.jp/yosoku/Flumenu.html

２．学会発表

１．国際学会

1） Arai, S., K. Tanaka-Taya, T. Takasaki, I. Kurane, N. Okabe,

and Vaccine Preventable Disease Surveillance Group. 2004. Japanese encephalitis virus is still endemic in Japan. Fourth World Congress on Vaccines and Immunization, Tsukuba, Japan, 30 September - 3 October.

2) Henmi, Y., et al. 2004. A large hepatitis B outbreak in a nursery school, Japan. The 3rd TEPHINET Global Scientific Conference, Beijing, China, 8-12 November.

3) Imrie, A., J. Meeks, J. Newell, Z. Zhao, P. Kitsutani, and P. Effler. 2004. Identification of T cell responses directed against the dengue 1 NS5 protein. Pediatric Dengue Vaccine Initiative. First Regional Dengue Research Network Meeting, Bangkok, Thailand, October.

4) Kimura, M., M. Sakamoto, T. Adachi, and H. Sagara. 2004. Diagnosis of febrile illnesses in returned travellers using the PC software GIDEON. 5th Asia Pacific Travel Health Conference, Kuala Lumpur.

5) Masuda, K., et al. 2004. An Escherichia coli O157 outbreak in Japanese high school students, December 2003. The 3rd TEPHINET Global Scientific Conference, Beijing, China, 8-12 November.

6) Mori, N., et al. 2004. Using outbreaks in Japan to calculate the measles vaccine coverage needed to prevent transmission in school. The 3rd TEPHINET Global Scientific Conference, Beijing, China, 8-12 November.

7) Morikane, K., T. Konishi, M. Nishioka, Y. Harihara, and H. Kobayashi. 2004. Five-year experience of nationwide surgical site infections surveillance in Japan. The 14th annual meeting of the Society for Healthcare Epidemiology of America., Philadelphia, USA., April.

8) Morikane, K., T. Konishi, M. Nishioka, Y. Harihara, and H. Kobayashi. 2004. Nationwide surgical site infections surveillance in Japan. The 3rd East Asia Conference on Infection Control, Tokyo, Japan, November.

9) Ohkusa, Y. 2004. Policy Evaluation for the Subsidy for Influenza Vaccination in Elderly. World Conference of Vaccination and Immunization., Tukuba, Japan.

10) Ohkusa, Y., M. Shigematsu, K. Taniguchi and N. Okabe. 2004. An Experimental OTC Surveillance in Japan. 2004 National Syndromic Surveillance Conference, Boston, USA, November.

11) Ohkusa. Y. and K. Taniguchi. 2004. Use of Antiviral Drug during a Pandemic-Possible Scenario and Mathematical Modeling. WHO informal consultation on influenza pandemic preparedness for countries with limited resources., Kuala Lumpur, Malaysia, June.

12) Shigematsu, M., T. Takasaki, K. Yamashita, M. Kimura, and N. Okabe. 2004. Imported dengue fever cases in Japan. 5th Asia Pacific Travel Health Conference, Kuala Lumpur.

13) Shigematsu , M. 2005. Communicable Disease Surveillances in Japan. 国立台湾大学公共衛生学院セミナー, 台北, 台湾, March.

14) Shigematsu , M. 2005. Communicable Disease Surveillances in Japan. 台湾行政院衛生署疾病管制局セミナー, 台北, 台湾, March.

15) Shigematsu, M and N. Okabe. 2004. Preparedness for emerging infectious diseases in Japan —lessons from SARS—. Sino-Japanese International Symposium on Public Health in the 21st Century, Hefei, China, August.

16) Tanaka-Taya, K. 2004. Measles epidemiology in Japan. International workshop for measles, Tokyo, Japan, 17 January.

17) Tanaka-Taya, K. and N. Okabe. 2004. Action plans to control measles and the future problems in Japan. Fourth World Congress on Vaccines and Immunization, Tsukuba, Japan, 30 September-3 October.

18) Tanaka, M., K. Taya, and N. Okabe. 2004. Measles Control in Japan. The 4th year evaluation of the measles eliminating program in Korea, Seoul, Korea, November.

19) Taniguchi, K. 2004. Infectious Disease Surveillance in Japan. Biological Weapon Convention, Geneva, Switzerland, July.

20) Taniguchi, K. 2004. Influenza surveillance. WHO/WPRO Influenza Training Course, Tokyo, Japan, May.

21) Taniguchi, K. 2004. Influenza surveillance in Japan. NIID/Taiwan CDC joint workshop on avian Influenza, Taipei, Taiwan, September.

22) Taniguchi, K. 2004. Preparedness and Response for Bioterrorism. International meeting for Bioterrorism, Seoul Korea, August.

23) Taniguchi, K. 2004. SARS/Avian influenza in Japan. JICWELS infectious Disease control training course, Tokyo,

Japan, October.

24) Ueno, K., K. Moriyama, R. Yamaguchi, K. Nakashima, J. M. Kobayashi, K. Taniguchi, and N. Okabe. 2004. Nosocomial outbreak of vancomycin-resistant enterococci infections, Japan. The 3rd TEPHINET Global Scientific Conference, Beijing, China, 8-12 November.

25) Yasui, Y., F. Fujii, K. Nakashima, K. Tanaka-Taya, and N. Okabe. 2004. The disease burden and immunization of varicella, mumps, measles, and rubella at nursery school, kindergarten, elementary school, and junior high school in Sakai-city. Fourth World Congress on Vaccines and Immunization, Tsukuba, Japan, 30 September - 3 October.

2.国内学会

1) 愛木智香子, 西尾治, 大瀬戸光明, 杉枝正明, 古屋由美子. 輸入生鮮魚介類のウイルス汚染実態調査成績について. 第 53 回日本感染症学会東日本地方会・第 51 回日本化学療法学会東日本支部総会・合同総会. 10 月 2004. 新潟県新潟市.

2) 秋山美穂, 愛木智香子, 西尾治, 福田伸治, 西田知子. 平成 15 年度に発生したノロウイルスによる食中毒事例について. 日本食品衛生学会第 88 回学術講演会. 11 月 2004. 広島県広島市.

3) 荒川香南子, 中野陽子, 山内昭則, 杉山明, 中山治, 西尾治. カキ及び養殖海域のノロウイルス汚染調査. 第 25 回衛生微生物技術協議会. 7 月 2004. 埼玉県さいたま市.

4) 新井智, 田原研司, 板垣朝夫, 松田裕朋, 辻正義, 石原智明, 岡部信彦. ダニ媒介性疾患の流行している島根県で確認された Anaplasmataceae の遺伝子. 第 138 回日本獣医学会学術総会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

5) 古川友子, 森田耕司, 渡辺登, 伊藤健一郎, 他. 下痢原性大腸菌の cesT 遺伝子多型は tir 遺伝子型と一致する. 第７７回日本細菌学会総会. 4 月 2004. 大阪府大阪市.

6) 古田隆久, 河津信一郎, 狩野繁之, 木村幹男, 審良静男, 渡辺直熙. マラリア原虫の Peroxiredoxin による Toll-like receptor 4 の活性化. 第 74 回日本寄生虫学会大会. 2005.

7) 古屋由美子, 原みゆき, 片山丘, 杉枝正明, 大瀬戸光明, 藤本嗣人, 宇宿秀三, 田中俊光, 西尾治. 輸入生鮮魚介類のウイルス汚染状況について. 第 52 回日本ウイルス学会. 11 月 2004. 神奈川県横浜市.

8) 針原康, 小西敏郎, 森兼啓太, 西岡みどり. SSI サーベイランスの普及による周術期感染の減少を目指して. 第 66 回日本臨床外科学会総会. 2004. 岩手県盛岡市.

9) 平潟洋一, 有澤孝吉, 西尾治, 中込治. 長崎市のレストランで発生したノロウイルス GⅡメキシコ株の集団食中毒. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

10) 日谷明裕, 木村幹男. ドイツ語圏のマラリア予防ガイドライン. 第 2 回海外渡航者健康学会. 2004.

11) 日谷明裕, 子幡かおり, 木村幹男. 疥癬_院内感染例に対するイベルメクチンの使用経験. 第 15 回日本臨床寄生虫学会. 2004.

12) 日谷明裕, 木村幹男. ドイツにおける熱帯医学の資格認定制度. 第 45 回日本熱帯医学会大会. 10 月 2004. 東京.

13) 日谷明裕, 大日康史, 木村幹男, 中村哲也, 大友弘士, 名和行文. アトバコン/プログアニルによるマラリアの治療：「熱帯病に対するオーファンドラッグ開発研究」班のデータ解析. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

14) 乾あやの, 十河剛, 藤澤知雄, 西尾治. ノロウイルスによる急性胃腸炎の臨床的特徴. 第 36 回日本小児感染症学会. 11 月 2004. 東京都文京区.

15) 伊藤健一郎, 山下和予, 吉川昌江, 野地元子, 齋藤剛仁, 岡部信彦, 寺嶋淳, 廣瀬健二, 渡邊治雄. 赤痢菌同定の問題点：アンケート調査結果. 第 25 回衛生微生物技術協議会. 7 月 2004. 埼玉県さいたま市.

16) 伊藤健一郎, 廣瀬健二, 岡部信彦. わが国における赤痢菌の誤同定についての緊急アンケート調査、２００３年. 第１６回日本臨床微生物学会総会. 2 月 2005. 京都府京都市.

17) 逸見佳美, 佐藤弘, 砂川富正, 大山卓昭, 多屋馨子, 岡部信彦. 防衛医科大学校の医学生（1-6 年）および研修医に対して行ったワクチン歴・既往歴の認識調査、および麻疹風疹抗体調査. 第 45 回日本臨床ウイルス学会. 6 月 2004. 大阪府豊中市.

18) 岩間真人, 神田隆, 西尾治. ノロウイルスによる食中毒等の防止に関する調査. 第 63 回日本公衆衛生学会総会. 10 月 2004. 島根県松江市.

19) 川戸美由紀, 橋本修二, 村上義孝, 谷口清州, 小坂健,

重松美加, 永井正規. 感染症発生動向調査に基づく検討 第2報　全国罹患数推計値の推移. 第 63 回日本公衆衛生学会総会. 10 月 2004. 島根県松江市.

20) 木村幹男, 中村哲也, 大友弘士, 名和行文.「熱帯病治療薬研究班（略称)」の過去および今後の 3 年間. 第 45 回日本熱帯医学会大会. 10 月 2004. 東京.

21) 木村幹男. ワークショップ「わが国のマラリア予防ガイドライン作成に向けて」. スタンバイ治療. 第 45 回日本熱帯医学会大会. 10 月 2004. 東京.

22) 木村幹男, 川上桂子, 浜田勝, 橋本迪子. 日本人渡航者におけるマラリア予防およびスタンバイ治療の実態と問題点. 第 74 回日本寄生虫学会大会. 2005.

23) 木村幹男, 中村哲也, 大友弘士, 名和行文. 熱帯病・寄生虫症の診療における「熱帯病治療薬研究班（略称)」の役割. 第 74 回日本感染症学会西日本地方会総会. 2004.

24) 木村幹男, 坂本光男, 足立拓也, 相楽裕子. GIDEON ソフトウエアによる発熱性輸入感染症の診断. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

25) 小西毅, 渡辺聡明, 北山丈二, 梅谷直亨, 森兼啓太, 深柄和彦, 名川弘一. 大腸外科手術における感染制御と感染危険因子に関する検討. 第 104 回日本外科学会総会. 4 月 2004. 大阪府大阪市.

26) 増田和貴, 他. 中国における SARS 集団発生事例. 第 63 回日本公衆衛生学会総会. 10 月 2004. 島根県松江市.

27) 松下秀, 加藤玲, 緒方和恵, 伊藤健一郎, 他. 腸管出血性大腸菌ベロ毒素遺伝子の LAMP 法を利用したタイピング試薬キットの検討. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

28) 三浦聡之, 木村幹男, 鯉渕智彦, 中村仁美, 遠藤宗臣, 小田原隆, 中村哲也, 岩本愛吉. 過去 10 年間の症例解析から明らかになった輸入マラリアの特徴と問題点. 第 45 回日本熱帯医学会大会. 10 月 2004. 東京.

29) 宮川広実, 指原淳志, 山岸義晃, 天羽清子, 多屋馨子, 大薗恵一, 山西弘一. 臍帯を用いて診断した先天性サイトメガロウイルス感染症児の検討. 第 45 回日本臨床ウイルス学会. 6 月 2004. 大阪府豊中市.

30) 森伸生, 他. 都城保健所管内での麻疹流行調査とワクチンの効果の検証、2003 年宮崎県. 第 8 回日本ワクチン学会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

31) 森伸生, 他. 就学時の麻疹と風疹のワクチン接種率調査. 第 63 回日本公衆衛生学会総会. 10 月 2004. 島根県松江市.

32) 森伸生, 砂川富正, 多屋馨子, 谷口清州, 岡部信彦. 宮崎県都城・北諸地域での麻疹流行時の小中学生における麻疹ワクチン接種状況の調査（2003 年）. 第 107 回日本小児科学会学術集会. 4 月 2004. 岡山県岡山市.

33) 森兼啓太. サーベイランスで SSI を減らそう. 3M インフェクションコントロールセミナー. 2 月 2005. 東京.

34) 森兼啓太. たかが創感染、されど創感染. 国立がんセンター中央病院第 3 回院内感染対策セミナー. 2 月 2005. 東京.

35) 森兼啓太. NNIS システムの将来. 国立看護大学校・認定看護師教育課程フォローアップ研修会. 11 月 2004. 東京都清瀬市.

36) 森兼啓太. ICD による感染管理の実践とリーダーシップ. 宮城感染管理コントロール研究会・秋期感染症フォーラム. 10 月 2004. 宮城県仙台市.

37) 森兼啓太. 高齢者の感染症－その予防をめざして. 川越市保健所・高齢者感染症予防研修会. 11 月 2004. 埼玉県川越市.

38) 森兼啓太. 標準予防策と血液曝露病原体への対応. 川越市保健所院内感染対策研修会. 2 月 2005. 埼玉県川越市.

39) 森兼啓太. 院内感染対策の基礎と実践. 杏林大学病院院内感染防止講習会. 3 月 2005. 東京都三鷹市.

40) 森兼啓太. 院内感染対策の基礎と実践. 東京医科大学院内感染対策研修会. 2 月 2005. 東京.

41) 森兼啓太. 手術部位感染サーベイランスの実際. 東京慈恵会医科大学病院院内感染対策セミナー. 3 月 2005. 東京.

42) 森兼啓太. 術後感染対策について. 東葛南部地域二次医療圏：院内感染対策特別研修会. 1 月 2005. 千葉県津田沼市.

43) 森兼啓太. 最近の感染管理の動向と外科手術部位感染サーベイランス. 横浜市立大学病院第 16 回感染対策懇話会. 3 月 2005. 神奈川県横浜市.

44) 森兼啓太. 院内感染対策の基礎と実際について. 癌研究会付属病院院内感染対策講習会. 1 月 2005. 東京.

45) 森兼啓太. SSI 防止対策. 石川県立中央病院院内感染対策セミナー. 1 月 2005. 石川県金沢市.

46) 森兼啓太. SSI 防止のスタンダード：ガイドラインとサーベイランス. 第 1 回千葉 SSI 講演会. 3 月 2005. 千葉県千葉市.

47) 森兼啓太. SSI 防止ガイドラインと SSI サーベイランス. 第 1 回埼玉 SSI 研究会. 12 月 2004. 埼玉県さいたま市.

48) 森兼啓太. SSI サーベイランスに関する米国の現状. 第 4 回 SSI サーベイランス研究会. 11 月 2004. 愛知県名古屋市.

49) 森兼啓太. サーベイランスで SSI を減らそう！. 第 9 回東阪神院内感染症研究会. 1 月 2005. 兵庫県尼崎市.

50) 森兼啓太. SSI サーベイランスにより SSI を減らそう！. 第 11 回大阪病院機能向上研究会. 11 月 2004. 大阪府大阪市.

51) 森兼啓太. サーベイランスで院内感染を減らそう！. 第 12 回岐阜院内感染対策検討会. 3 月 2005. 岐阜県岐阜市.

52) 森兼啓太. 院内感染のアウトブレイク対応. 第 19 回 ICD 講習会. 10 月 2004. 新潟県新潟市.

53) 森兼啓太, 岡部信彦. 病院感染サーベイランスに関する意識調査. 第 20 回日本環境感染学会. 2 月 2005. 兵庫県神戸市.

54) 森兼啓太. CDC の素顔―その知られざる実態. 第 20 回日本環境感染学会. 2 月 2005. 兵庫県神戸市.

55) 森兼啓太. 手術における感染防止ガイドラインと知られざる CDC の姿. 第 26 回日本手術医学会総会. 11 月 2004. 愛知県名古屋市.

56) 森兼啓太. 「ガイドラインに期待する」外科領域. 第 53 回日本感染症学会東日本地方会・第 51 回日本化学療法学会東日本支部総会・合同総会. 10 月 2004. 新潟県新潟市.

57) 森兼啓太. 本邦における全国的手術部位感染サーベイランス. 第 66 回日本臨床外科学会総会. 2004. 岩手県盛岡市.

58) 森兼啓太. 院内感染とそのサーベイランス－21 世紀の日本の医療におけるキーワード. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

59) 森兼啓太. 手術部位感染の減少を目指して. 第 104 回日本外科学会総会. 4 月 2004. 大阪府大阪市.

60) 森兼啓太. 手術部位感染とそのサーベイランス. 第 104 回日本外科学会総会. 4 月 2004. 大阪府大阪市.

61) 森兼啓太. CDC 最新情報. 臨床外科共同研究会リスクマネジメント分科会. 12 月 2004. 大阪府大阪市.

62) 森兼啓太. 感染症サーベイランス. JICA/ACIH. 薬剤耐性病原体の実験室診断コース. 12 月 2004. 熊本県熊本市.

63) 森兼啓太. 術後感染の減少を目指して. 複十字病院院内感染対策講習会. 9 月 2004. 東京都清瀬市.

64) 森兼啓太. 新興・再興感染症の救急対応および院内感染対策. 豊田市消防本部医師・救急隊員研修会. 9 月 2004. 愛知県豊田市.

65) 森山和郎, 他. 山梨県Ａ病院におけるＶＲＥ集団発生事例. 第 20 回日本環境感染学会. 2 月 2005. 兵庫県神戸市.

66) 村上義孝, 橋本修二, 川戸美由紀, 谷口清州, 小坂健, 重松美加, 永井正規. 感染症発生動向調査に基づく検討第１報　警報・注意報の発生状況と基準値変更の影響. 第 63 回日本公衆衛生学会総会. 10 月 2004. 島根県松江市.

67) 中島一敏, 他. 保護者から得た幼児の麻疹罹患歴情報の信頼性評価. 第 8 回日本ワクチン学会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

68) 西田知子, 野田衛, 大瀬戸光明, 三上稔之, 篠原美千代, 入谷展弘, 植木洋, 川本歩, 秋山美穂, 西尾治. 市販生食用カキのノロウイルス汚染状況. 日本食品衛生学会第 88 回学術講演会. 11 月 2004. 広島県広島市.

69) 西田知子, 野田衛, 三上稔之, 篠原美千代, 大瀬戸光明, 入谷展弘, 植木洋, 吉澄志磨, 岩田祐之, 西尾治. 3 シーズンにおける国内産生食用カキのノロウイルスおよびＡ型肝炎ウイルス汚染状況. 第 52 回日本ウイルス学会. 11 月 2004. 神奈川県横浜市.

70) 西村祐貴子, 矢野亜紀子, 西山優子, 奥田洋平, 金惠淑, 綿矢有佑, 木村幹男, 古田隆久. メフロキン耐性熱帯熱マラリア原虫の耐性化機構の解析. 第 74 回日本寄生虫学会大会. 2005.

71) 西尾治. ノロウイルスによる食中毒. 第 36 回日本小児感染症学会. 11 月 2004. 東京千代田区.

72) 西山優子, 奥田洋平, 金惠淑, 綿矢有佑, 木村幹男. 熱帯熱マラリア原虫のメフロキン耐性化機構. 第 73 回日本寄生虫学会大会. 2004.

73) 登坂直規, 他. 2003 年に沖縄県にて開始された麻疹全

数サーベイランスの有用性. 第 8 回日本ワクチン学会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

74) 大日康史, 重松美加, 谷口清州, 岡部信彦. 平成 15 年度インフルエンザの流行期における患者数の迅速把握事業解析結果報告. 第 8 回日本ワクチン学会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

75) 大日康史, 重松美加, 谷口清州, 岡部信彦. インフルエンザ関連死亡迅速把握システム報告の解析. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

76) 大日康史, 重松美加, 谷口清州, 岡部信彦. 数理モデルを用いての鳥インフルエンザ防疫策に関する考察. 第138回日本獣医学会学術集会公衆衛生学分科会. 9月 2004. 北海道札幌市.

77) 大友弘士, 木村幹男, 吉田正樹, 佐藤文哉. わが国における熱帯熱マラリア治療の変遷. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

78) 佐藤弘, 多屋馨子, 新井智, 荒木和子, 小田切孝人, 田代眞人, 岡部信彦. 担当都道府県ならびに都道府県衛生研究所. 流行シーズン前インフルエンザ抗体保有率からみたインフルエンザ流行予測とワクチン接種に関する検討（感染症流行予測調査事業より）. 第 8 回日本ワクチン学会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

79) 佐藤弘, 多屋馨子, 逸見佳美, 新井智, 砂川富正, 大山卓昭, 岡部信彦. 医科大学校の医学生および研修医における風疹・麻疹の抗体調査. 第 45 回日本臨床ウイルス学会. 6 月 2004. 大阪府豊中市.

80) 正田瑞恵, 新井智, 多屋馨子, 岡部信彦, 小西英二. 近年の日本におけるヒトの日本脳炎ウイルス自然感染状況. 第 52 回日本ウイルス学会. 11 月 2004. 神奈川県横浜市.

81) 重松美加. 新興・再興感染症の動向. 平成 16 年度 第 3 回健康危機管理保健所長等研修会. 11 月 2004. 埼玉県和光市.

82) 重松美加. 新興・再興感染症の動向. 平成 16 年度 第 4 回健康危機管理保健所長等研修会. 2 月 2005. 埼玉県和光市.

83) 重松美加. SARS の疫学と感染予防対策. 平成 16 年度希少感染症診断技術研修会. 2 月 2005. 東京都新宿区.

84) 重松美加. SARS 事例からの教訓：実験室内バイオセーフティの落とし穴. 第 4 回日本バイオセーフティ学会総会. 11 月 2004. 神奈川県横浜市.

85) 重松美加, 高崎智彦, 大日康史, 谷口清州, 岡部信彦. 輸入感染症としてのデング出血熱：発生動向調査から. 第 53 回日本感染症学会東日本地方会総会. 11 月 2004. 新潟県新潟市.

86) 重松美加, 大日康史, 谷口清州, 岡部信彦. インフルエンザ関連死亡迅速把握システムの対策への応用（03/04 シーズン）. 第 63 回日本公衆衛生学会総会. 10 月 2004. 島根県松江市.

87) 重松美加, 吉田英樹, 大日康史, 岡部信彦. 細菌性赤痢のサーベイランス. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

88) 菅原民枝, 大日康史, 他. 出雲における水痘・ムンプスの Disease Burden に関する調査研究. 感染症学会西日本支部総会. 11 月 2004. 島根県松江市.

89) 菅原民枝, 大日康史, 他. 水痘・ムンプスの Disease Burden に関する研究. 第 8 回日本ワクチン学会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

90) 田村務, 西川眞, 西尾治, 鈴木宏. 急激に感染拡大したノロウイルス, Lordsdale 近縁種による急性胃腸炎の分子疫学的解析. 第 52 回日本ウイルス学会. 11 月 2004. 神奈川県横浜市.

91) 田中政宏. 世界における予防接種の動向；日本への視点. 保健医療科学院保健所所長研修. 6 月 2004. 埼玉県和光市.

92) 田中政宏. 米国 CDC の活動. 保健医療科学院公衆衛生（国際保健学）修士課程講義. 11 月 2004. 埼玉県和光市.

93) 田中政宏. 海外における健康管理. 国際協力事業団長期専門家派遣前研修. 2 月 2005. 東京.

94) 田中政宏. 今後の予防接種事業のありかたについて. 埼玉県市町村予防接種担当者研修. 11 月 2004. 埼玉県和光市.

95) 田中政宏, 崎坂香屋子, 重松美加, 木村幹男, 谷口清州, 他. 国際社会と医療活動. 聖母大学看護学部（国際看護学専攻科）シリーズ講義. 4-7 月 2004. 東京.

96) 谷口清州. 感染症サーベイランス. WPRO における感染症サーベイランス検討会. 2 月 2005. 北海道札幌市.

97) 谷口清州. SARS と鳥インフルエンザ. 三重大学白圭会. 6 月 2004. 三重県津市.

98) 谷口清州. 感染症集団発生への対応. 保健所長危機管理研修会. 9 月 2004. 埼玉県さいたま市.

99) 谷口清州. 新興再興感染症の現状. 保健所長危機管理研修会. 8 月 2004. 東京.

100) 谷口清州. 集団発生への対応. 保健所長研修会. 6 月 2004. 東京.

101) 谷口清州. インフルエンザの最近の状況. 山形県感染症講習会. 3 月 2005. 山形県山形市.

102) 谷口清州. 新興感染症に対するグローバルな対応. 感染症学術講演会. 7 月 2004. 東京.

103) 谷口清州. 感染症に対するグローバルサーベイランスと対応. 感染研シンポジウム. 5 月 2004. 東京新宿区.

104) 谷口清州. SARS と鳥インフルエンザ. 東京都感染症指定医療機関会議. 11 月 2004. 東京.

105) 谷口清州. 最近の感染症の現状. 歯科衛生士講習会. 8 月 2004. 東京.

106) 谷口清州. 感染症へのグローバルな対応. 滋賀県感染症対策研究会. 11 月 2004. 滋賀県大津市.

107) 谷口清州. 新興再興感染症. 特別課程ウイルスコース. 10 月 2004. 東京.

108) 谷口清州. 感染症対策における連携について. 第 25 回衛生微生物技術協議会. 7 月 2004. 埼玉県さいたま市.

109) 谷口清州. 国際感染症と病院対策. 第 36 回日本小児感染症学会. 11 月 2004. 東京都千代田区.

110) 谷口清州. 感染症サーベイランスの果たす役割. 第 45 回日本熱帯医学会大会. 10 月 2004. 東京.

111) 重松美加, 谷口清州, 岡部信彦. 本邦におけるサーベイランスからみた輸入症例の記述疫学, 2000-2003 年. 第 45 回日本熱帯医学会大会. 10 月 2004. 東京.

112) 谷口清州. 鳥インフルエンザとインフルエンザパンデミックに対する Preparedness. 第 52 回日本化学療法学会西日本支部総会. 12 月 2004. 兵庫県神戸市.

113) 谷口清州. 人獣共通感染症におけるヒトのサーベイランスと対策. 第 63 回日本公衆衛生学会総会. 10 月 2004. 島根県松江市.

114) 谷口清州. SARS と鳥インフルエンザ～サーベイランスから. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

115) 谷口清州. インフルエンザの最新情報. 第 9 回埼玉感染症研究会. 11 月 2004. 埼玉県さいたま市.

116) 谷口清州. 海外での感染症の状況. 耳鼻科感染症研究会. 9 月 2004. 三重県津市.

117) 谷口清州. 効果的なサーベイランスについて. 阪大微研感染研ジョイントシンポジウム. 2 月 2005. 大阪府大阪市.

118) 谷口清州. 鳥インフルエンザとパンデミック. 高知県小児感染症研究会. 10 月 2004. 高知県高知市.

119) 多屋馨子. 今 話題の感染症～SARS は？鳥インフルエンザは？～. 仙台小児科医会講演会. 12 月 2004. 宮城県仙台市.

120) 多屋馨子. ワクチン情報最前線～日常診療に役立つワクチン情報～. 大阪小児感染症懇話会. 7 月 2004. 大阪府大阪市.

121) 多屋馨子. 予防接種に関する知識（正しい取り扱い等）. 平成 16 年度検疫所看護師研修会. 11 月 2004. 東京都千代田区.

122) 多屋馨子, 多田有希, 進藤奈邦子, 岡部信彦. 我が国の麻疹、風疹に関する血清疫学調査ならびに患者サーベイランス～感染症流行予測調査事業の紹介と国立感染症研究所感染症情報センターの取り組み～. 成医会総会. 10 月 2004. 東京都港区.

123) 多屋馨子. 子どもの冬の感染症について. 立川市育児教室講演会. 12 月 2004. 東京都立川市.

124) 多屋馨子. 子どもの予防接種について. 立川市育児教室講演会. 3 月 2004. 東京都立川市.

125) 多屋馨子. 感染症学、免疫学の最前線. 感染症法改正. 第 1 回大阪大学 21 世紀 COE「感染症学・免疫学融合プログラム」. 9 月 2004. 大阪府大阪市.

126) 多屋馨子. はしかゼロに向けて、日本のはしか、世界のはしか. 第 1 回日本小児科学会麻疹（はしか）公開フォーラム. 3 月 2004. 東京都中央区.

127) 多屋馨子, 新井智, 佐藤弘, 荒木和子, 岡部信彦. 担当都道府県ならびに都道府県衛生研究所：感染症流行予測調査事業より得られた近年の年齢別麻疹, 風疹, MMRワクチン接種状況. 第 8 回日本ワクチン学会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

128) 多屋馨子. わが国の麻疹の現状と麻しんワクチン接種状況について. 第 12 回東日本外来小児科学研究会. 3 月 2004. 神奈川県横浜市.

129) 多屋馨子. ウイルス感染症の迅速対応.シンポジウム「院内アウトブレイクを迅速に察知するための対処法」

ICD の立場から. 第 17 回臨床微生物迅速診断研究会総会. 7 月 3 日 2004. 大阪府豊中市.

130) 多屋馨子. 風疹の現状と対策. 第 20 回学校医部会研修会. 10 月 2004. 神奈川県横浜市.

131) 多屋馨子. 最近の麻疹の流行とワクチン接種の問題点. 第 31 回日本小児臨床薬理学会. 9 月 2004. 静岡県静岡市.

132) 多屋馨子, 鈴木葉子, 大日康史, 逸見佳美, 鈴木里和, 新井智, 大山卓昭, 岡部信彦. わが国の手足口病, ヘルパンギーナ, エンテロウイルス感染症の重症化例に関する検討. 第 36 回日本小児感染症学会. 11 月 2004. 東京都千代田区.

133) 多屋馨子. ワクチンに関する最近の話題.予防接種の最新情報と vaccine preventable disease の国内発生状況. 第 45 回日本臨床ウイルス学会. 6 月 2004. 大阪府豊中市.

134) 多屋馨子, 新井智, 森伸生, 砂川富正, 岡部信彦. 国内麻疹サーベイランス情報から得られたわが国の麻疹の現状と対策. 第 45 回日本臨床ウイルス学会. 6 月 2004. 大阪府豊中市.

135) 多屋馨子. 最近の感染症の実態とその予防ワクチン. 第 51 回日本小児保健学会. 10 月 2004. 岩手県盛岡市.

136) 多屋馨子. インフルエンザ感染症の最近の話題. 第 56 回北摂小児科医会. 11 月 2004. 兵庫県西宮市.

137) 多屋馨子. 感染症について～新興感染症に対する Preparedness～. 第 108 回東京都保健医療学会. 11 月 2004. 東京都文京区.

138) 上野正浩, 他. 1999 年 9 月以降の感染症サーベイランス施行後における先天性風疹症候群の状況. 第 8 回日本ワクチン学会. 10 月 2004. 北海道札幌市.

139) 上野久美, 他. Y県Y市N病院におけるＶＲＥ院内感染実地疫学調査. 第 20 回日本環境感染学会. 2 月 2005. 兵庫県神戸市.

140) 上野久美, 砂川富正, 大山卓昭, 谷口清州, 岡部信彦, 山本昭夫, 藤本嗣人, 徳嶺進洋. H 県 I 市周辺における成人を中心とする急性髄膜炎・脳炎症例の集積. 第 45 回日本臨床ウイルス学会. 6 月 2004. 大阪府豊中市.

141) 山下育孝, 大瀬戸光明, 近藤玲子, 豊嶋千俊, 西尾治. 急性胃腸炎の散発例及び集団発生例から検出されたノロウイルス（NV）の分子疫学. 第 52 回日本ウイルス学会. 11 月 2004. 神奈川県横浜市.

142) 山﨑貢, 松本昌門, 秦眞実, 伊藤健一郎, 他. 腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒類似毒（TDH-related hemolysin: TRH）陽性株の分布及び TRH 遺伝子の塩基配列解析について. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

143) 安井良則, 藤井史敏. BCG 接種に関する堺市の対応について. 近畿小児科学会. 2005.

144) 吉田英樹, 他. バンコマイシン耐性腸球菌（ＶＲＥ）院内感染事例の疫学調査. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

145) 吉川博子, 金沢宏, 木村幹男, 小川基彦. アフリカから帰国後, 発熱, 発疹で発症した地中海紅斑熱/African tick-bite fever の一症例. 第 78 回日本感染症学会総会. 4 月 2004. 東京.

21.エイズ研究センター

センター長　山本直樹

概　要

2004 年末現在世界の HIV 感染者は累積数で 6,000 万人以上に達している。さらに年間約 500 万人の新規感染者が発生し、290 万人が死亡していると予測されている。当初は欧米が中心であったが、現在では、その増加の大部分（85%）はアフリカとアジアにおける流行によるものである。とりわけインド、中国など我が国をとりまくアジア地域での流行の激化が現実のものとなっている。わが国でも昨年度（2004 年）は感染者の数が一年間ではじめて 1000 人を越えるなど、過去最高の新規感染者数を記録し、今後の感染拡大は大いに警戒すべき状態が続いている。

1995 年ごろから始まった HAART の効果には目覚しいものがある。しかし、そのコスト、慢性毒性、さらには薬剤耐性の獲得による治療困難症例の増加が大きな問題となっている。さらに HAART をもってしても、体内からウイルスを完全に駆逐することは今のところ不可能であり、共存とともにその根絶に向けた研究も重要である。このような状況の下、当センターでは、多数の症例に対し、確認試験、薬剤耐性遺伝子検査を行うとともに、新しい検査法の開発と地方レベルへの技術の普及をはかってきた。また生検、剖検例の病理検査を行い臨床現場での診断及び治療に役立てられている。また HIV を分子生物学的手法によって解析し、その特性などを解明することにより、エイズワクチン開発などの応用に向けた多角的な基礎研究を展開している。中でも、BCG-ワクシニアによるプライムーブーストの系、さらに糖鎖変異を導入した弱毒化 SIV が優れた感染防御効果を持つことを明らかにし、注目されている。またアジアに流行する HIV-1 株に関する研究が進展し、多様で複雑な組換え型ウイルスが出現していることを明らかにした。

このように我が国を含むアジアにおける HIV の危機的な流行状況を考えた場合、疫学的、分子疫学的調査研究、HIV-1 ヴァリアントの構造とそのウイルス学的、免疫学的性質の解明、またそれら基礎研究に基づく、ワクチンを含む感染予防・発症阻止技術の開発、新しい細胞側因子の探索による新規薬剤の開発、効率の良い感染性分子クローンの分離法の開発など、その制圧に向けた重要且つ緊急性の高い課題への取り組みをさらに強力に押し進める必要があると考えられる。これらの業務の遂行と、研究水準の一層の向上をはかっているところである。

当センターはまた、国際協力機構(JICA)のエイズプロジェクト等にも積極的に協力し、「ザンビア国エイズ及び結核対策プロジェクト」を推進している。また、JICA との協力によりアジア、アフリカ諸国等からの研修員を対象に HIV 診断技術講習を実施しており、多数の研修員を指導してきた。このように、当センターの活動は一層国際的な展開をみせている。一方、厚生労働省、文部科学省、HS 財団等の研究費による班研究等にも多数参加した。

人事では、山本直樹が東京医科歯科大学教授からエイズ研究センター長に転任(平成 16 年 4 月 1 日付)、さらに巽正志獣医科学部主任研究官が第２室長に配置換(4 月 1 日付)となった。狩野宗英主任研究官が辞職(9 月 30 日)、村上努博士が琉球大学から主任研究官に採用(10 月 1 日)、武田哲博士が東京医科歯科大学のポストドックから第２研究グループ研究員に採用された(平成 17 年 2 月 1 日)。有吉紅也主任研究官がタイ王国国立衛生研究所に派遣、復帰の後 3 月 27 日に長崎大学熱帯医学研究所教授に異動のため辞職(3 月 27 日付)した。

当センターの運営に当たっては倉田毅所長、佐多徹太郎感染病理部長、岡部信彦感染症情報センター長、竹森利忠免疫部長、山口一成血液・安全性研究部長、寺尾恵治医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター長等多くの方の協力を得た。

研究の場に関しては第３室の村山から戸山への移転などで多少の改善がみられたものの、研究スペースの確保と統合は依然として最重要課題のひとつとなっている。

業　績

調 査・研 究

I. エイズワクチンの開発

１. BCG/DIs プライムブーストワクチンと中和抗体指向型ワクチン

エイズワクチンの開発をエイズ研究センターの開始から約 18 年にわたって行い、候補ワクチンとしてヒトで既に使用されている生ワクチンの中で安全性と有効性さらには入手性に富む BCG Tokyo 株とワクシニア DIs 株を用いたプライムブーストワクチンを作成した。本年度までの研究により基本的な BCG, DIs プライムブーストワクチンの概念を確立することができた。今後、その実用化のためにワクチン効果をより有効にすべく、ヒトへの投与を考慮に入れて研究を進める。また、第２世代ワクチンとして感染防御ワクチンの完成を目指してマルチ Env を組込んだ中和抗体指向型ワクチンの開発を米国 NIH ワクチン開発センターと共同研究の形で進める準備が始まっている。さらに、感染者を対象にしたワクチンとしての治療用ワクチンの可能性についてもサルモデルを用いて検討中である。

⑴ 組換え BCG ワクチンの改良

ア．HIV-1 CRF01_AE 92TH022 株をベースにした候補ワクチン構築

HIV-1 CRF01_AE のコンセンサスに極めて近い配列を持つ 92TH022 株をベースに、*gag* 及び *env* 遺伝子を組み込んだ BCG の構築を行った。*gag* と *env* (gp120) 遺伝子の両方を hsp60 プロモーターに繋ぎ同じベクターにクローニングして、BCG に導入することにより、Gag, Env 共発現株を得た。しかし、組み換え菌の生育速度が極めて遅く、Env 発現レベルも低いため、菌にストレスをかけず、しかも Env 発現レベルを増強するための発現法改良の必要性が示唆された。

[松尾和浩、浜野隆一、堀端重男、本多三男]

イ. 組換え BCG-および組換え DIs-HIV/SIV ワクチンのサルモデルによる評価

カニクイサルに人投与量の rBCG を接種後, 人投与可能量の rDIs を追加接種した。rBCG 接種後, 末梢血単核球の ELISPOT 法で Gag 特異的 IFNγ産生細胞が検出され, rDIs 接種後には速やかに増強された。細胞内サイトカイン染色法では, IFNγ$^+$CD4$^+$, IFNγ$^+$CD8$^+$細胞ともに高頻度に観察された。rBCG と rDIs の prime-boost regimen により細胞性免疫は高頻度に誘導可能であった。また, rDIs による免疫増強はコドン非改変型 rBCG 接種群では有意に減弱することより, rBCG において導入遺伝子のコドンを改変することが, rDIs 接種後の免疫応答を左右することが明らかとなった。

[兼清優、網康至(動物管理室)、松尾和浩、染谷健二、須崎百合子(動物管理室)、吉野直人、山本直樹、本多三男]

ウ．SIVGag を発現する rBCG の免疫誘導能の持続に関する研究

rBCG を抗エイズ/結核ワクチンとして実用化するためには、親株である BCG-Tokyo の持つ免疫誘導能を維持し、HIV に対する免疫を長期間誘導する能力が必要である。今回、rBCG-SIVGag あるいは BCG-Tokyo をモルモットに 0.1 mg 皮内接種 1 回または 80 mg 経口投与 2 回のいずれかで免疫し、3 年後における免疫反応について解析した。いずれのワクチン接種群においても、同レベルの PPD 特異的 IFNγ mRNA の発現亢進が観察された。PPD 特異的な IFNγ, IL-12, IL-10, TGF-β の発現パターンは BCG, rBCG 群で同様であった。更に rBCG 接種群では Gag 特異的な IFNγ mRNA の発現亢進が見られた。また、rBCG 群では高い Gag 特異的血清 IgG 抗体価が検出され、それは IgG2>IgG1 であった。PPD 特異的血清 IgG 抗体価についても IgG2>IgG1 であり、モルモット IgG2 は Th1 型免疫反応の誘導を示すひとつの指標になる可能性が示唆された。以上の結果より、rBCG-SIVGag は BCG-Tokyo と同様の PPD 特異的免疫反応を示し、Gag に対する IFNγ反応および抗体反応を 3 年以上維持できることが示された。

[川原守、本多三男]

エ．HIV-1 subtypeC をターゲットにした候補ワクチン構築

世界的に最も重要と考えられる HIV-1 subtypeC に対する候補ワクチン構築を継続して行った。ザンビアの HIV-1 感染者由来 subtypeC 分子クローン DB26 株の gag 遺伝子を PCR 法で増幅し、hsp60 プロモーターに繋

いで BCG に導入した。形質転換株での Gag 抗原の発現をウエスタンブロット法で確認し、他のサブタイプと同等に発現する株が得られた。一方ワクシニア DIs のトランスファーベクターに同じ *gag* 遺伝子をクローニングし、組み換えウイルスのスクリーニングを行ったが発現株は得られなかったので、gpt セレクションマーカーを用いた新しいベクターに切り替え、トランスファーベクターを構築中である。
[松尾和浩、原敬志、堀端重男、巽正志、本多三男]

⑵ 組換え DIs ワクチンの改良

ア．HIV-1 由来 *env* 遺伝子を発現する組換えワクシニア DIs 株の構築と同遺伝子をもつ WR 株との比較

HIV-1 89.6 株の *env* 遺伝子を組み込んだ DIs の構築を行い、同遺伝子をもつ組換え WR 株との比較を行った。PCR にて増幅した全長 gp160 遺伝子を薬剤耐性 DIs 組換えベクターに挿入し、DIs 感染細胞にトランスフェクション後、薬剤含有寒天培地にて組換えウイルスを選択した。得られた各クローンに関して、2F5、2G12 等の envelope 特異的な抗体を用いウエスタンブロット法により確認したところ gp160 を発現した株が得られた。この組換え体(rDIs/89.6Env)と同じ遺伝子を組み込んだ組換え WR 株を同じ多重感染度で感染させたところ、細胞での発現量は DIs 株の方が強く、あらためて DIs の有用性について証明された。現在、中和抗体の誘導を目的とした免疫能の誘導を BALB/c マウスを用いて行っており、血清中での V3 特異的な抗体産生が確認できた。
[堀端重男、松尾和浩、山本直樹、本多三男]

イ．HIV 抗原をコードする複製欠損型ワクチニアウイルス DIs 株の安全性に関する研究

本研究では，HIV サブタイプ E 型 *gag* 遺伝子をコードするリコンビナント DIs 株（rDIs)の安全性を Scid マウスモデルで検討した。マウス皮下に rDIs，共に HIV サブタイプＢ型 *gag pol* 遺伝子をコードするリコンビナント MVA 株（rMVA）と野生株（vT142 株)を各々1 匹あたり 10^8pfu 接種し経時的に臨床観察をおこなった。vT142 接種群では，接種後 2 週間以内にポックスウイルス特異的な臨床症状が観察され，全マウスが死亡した。rMVA 接種群では，一過性の臨床症状と体重減少が認められた。一方、rDIs 接種群には何ら臨床症状は認められず，体重の増減は PBS(-)を接種した対照群と変わらなかった。この結果から，rDIs は HIV ワクチンが予防ワクチンのみならず，免疫不全状態にある感染者の治療用ワクチンベクターとしても応用できる可能性が示唆された。
[染谷健二、山本直樹、本多三男]

ウ．rDIsSIV*gag/pol* の経皮接種による粘膜免疫誘導に関する研究

経皮免疫を行なったマウスでは SIVp27 特異抗体が血清中で検出され、さらにマウスの糞抽出液中でも特異抗体が誘導された。SIVp27 特異抗体産生細胞は、脾臓、腸管膜リンパ節、小腸の粘膜固有層リンパ球でも ELISPOT 法で検出された。また、ワクチンの製剤を考える上で、生ワクシニアウイルスベクターと不活化ワクシニアウイルスベクターとの比較を行った。その結果、不活化ワクシニアウイルスベクターでは殆ど SIVp27 特異抗体産生細胞は検出されず、さらに粘膜アジュバントであるコレラトキシンと不活化ワクシニアウイルスベクターを併用しても同様であった。
[吉野直人、兼清優、染谷健二、松尾和浩、山本直樹、本多三男]

エ．高発現型ワクシニア Promoter を用いたワクシニア DIs の至適化

本研究は、高発現が期待されるワクシニア Promoter（MH5 および PSFJ）を用いて、SIVGag 抗原発現ワクシニア DIs を構築し、従来の rDIs（rDIs/P7.5-SIVGag）と *in vitro* および *in vivo* の両面で比較し、最も効率の良い Promoter の選択を検討した。抗原の発現量は、ヒトやサルの哺乳類細胞株において、MH5、PSFJ を利用した rDIs で発現量が高いことが確認された。現在、マウスを用いた免疫実験を行っている。
[岡村智崇、松尾和浩、兼清優、堀端重男、泉泰之、染谷健二、志田壽利(北海道大学)、山本直樹、本多三男]

オ．修飾型 HIV Env 発現ワクシニア DIs による抗 HIV 抗体誘導について

我々は安全性が極めて高いワクシニア DIs をワクチンベクターに用いて、Env の可変領域を至適化および gp41

を一部 truncate した修飾型 Env を発現する組み換え DIs を構築し、その免疫誘導能についてマウスを用いて検討した。これまで、Western blotting 法によって Env の発現が確認され、現在、BALB/c マウスに接種し免疫応答を解析中である。
[岡村智崇、兼清優、杉山高啓、松尾和浩、堀端重男、染谷健二、山本直樹、本多三男]

カ．複製欠損型ワクチニアウイルス DIs 株と modified vaccinia Ankara (MVA) 株の病体学的特性の比較

HIV-1 候補ワクチンとして開発が進められている HIV-1 *gag* 遺伝子を組み込んだ複製欠損型ワクチニアウイルス DIs 株 (rDIsHIV-1gag) と MVA 株 (MVAHIV-1gag)の病体学的特性の比較を行った。両ウイルスを BALB/c マウスに腹腔内注射し、接種後の末梢血細胞の病体解析を行ったところ、rDIs 株に対して MVA 株は、細胞数の減少及びアポトーシス細胞の増加が大きい傾向が見られた。さらに追加解析を行う予定だが、以上の結果より DIs 株は MVA 株と比較して安全性が高く、ベクターとして臨床応用できる可能性が示唆できた。
[太田信頼、染谷健二、山本直樹、本多三男]

⑶ 中和抗体指向型ワクチン

ア．Multi-Clade ワクチン開発のための HIV-1 Env 抗原発現法の検討

Env 抗原を BCG 菌体内に発現すると、菌にストレスとなり生育が極端に悪化するため、Env 抗原を菌体外に分泌発現させる系を検討した。まず *Mycobacterium kansasii* 由来α抗原遺伝子のプロモーターとシグナルペプチド領域をコードする遺伝子の下流にマルチクローニングサイトを設けた分泌ベクターpKAH240S を構築し、米国 NIH で作製された subtype B HIV-1 由来修飾型 gp140 遺伝子を導入して BCG に形質転換した。得られた株を調べた所、gp140 抗原の分泌が認められた。菌の生育阻害は認められなかったので、分泌系は *env* 遺伝子を BCG で発現するのに有効と考えられる。
[松尾和浩、岡村智崇、堀端重男、Gary. J. Nabel(米国 NIH)、本多三男]

イ．*in vitro* における抗 HIV-1 抗体の比較

現在まで我々は HIV *env* V3 領域の GPGR エピトープを認識するモノクロナール抗体である KD-247 について HIV-1 抑制の検討ししてきた。この抗体は T-tropic のみならず M-tropic また TCLA のみならず Primary isolate virus (PI)を有意に中和可能だった。本年度はこの抗体と V3 領域を認識するモノクロナール抗体である 1006-15D、694/98D、gp41 を認識するモノクロナール抗体 1367-D, C5 を認識するモノクロナール抗体 1331-160 の中和力価を比較検討した。用いたウイルスは M-tropic の PI である JRCSF, 92US712, N-NIID, 92TH022, 92TH014, dual tropic である HIV89.6, NIH1054 T-tropic である MN, MNp を用いた。方法は GHOST cell assay を用いた。その結果他の抗体と比較し KD-247 は M-tropic の PI,dual tropic, T-tropic を効率良く中和した。V3 領域を認識するモノクロナール抗体である 1006-15D、694/98 は 92TH014, MN を中和した。Gp41 C5 に対するウイルスである 1367-D、1331-160 はこれらのウイルスには効果がなかった。これらの事から subtype-B において KD-247 は幅広く中和効果が期待される事が示唆された。
[滝澤万里、本多三男]

２．粘膜免疫誘導型 HIV ワクチンの開発

HIV ワクチン開発において粘膜免疫誘導が可能であれば、HIV の主な侵入門である生殖器粘膜での感染阻止が期待される。そこで、昨年度に続き SIVgagDNA、HIVenvDNA と各種アジュバントを用いたマウス動物実験を行った。接種経路は経鼻および経膣で行い、免疫後の血清中および膣洗浄液中の特異的 IgG と IgA の検出を行った。その結果、HVJenv ベクターキットやキトサンに高いアジュバント活性を検出した。また LuSIV 細胞を用いた中和活性の解析では X4 ウイルスに関しては中和活性の測定が可能である事が示唆された。より詳細に本系により誘導される IgA 機能を解析するためにポリメリック Ig レセプターのノックアウトマウスを使用し現在検討中である。
[石川晃一]

３．糖鎖変異ウイルス感染の免疫応答とワクチンへの応用

エイズワクチンに必要な有効な防御免疫は弱毒ウイルス感染により誘導されるがその機序は未解明である。そこで prime-boost Env ワクチンと弱毒性の糖鎖欠失変異ウイルスの免疫応答の比較解析を行っている。Env ワクチンは初期感染抑制効果は弱いが慢性感染を強く抑制した。免疫として Env 特異的な細胞性免疫、抗体の重要性が明らかとなった。ウイルスを再チャレンジ感染を行ったところ感染抑制が見られた。同様の抑制は SIVmac239 長期未発症感染ザル観察された。今後、糖鎖欠失変異ウイルス感染による防御免疫との比較解析を行う。

[杉本智恵、森一泰]

４．感染抑制における SIV 特異的 CD4 陽性 T リンパ球の役割

エイズウイルスに対する防御免疫は弱毒ウイルス感染、感染後早期治療により誘導される。これらの感染制御ザルではウイルス特異的 CD4 T 細胞が感染抑制された慢性感染期においても検出されることから感染制御、感染防御における役割が推測される。ワクチンへの応用を前提に感染制御ザルに誘導されている SIV 特異的 CD4 T 細胞が認識するエピトープの解析を行った。MHC が異なるにもかかわらず Gag, Env, Nef タンパクにエピトープが高頻度に同定された。今後エピトープ特異的 CD4 T 細胞の役割を明らかにしエイズワクチンへの応用を検討する。

[杉本智恵、森一泰]

５．CD4 T 細胞エピトープを発現するセンダイウイルスベクターの開発

防御免疫におけるウイルス特異的 CD4 T 細胞の役割を明らかにするために CD4 T 細胞エピトープを発現するセンダイウイルスベクターを開発した。エピトープの発現は ovalbumin(OVA)遺伝子内にクローニング部位を挿入しエピトープを OVA とのキメラタンパクとして発現させた。Gag エピトープを発現するベクターは Gag タンパクを発現するセンダイベクター、ワクシニアベクターよりも効率的に Gag 特異的 CD4 T 細胞を活性化した。

[森一泰、中山英美(阪大微研)]

II. HIV 感染症の治療

１．薬剤耐性 HIV-1

⑴ 抗 HIV-1 療法を受けている HIV/AIDS 患者の薬剤耐性モニタリング

我々は平成８年度より適切な抗 HIV-1 治療実現のための支援事業として、薬剤耐性 HIV-1 検査を実施している。薬剤耐性遺伝子検査の結果は約 3 週間で主治医に報告され、治療薬剤選択の指標として活用されている。平成 16 年 12 月までに参加した施設は 92 施設、解析を行った検体は平成 16 年 12 月の時点で累積 6396 検体、1523 症例に達している。我々の検査は治療支援としてだけでなく、わが国における薬剤耐性 HIV-１の動向を把握する上でも貴重な疫学情報となっており、今までの検査結果の集計より、わが国において薬剤耐性症例数は年々増加の傾向を示しており、また耐性を獲得した症例の中では多剤耐性化が進んでいることを明らかにしてきた。

[杉浦 亙、松田昌和、三浦秀佳、千葉智子、西澤雅子、柿澤淳子、藤野真之]

⑵ 新規感染者における薬剤耐性 HIV-1 のサーヴェイランス

薬剤耐性 HIV-1 症例の増加に伴、近年治療を受けている HIV-1 感染者からの薬剤耐性 HIV-1 の感染拡大が危惧されている。新規感染者における薬剤耐性 HIV-1 の出現頻度の疫学的調査研究は欧米各国で行われており、報告されている頻度は数～26%とされている。我々は平成 16 年度より本邦での新規 HIV-１感染者における薬剤耐性 HIV-1 拡散の状況を把握するために、全国の治療拠点病院、衛生研究所等の協力のもとに新規感染者薬剤耐性調査ネットワークを立ち上げ、全国調査に取り組んでいる。平成 16 年度はエイズ動向委員会で報告された新規感染者の 3 割弱に相当する 278 症例の捕捉に成功し、薬剤の標的であるプロテアーゼおよび逆転写酵素領域について解析を行った。その結果、薬剤耐性による感染が強く疑われる症例の頻度が５％と現時点では低い水準にあることを明らかにした。

[杉浦 亙、松田昌和、三浦秀佳、西澤雅子]

⑶ ウイルスの増殖活性が低下したプロテアーゼ阻害剤耐性 HIV-1 の病態解析

プロテアーゼ阻害剤耐性を獲得した HIV-１の増殖能力の低下機序について解析を行った。その結果、プロテアーゼの基質である Gag の切断部位変異とそれ以外の部位に集積してくる変異が共同して増殖能力の回復に作用することを明らかにした。さらに、増殖能力の低下が粒子形成に及ぼす影響を形態学的に解析した。その結果、共焦点顕微鏡での観察からは増殖能力の低下した HIV-1 では細胞内における Gag の輸送が障害され、Gag が長く細胞内に貯留することを明らかにした。この事実は RI 標識した Gag の動態によっても確認された。また電子顕微鏡による観察からは出芽したウイルス粒子の多くが未成熟なことを明らかにした。

[レイ・ミント、杉浦 亙、佐藤裕徳(遺伝子解析室)、富田康浩(遺伝子解析室)]

⑷ プロテアーゼ阻害剤耐性変異と Gag 変異の連鎖不平衡解析

Pr55Gag タンパクはプロテアーゼ阻害剤耐性変異の獲得に伴い強い 2 次的干渉を受けると考えられている。我々は連鎖不平衡解析を用いた Gag-protease 間の相互干渉の解析を試みた。薬剤耐性遺伝子検査を実施した 134 症例につき、Gag 全領域の遺伝子配列を同定し、プロテアーゼの変異とアミノ酸レベルにおける連鎖不平衡解析を行った。その結果、Gag 基質領域内の Y132F、T375S、A431V、L449V 変異が protease 阻害剤耐性変異と密接な関連があることが示唆された。見いだした Gag 変異の意義を確認するために、リコンビナントウイルスを作成して解析を進めている。

[植田知幸、椎野禎一朗、レイ・ミント、松田昌和、三浦秀佳、杉浦 亙]

⑸ CRF01_AE（サブタイプ E）HIV-1 ウイルスのプロテアーゼの結晶構造解析と数理モデル解析

従来の薬剤耐性研究はサブタイプＢを中心に行われてきが、これにより得られてきた薬剤耐性に関する知見がそのまま non-B サブタイプにも当てはめることができるのか明確ではない。我々は昨年、サブタイプＥでは nelfinavir に対する耐性変異が異なっており、サブタイプＥではＤ30Ｎを取る確率は低く、代わりに N88S が獲得されることを明らかにした。CRF01_AE では D30N が獲得されないのかそのメカニズムを構造科学的に明らかにするために HXB2-D25N, NH1-D25N, NH1-D25N/L10F, NH1-D25N/N88S, NH1-D25N/L10F/N88S 各々のプロテアーゼの精製と結晶化に取り組んでいる。

[柿澤淳子、松田昌和、千葉智子、杉浦 亙、セリア・シッファー(Univ. Massachusetts)]

⑹ 薬剤耐性 HIV-1 の分子進化解析

薬剤耐性変異が生体内でどのように選択進化していくか解明することは薬剤耐性の病態を理解するうえで重要である。共同研究者の田中博らは、中立進化的な分子系統樹解析法と異なり、宿主との相互作用による正の淘汰進化の効果を評価でき、ウイルス進化によく認められる準種の絶滅や復帰変異も解析が可能な新たな計算方法「Sequential-linking アルゴリズム」を開発した。この方法をプロテアーゼ耐性変異と逆転写酵素阻害剤の進化解析に適応した結果、HIV-1 配列の間の系統関係を示しただけではなく、薬剤耐性の宿主内進化、薬剤治療との相関、治療により正の淘汰進化が働いた箇所の同定が可能であった。

[杉浦 亙、松田昌和、千葉智子、柿澤淳子、田中 博(東京医科歯科情報)、任 鳳蓉(東京医科歯科情報)、柴田潤子(東京医科歯科情報)]

⑺ ジェネリック抗 HIV 薬 ” GPOvir”のインパクト評価

平成 15 年 4 月よりタイ国内生産された抗 HIV ジェネリック薬 GPOvir (d4T/3TC/nevirapine 合剤)が急速に普及した。その結果、平成 15 年までの観察期間に 30 / 100 person–year-observation (PYO)前後であった死亡率が、平成 16 年以降 10 / 100PYO 以下へと顕著に低下したことが観察された。本コホート患者における GPOvir 治療成功率は 82%, 薬剤治療歴や特に治療開始直後のアドヘレンスが治療成否に影響を及ぼす主要な因子であることが示された。さらに、患者を取り巻く社会環境、医療従事者や別の患者とのコンタクトと治療失敗との関連を調べている。

[パニータ・パチバニッチ(ランパン県病院)、有吉紅也、安田直史(国立国際医療センター)、パトム・サワンパンヤラート(タイ国立衛生研究所)]

⑻ タイ流行株 HIV-1（CRF01_AE）の抗エイズ薬耐性に関する研究

タイ政府が生産開始したジェネリック薬 GPOvir (d4T/3TC/nevirapine 合剤)の普及に伴い、耐性 HIV-1 株の流行が憂慮されるが、途上国で薬剤耐性株のモニターを行うことは難しい。そこで我々は、タイ流行株の GPOvir 耐性変異頻度に関するデータをもとに、変異分離型 PCR（MS-PCR）の原理を応用した GPOvir 耐性ウイルス簡便・敏速検出法を開発した。この方法は、従来のシーケンス法と比べ安価で､高度な機材を要しないが、高い検出感度を有することから、今後発展途上国における耐性株の流行モニタリングに寄与することが期待される。

[シリパン・センアローン(タイ国立衛生研究所)、ワタナ・オウワニット(タイ国立衛生研究所)、パニータ・パチバニッチ(ランパン病院)、レイ・ミント、有吉紅也、松田昌和、杉浦 亙]

２．新たな抗 HIV-1 阻害薬剤の開発

この研究では遺伝子組み込み酵素を標的にした増殖阻害物質の開発を目指し、低分子化合物ライブラリーのスクリーニングを行なった。今までに 12000 個の化合物のスクリーニングを行い、diketo acid とは異なる化合物を複数見出すことに成功した。新規阻害物質はカルバゾールを基本骨格にもつ低分子化合物であり、strand transfer 阻害活性を呈した。阻害活性の責任領域を同定するために 23 種類の類縁化合物を新たに合成し、阻害活性の評価を行った結果 R2 位の 2-dimethylaminoethyl 基と R3～R5 のメチル基がインテグラーゼ阻害活性の発現に重要であることを明らかにした。

[巌　駸、杉浦 亙、松田善衛、横幕能行、田中晴雄(北里大学)、千葉治美(北里大学)、野村伸彦(富山化学研究所)]

３．経口利用可能な CXCR4 阻害剤の開発

我々は、以前報告した低分子 CXCR4 アンタゴニスト KRH-1636 の誘導体の中から、より高い抗 HIV-1 活性を有し経口利用可能な KRH-2731 を見出した。KRH-2731 は活性化 PBMC に対する X4、 R5X4 HIV-1 の増殖を低濃度（EC_{50}: 1.0-4.2 nM）で抑制した。本化合物をラットに 10 mg/kg で経口投与したときの bioavailability は 37%に達した。hu-PBL-SCID マウスを用いた HIV-1 感染モデルにおいても 10 mg/kg の飲水投与によって X4 HIV-1 の増殖を顕著に抑制し、同マウスに移植したヒト末梢血単核球による抗原特異的な抗体産生や、細胞性免疫には全く影響を与えなかった。以上の結果は、KRH-2731 がエイズに対する臨床応用に向けて有望な、経口利用可能な新しい CXCR4 アンタゴニストであることを示している。

[村上　努、田中勇悦(琉球大学)、広瀬国孝(呉羽化学)、谷中幹郎(呉羽化学)]

４．MBL (Mannose Binding Lectin)の HIV 抑制効果

Mannose 分子は HIV の外被や PBMC の表面に多く存在する。MBL はこれまで中和されにくいと言われている M-tropic の PI を PBMC assay にて抑制した事を報告した。これはモノクロナール抗体の抑制機構と異なり HIV の外被にある Mannose に結合する為、モノクロナール抗体よりさらに幅広い抑制効果が期待される。そこで我々は薬剤耐性ウイルスである DR6175(subtypeB)、DR6247(subtypeB)の臨床株を MBL が抑制するかどうか検討した。その結果、DR6175 では 3μg/ml で抑制効果がみられ、DR6247 では高濃度の MBL で抑制効果が見られた。MBL は臨床株における薬剤耐性ウイルスを抑制することにより幅広い抑制効果が示唆された。

[滝澤万里、若宮伸隆(旭川医科大)、杉浦亙、西澤雅子、岸雄一郎(扶桑薬品)、本多三男]

５．r-MBL (Recombinant Mannose Binding Lectin)の選択

in vivo での実験系を行う為には大量な MBL が必要である。native MBL は大量に精製が難しくそこで、r-MBL (Recombinant Mannose Binding Lectin)を用いる事により大量に産生する事が可能である。しかし native MBL と r-MBL が同様に HIV 抑制効果を示す事が望ましい。そこでわれわれは 12 種類の r-MBL を作成し native MBL と比較検討した。そこでその中で、全く HIV を抑制しない MBL も存在したが 6 種類が native MBL と同様かもしくはそれ以上の HIV 抑制効果がみられた。これらの結果により良い r-MBL を用いて今後 *in vivo* の

実験を行う予定である。
[滝澤万里、若宮伸隆(旭川医大)、鈴木定彦(鳥取大学)、岸雄一郎(扶桑薬品)、本多三男]

III. HIV の分子疫学研究

１. 日本における感染性 HIV の分離と *env* C2V3 領域の sequence 解析

日本における HIV 抗体陽性者からのウイルス分離を行った。また *env* C2V3 領域に対する PCR 法にて陽性判定の出た血漿中 RNA および細胞中 DNA については、sequence 解析を行い、その塩基配列およびアミノ酸配列を決定した。これらのウイルス分離結果および sequence 解析結果は HIV 感染症統合データベースと供与され、HIV 関連の研究資料として役立てられている。
[服部真一朗、仲宗根正、本多三男]

２. エチオピア北西部ゴンダルにおける HIV 陽性検体の薬剤耐性およびサブタイプ解析

エチオピア北西部の都市ゴンダル市における HIV 感染症のサブタイプ調査のため、2003 年 1 月から 8 月に同市で採取された男性 48 例、女性 71 例について血中ウイルス量測定、サブタイプの同定、薬剤耐性変異の有無の判定を行った。*Env*、*gag*、*pol* 遺伝子による判定の結果、サブタイプ C 90 例（98%）、A 1 例（1%）そして D 1 例（1%）であった。薬剤耐性変異の解析では、逆転写酵素領域においてネヴィラピン耐性変異 G190A が 2 例(2.2%)、ジドブジン耐性変異 E44D が 1 例(1.1%)に認められた。解析症例はいずれも未治療のため血清中ウイルス量は高く、平均 $10^{5.28}$copies/ml であった。
[藤野真之、松田昌和、西澤雅子、杉浦 亙、太田房雄(徳島大学)、アフワーク・カス(徳島大学)]

３. 北タイにおける HIV コホート研究

国際協力事業団の協力、タイ国立衛生研究所・ランパン病院との共同で、北タイのランパン病院にて HIV 感染者および配偶者を対象にしたコホート研究を運営している。平成 12 年 7 月より平成 16 年 9 月まで感染者 1,219 名、抗 HIV 抗体陰性配偶者 155 名が参加、平成 16 年 10 月 15 日時点の感染者の生存調査では、93%の追跡率が得られ 362 名の死亡が判明、観察期間中の死亡率は 17.4/100person-year-observation（PYO） であった。同コホートは、宿主遺伝子・宿主免疫・ウイルス学等の基礎研究や日和見感染などの臨床研究の基盤として役立っている。また、日・タイ共同研究を促進し、数多くのタイ人研究者育成に貢献している。
[パニータ・パチバニッチ(ランパン県病院)、有吉紅也、パトム・サワンパンヤラート(タイ国立衛生研究所)]

４. アジアにおける新規組換えウイルス新生地点での HIV-1 共感染の高頻度検出とその生物学的意義に関する研究

われわれは先の研究によって、中国雲南省−ミャンマー地域に、新規組換えウイルスの新生地点の存在することを見い出した。これら地域では、組換えウイルス新生の前提として、異なる系統の HIV-1 株の共感染が高頻度に起っていることが予測される。そこでわれわれは、TA クローニング技術を用いたウイルスゲノムのクローナル解析によって、共感染例の検索と、個体内 HIV-1 quasispecies（準種）の構造解析を行った。その結果 中国雲南省からの 26 検体中 2 検体（7.7%）に CRF07_BC あるいは CRF08_BC と CRF01_AE 間の共感染例を、また、ミャンマー由来の 80 検体中 5 検体（6.3%）には、サブタイプ B'、C および CRF01_AE の様々な組合わせの組換ウイルスが共存することを明らかにした。共感染検出方法の技術的限界から、その頻度は本来の頻度の下限値であり、真の頻度はかなり高いレベルにあると考えられる。これまでレトロウイルスでは、共感染（あるいはスーパー感染）は非常に稀とされてきたが、HIV-1 では、共感染を抑制するメカニズムはほとんど作動しておらず、共感染状態を前提として、組換えウイルスが発生し、virus fitness や 宿主免疫応答を driving force とする個体内進化と選択のメカニズムが進行していくものと推測された。In vivo における HIV-1 組換えの発生・選択・淘汰・定着の過程は、これまでほとんど解明が進んでいない分野である。とりわけ今後のワクチン開発戦略に重要な意義をもつと考えられ、現在長期的なフォローアップ研究が進行中である。
[Xiaojie Li, 保科佳美、横田侑子、 Yanling Ma(雲南省 CDC)、 Chaojun Yang(雲南省 CDC), Xueshan Xia(昆明理工大)、 Kunlong Ben(昆明動物学研究所)、 Min

Thwe(ミャンマー保健省)、 Tin Aung(ミャンマー保健省)、Kay Thi Aye(ミャンマー保健省)、Khin Yi Oo(ミャンマー保健省)、草川　茂、武部　豊]

５．ICR (Inter-CRF recombinant): 新しいクラスのHIV-1 組換えウイルスの発見とその意義

アジアにおけるエイズ流行の拡大を背景として、アジアでも、いくつかの地域で様々な新しいタイプの組換えウイルスが同定されている。われわれは、これまでの研究によって、中国雲南省とミャンマーに新規組換えウイルス（URF）が新生している世界的にも類例をみない地点の存在することを明らかにしたが、この地域の流行株の継続的なモニタリングの結果、検出された組換え体の中に、すでに樹立された組換え型流行株（circulating recombinant form, CRF）の間の遺伝子組換えによって生まれた第２世代の組換えウイルス−inter-CRF recombinant (ICR)−が含まれることを明らかにした。第１は、中国に流行する２種の組換えウイルス（CRF07_BC, CRF08_BC）の間の組換えウイルス（ICR01_0708)。第２は、CRF07_BC とタイに起源をもつ CRF01_AE 間の組換えウイルス（ICR02_0701）である。それぞれ雲南省東部およびミャンマーのハイリスク集団に見い出された。異なる系統のウイルス株が高リスク集団に cocirculate している状況では、単にサブタイプ間の組換えだけではなく、既に樹立された CRF の間の”第２世代”の組換えウイルスも容易に新生しうること。またその背景には多種の HIV-1 株に高度に暴露され、またそのようなウイルスが急速に伝播しうる社会的ネットワークの存在が示唆される。HIV-1 の遺伝学的・構造的多様性は、複製エラーによる連続変異に加えて、遺伝子組換えによる非連続変異によって著しく加速されており、今後のワクチン戦略に新たな困難を生み出す可能性が危惧される。

[Li Xiao-Jie、小野木利成、納富香子、草川茂、Xueshan Xia(昆明理工大)、Min Thwe(ミャンマー保健省)、武部豊]

IV. HIV-1 感染性クローン樹立法ならびに各種研究技術の確立

１．HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法(半日)の開発

1)昨年度までに開発した逆転写酵素(RT)活性高感度測定系（RTARTA）を用いて HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法を完成させる。2)実際に HIV 感染者血漿中の HIV-RT 薬剤感受性を測定し、薬剤耐性の新たな指標としての意義を明らかにする。以上を目的として以下を検討した。まず、HIV-RT 薬剤として RT inhibitor の細胞内活性体 AZT-TP、d4T-TP、3TC-TP を用いた。HIV-RT では野生株 HIVmn-RT と変異株 5 株を用いた。これらの HIV-RT と薬剤を用いて RTARTA を応用した HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法開発を行った。最後にこの試験法により実際に HIV-1 感染者血漿中の HIV-RT 薬剤感受性を測定した。その結果、AZT-TP と 3TC-TP 耐性が確認できたが、d4T-TP 耐性は確認できなかった。HIV 感染者血漿 8 検体では、3TC-TP に対して非耐性から高度耐性まで様々な感受性を確認した。(HIVmn-RT に比較して 1.4 倍-250 倍以上の IC50)【結論】簡便で大量検体処理可能な HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法が確立された。本法では測定時間が半日(約 7 時間)で、培養を基本とした既存の測定法に比べて迅速である。また、既存の方法が血漿中ウイルスを選別してしまうのに対して、本法では総体として把握する事が可能である。今後、薬剤耐性の有用な指標と成り得るか、さらなる検討が必要である。

[仲宗根正、Walid Heneine(米国 CDC)、杉浦亙]

２．免疫不全ウイルスの感染における血球細胞の経時的な病的変化の解析

保存血中において、免疫不全ウイルスが時間経過と共に各細胞群にどのような影響を及ぼすかを検討した。まず初めに、健常血での病体変化の動向を確定するため control となる血液での解析を行った。その結果、リンパ球、単球、顆粒球においてアポトーシス細胞の増加、及び機能低下の差が顕著に見受けられた。この系を元にして、引き続き HIV 感染者の血液保存についての病体解析を行う。

[太田信頼、兼清優、相澤志保子、山本直樹、本多三男]

３．HIV-1 感染力価を迅速に測定する T 細胞系のレポーター細胞株 MaRBLE cell の樹立と実用化

ヒト T 細胞由来の細胞株 HPB-M(a)に LTR 制御のレポーター遺伝子（EGFP、RFP、firefly l uciferase）お

よび CMV 制御の reni l la luciferase を組み込み、HIV-1 の力価を定量する新たな細胞株 MaRBLE cell を樹立した。RFP を発する細胞数および firefly luciferase 活性は p24 抗原量で評価したウイルス量と相関した。CMV 制御の reni l la luciferase は細胞数を補正する目的で導入し、reni l la luciferase 活性は細胞数と高い相関を示した。この細胞を活用した新規薬剤のスクリーニング、薬剤耐性 HIV-1 の感受性評価などを実施している。

[千葉智子、三浦秀佳、滝澤万里、松田昌和、松田善衛、本多三男、杉浦 亙]

４．細胞内における抗 HIV 薬（プロテアーゼインヒビター）の薬剤濃度のモニタリング

現在薬剤感受性検査には HeLa 細胞を基にしたレポーター細胞が主に使用されているが、このようなレポーター細胞での薬剤の取り込み・代謝が HIV-1 本来の宿主であるリンパ球系細胞と同等であるか明確ではない。我々は細胞内への抗 HIV-1 薬の取り込みおよび細胞内濃度に着目し、T 細胞系細胞株の HPB-M(a)と CEM、上皮細胞系細胞株の HeLa 細胞におけるプロテアーゼ阻害剤の細胞内濃度を HPLC にて測定した。測定を行ったネルフィナビル、サキナビル、ロピナビル及びリトナビル何れの薬剤も細胞内において数～数十倍の濃縮が観察された。全般に HeLa 細胞の方が T 細胞系の細胞よりも高い傾向を示した。

[西澤雅子、三浦秀佳、藤野真之、杉浦 亙、加藤真吾(慶応大)]

５．Competitive RT-PCR を用いた HIV-1 感染患者血漿中の viral load 測定

発展途上国でのモニタリングシステムとして安価な患者血漿中 viral load の定量の開発・実用化に取り組んだ。共同研究者の加藤等が開発した Competitive RT-PCR による測定法を用いて Amplicor HIV-1 モニターver1.5 で viral load を測定した患者検体を測定した結果、アンプリコアの定量値と良好な相関性を示した。しかし、一部の検体で定量結果の乖離も認められたことから、今後より広範囲の viral load を検出できるよう Competitive RT-PCR の系を改良し、また non-B サブタイプにも対応した primer の開発についても検討を行っている。

[濱武牧子、西澤雅子、柿澤淳子、杉浦 亙、加藤真吾(慶応大)]

６．より高い増殖能を持つ HIV-1 CRF08_BC 感染性分子クローンの樹立

中国南西部の広西省および雲南省南部における主要な流行株である CRF08_BC の分離株 00CN-HH040 から、感染性分子クローン HH040NX4 および NX22 を樹立した。これらのクローンは、分離株同様 CCR5 をコレセプターとして使用した。PBMC では、NX22 の方が早い kinetics で増殖するが、CD4 および CCR5 を発現する NP2 細胞では NX4 の方が高い増殖性を有していた。いずれの細胞でも良く増殖できる有用なクローンを樹立する目的で、これらの特異性を決定しているゲノム上の領域の同定を試みた。その結果その結果、NP2 細胞については、 NX4 の pol 遺伝子のインテグラーゼ後半から vpr までの約 1500 bp の領域に、その高い増殖性を決定している領域が存在することが明らかになった。また、pbs からインテグラーゼ前半までの領域を NX22 由来、インテグラーゼ後半から vpr までの領域を NX4 由来の DNA を組み合わせることで、NP2 細胞に対して NX4 よりも高い増殖性が獲得されることなどを見い出した。分離後継代数の少ない分離株を鋳型に、分離株と同等のより機能の高いクローンを樹立することは、地域特異的な流行株のウイルス学的研究および将来のワクチン開発のために有用であると考えられる。今回の研究で得られた感染性分子クローンは、中国における HIV-1 の流行株のウイルス学的研究および将来のワクチン開発のために有用であると考えられる。

[草川　茂、武部　豊]

７．HIV-1 サブタイプ B' の感染性分子クローンのウイルス学的性状の解析

東南アジアにおいて見い出される HIV-1 サブタイプ B は、系統進化学的に欧米において流行しているサブタイプ B と区別され、サブタイプ B' と分類される。サブタイプ B' は、タイにおいては感染者数が減少しているものの、ミャンマーにおいては代表的な流行株であり、また中国内陸部の新興流行はサブタイプ B' によるものと報告されており、アジアにおける HIV-1 流行の制御

を考える上で重要なサブタイプである。私たちは、1995年にミャンマーの首都ヤンゴンにおいて収集したサブタイプ B' 分離株 95MM-B106 から、感染性分子クローン B106.22 を樹立した。B106.22 は PHA 刺激 PBMC および CD4 と coreceptor を発現させた NP2 細胞で、分離株と同等の増殖能を示したが、分離株は M-CSF で誘導したマクロファージにも感染性を示すものの、B106.22 は感染性は認めなかった。さらに、T 細胞株 MT2、M8166 に対し、分離株は細胞変性を伴いながら増殖するのに対し、B106.22 は感染性は認めなかった。B106.22 の tat から env までを AD8 に置換したクローンは M-CSF で誘導したマクロファージにも感染性を示した。同じ領域を NL432 に置換したクローンは T 細胞株に対する感染性を獲得した。このことから、この領域を置換することで、分離株と同等のウイルス学的性質を有する感染性分子クローンが得られる可能性が示唆された。本研究で得られたクローン B106.22 は、サブタイプ B' 特異的なウイルス学的性質の解析にとって重要なクローンであり、さらに tat から env までの領域を置換することで、その有用性が高まることが期待される。また、ミャンマーや中国雲南省において見い出されるサブタイプ間組換え体の多くはサブタイプ B' の領域を含んでおり、組換え体の出現機構の解析への応用も期待される。

[草川　茂、武部　豊]

８．感染性クローンの樹立と方法論の改良

著しい多様性を呈する HIV-1 をその特性を保持したまま迅速に感染性クローンを樹立することを目的に方法論の改良を引き続き試みている。本年度は HIV-1 全長ゲノム増幅に用いる PCR 酵素を選別したところ従来よりも迅速に多数の感染性クローンを樹立することが可能になり、この方法論を本邦異性間感染で増加傾向が認められる CRF01_AE ウイルスとセンターで収集している薬剤耐性ウイルスに応用し総計 166 個に及ぶ多数の感染性クローンを樹立することが出来た。

[坂本優子、巽　正志]

⑴ PCR 酵素選別による感染性クローン樹立の効率化

既に「HIV Trapping System」により感染性クローンが樹立できるようになったが、より効率的にするため市販されている High Fidelity, High Proccessivity, High Yield の PCR 酵素数種類を比較検討したところ、Roche 社の Pwo Master が最も高効率(up to 60%)に感染性クローン樹立に適していた。今後とも PCR 酵素の改良は進むものと期待されることから、Long PCR による「HIV Trapping System」はより有効になりうるものと考えられる。

[坂本優子、巽　正志]

⑵ CRF01_AE 組換体感染性分子クローンの樹立と解析

本邦では米国由来の subtype B が主に同性間性感染で感染が拡大しているが、異性間性感染では CRF01_AE 組換体が最も多数を占める。しかしながら CRF01_AE 組換体の感染性クローンは限られている。今後とも感染拡大の抑制が困難な情勢から、その解析の基本となる数多くのクローン樹立が望まれる。NIH AIDS Reagents and Reference から入手した 1993 年にタイ国で分離された５臨床株から総計 61 個の感染性クローンを構築した。各株から１クローンを選別してその全塩基配列を決定し、近隣結合法によって分子系統樹を作成しその帰属を決定したところ、全てのクローンは全長にわたり CRF01_AE にクラスターされた。これらのクローンは今後この組換体の解析に有用であることが期待される。

[坂本優子、巽　正志]

⑶ 本邦感染者由来 subtype B 感染性クローンの樹立と解析

本邦で主に同性間性感染により感染が拡大している subtype B ウイルスの感染性クローンは未だ得られていないことから、本センターに薬剤耐性試験を依頼された検体から、未治療で Japan Consensus と考えられる２検体を選別し Japan Reference Clone とするべく感染性クローンの樹立を試みた。「HIV Trapping System」により２検体より総計 31 クローンを樹立した。そのうち５クローンを選別してその全塩基配列を決定し、近隣結合法によって分子系統樹を作成しその帰属を決定したところ、全てのクローンは全長にわたり subtype B にクラスターされた。これらのクローンは今後本邦における subtype B 解析に有用であることが期待される。

[坂本優子、巽　正志、西澤雅子、杉浦　亙]

⑷ 本邦感染者における感染性クローンによる薬剤耐性獲得機序の解析

薬剤耐性ウイルスの出現は HIV 感染症治療における主要な問題であるが、その耐性獲得の機序については不明な点が依然多く残されている。高効率な感染性クローン樹立法を応用し、同一患者からの継時的なウイルス分離株から全長ゲノムを含んだ感染クローンを複数個解析することにより、新たな視野を広げる目的で解析を開始した。本年度は２名の患者から１ポイント総計 74 の感染性クローンを樹立し、そのうち 20 クローンの全塩基配列を決定した。両ウイルスとも CRF01_AE 組換体であり、その pol 領域の薬剤耐性プロフィールは、予め Genotyping 法で予測した耐性変異の様々な組合せの多様性に富むクローンが含まれていた。今後複数時点での継時的に分離されたウイルスの感染性クローンを樹立し、薬剤治療歴と併せて解析しその耐性機序を解明していく予定である。

[坂本優子、巽　正志、松田昌和、西澤雅子、杉浦　亙]

⑸ Ghana で流行する HIV-1 の感染性クローンの樹立と解析

Ghana 国に多剤併用療法を導入するにあたり、現地で現在流行している HIV-1 subtype の特性を把握し、より現地のウイルスに則した薬剤感受性試験法開発のための分子基盤としての感染性クローンの樹立を試みた。昨年度報告した計 20 クローンのうち、７クローンの全塩基配列を決定し、近隣結合法によって分子系統樹を作成しその帰属を決定したところ、うち p04GHNJ175-12 は pure subtype G であることが確認された。また Heteroduplex Mobility Analysis(HMA)で subtype A に分類されたクローンは CRF02_AG 組換体であり、HMA は解析する領域を選別することが必要なことが判明した。また今回 CRF02_AG 組換体の RT 領域前半に新たに subtype A が組み合わさったクローンと、さらに env gp120 中間部位に新たに subtype D の領域が組込まれた組換体が得られたことから、ガーナでは既に第２次、あるいは第３次の組換体が流行している可能性がある。

[木ノ本正信、徳永研ニ、N. Nii-Trebi(野口記念医学研究所、ガーナ)、佐多徹太郎(感染病理)、巽　正志]

９．HIV-1 感染価迅速測定細胞 MAGIC-5/SEAP の樹立と薬剤耐性試験法への応用

HIV 感染価測定細胞株 MAGIC-5A 細胞と MAGIC-5/SEAP 細胞を応用した各種抗 HIV 薬に対する薬剤耐性試験法は患者耐性ウイルスの薬剤耐性度を迅速簡便高感度にて測定できる。数年に亙りこの試験法の標準化を行い、JST 委託事業により薬剤耐性 Phenotype 試験法の実用化にむけ体制を整え、来春から実際の臨床応用へ向けて上市する段階になった。今後さらに HIV-1Full-Genome 感染性クローンの効率的な樹立法と併せて、より進化した GenoPhenotyping 法への道筋を開拓し、今後の薬剤耐性試験の臨床検査実用化がより有効となるよう期待される。

[橋本　修(三菱化学 BCL)、石子博昭(三菱化学 BCL)、蜂谷敦子(国立国際医療センター)、岡　慎一(国立国際医療センター)、巽　正志]

10．エンベロープ膜融合能評価系の構築

新たな抗 HIV-1 薬剤として膜融合阻害剤が開発され臨床使用が開始されているが、他の阻害剤同様耐性株が報告されている。今後のこれらの変異体の表現型評価のため、Env による膜融合の定量的評価系の構築を進めている。

Env 発現ベクター及び受容体発現細胞間の膜融合孔形成によって生じる細胞質交流の際に２細胞間を移動する T7RNA ポリメラーゼによるレポーター遺伝子の活性化による定量評価系を作成した。この方法は定量性には優れるが膜融合イベントからレポーター遺伝子の活性化までの間に十数時間を要することから膜融合の初期過程の評価には不適当であるため、改良を試みている。

[宮内浩典、駒野淳、松田善衛]

11．迅速な HIV-1 表現型評価系開発に関する研究

HAART の有効性は疑う余地が無い。一方で薬剤の副作用も患者の予後に影響する重要な因子であり、的確な薬剤選択は HAART の成否に大きく影響する。的確な薬剤選択には該当 HIV-1 の細胞培養系における薬剤感受性の評価が一つの根幹をなすが、その際に障害となるの

が薬剤耐性ウイルスの低増殖能である。我々は放線菌由来の代謝産物 Sparsomycin が HIV-1 複製を増強させることを見いだした。この効果は HIV-1 に特異的であり、その作用機序は-1 frameshift を増強するためであることが示唆された。Sparsomycin を利用すると、迅速な HIV-1 表現型評価が可能になるかもしれない。

[駒野　淳、宮内浩典、二橋悠子、浦野恵美子、松田善衛、千葉智子、三浦秀佳、Lay Myint、杉浦　亙]

V. HIV ライフサイクルと宿主因子の研究

１. エンベロープタンパク質サブユニット gp41 の構造・機能関連

HIV-1 ウイルス感染に際しての膜融合は gp41 部分によって惹起される。われわれは gp41 の膜貫通部分(MSD)が膜融合にも関与することを示してきたが MSD のどの部分が重要な役割を果たしているのかを明らかにするために MSD 全長にわたってアラニン挿入変異体を作成し膜融合を指標に評価を行った。その結果ヘリックス相互作用に関与すると想定される GXXXG モチーフとその下流の保存されたアルギニン残基周辺への挿入変異により膜融合が顕著に低下することが明らかとなった。タンパク質解析によりこれらの変異体では Env のプロセシングに障害が見られることがわかった。MSD は膜への Env の固定や膜融合のみでなく Env の生合成にも寄与することが示唆された。

[宮内浩典、駒野淳、山本直樹、松田善衛]

２. Proteomics による HIV-1 複製に関与する宿主因子の解析

近年 HIV-1 感染、AIDS 発症への抵抗因子の形で宿主因子の関与が注目されている。われわれは質量分析法用いたプロテオミクスの手法を用いて HIV-1 複製に影響を与える宿主タンパク質の同定を試みている。われわれはタグを付加したいくつかの HIV-1 ウイルスタンパク質を発現させ、それぞれのタンパク質と相互作用をする宿主因子を免疫共沈降後の質量分析によって同定し、その HIV-1 複製への影響を探索中である。これらの宿主因子の解析は新たなウイルス増殖阻害手段の開発を含めた治療面への貢献と同時に、より深い HIV-1 遺伝子産物の機能解明に寄与すると考えられる。

[宮内浩典、浦野恵美子、二橋悠子、駒野　淳、松田善衛、高橋信弘(農工大)]

３. HIV-1 レセプター分子 CXCR4 の細胞表面への発現制御に関する研究

HIV-1 は CXCR4 をレセプターの一つとして細胞に感染する。レセプターの発現動態を制御すれば、ウイルス感染を抑止することが可能となる。我々は CXCR4 がどのようなメカニズムで細胞内を輸送され、細胞表面に達するのかを解析した。CXCR4 は７つの膜貫通ドメインのうち２つを欠くと細胞表面に到達できないが、homo oligomer や CXCR4 の wild type や mutant 間との hetero oligomer を形成する活性を維持する。この活性は７つの膜貫通ドメインのうち４つを欠いても同様であった。CXCR4 は、多量体を形成することが細胞表面への移送に必須ではないことが示唆された。

[駒野　淳、浦野恵美子、二橋悠子、宮内浩典、松田善衛]

４. HIV-1 感染を核内で抑制する機構に関する研究

HIV-1 の感染はごく限られた霊長類由来の細胞に限定される。この現象から宿主内に抗 HIV-1 作用を示す restriction factor の存在が明らかとなってきた。これらを同定することは、HIV-1 複製の分子機構の解明、ひいては複製の制御に大きく貢献することが期待される。ウサギ由来の細胞に対して HIV-1 は感染効率が乏しい。我々はウサギ由来細胞の感染抵抗性がウイルス感染の核内移行後のステップを標的としていることを発見した。この分子機構を解明すると、核移行の後で感染を防ぐ方法が開発できるかもしれない。一方、この抑制を解除することができれば AIDS の小動物モデルが実現可能になるかもしれない。

[駒野　淳、浦野恵美子、二橋悠子、宮内浩典、松田善衛、山本典生(東京医科歯科大)]

５. ヒト免疫不全ウイルス（HIV-1）マトリックスタンパク質のウイルス侵入後の役割の解明

マトリックスタンパク質（MA）のウイルス侵入後の役割と関連する宿主因子の同定を最終目的として、逆転写の効率と合成された DNA の安定性を低下させる MA の変異とその復帰変異に細胞依存性があるかを種々の T

細胞株を用いて検討した。293T (HeLa)細胞を野生株、MA 変異株、復帰変異株でトランスフェクトして得られたウイルスを種々のT細胞株に感染させ増殖を比較した。20LK 変異によるウイルス増殖阻害は細胞によってその程度が大きく異なっていた。一方、復帰変異はほとんどのT細胞株で 20LK 変異を補償していたが CEM (12D7)細胞では全く補償しなかった。この復帰変異株の細胞依存性はシュードウイルスを用いたsingle round感染系でも確認された。以上の結果は、MA変異、復帰変異によってウイルスタンパクとの相互作用が変化する宿主因子の発現レベルに細胞依存性があることを示唆している。
[村上　努、駒野淳, 宮内浩典, 松田善衛, Eric O. Freed(米国 NIH)]

VI. HIV 感染動物モデルの開発に関する研究

１．NOD scid-hu Thy/Liv 及び hu-PBL-NOD scid マウスにおけるTリンパ球のサブセットの解析とHIV-1感染

小動物を用いた HIV/AIDS モデル動物の開発において、我々のグループではNOD scid マウスにヒト PBMC や胎児組織を移植することによりヒトでの HIV 感染を想定したマウス HIV 感染モデル系を作成し利用してきた。ヒト PBMC 感染モデルで見られたこの動物モデルの特徴は X4 野生型ウイルスの感染を再現できることであったが、移植後ナイーブ細胞が消失していくため、初期免疫反応を誘導するのが困難であった。しかし、今回行ったヒト胎児胸腺・肝臓組織を移植した NOD scid-hu Thy/Liv マウスは、ヒト PBMC 移植モデルでは消失していく末梢ナイーブT細胞の長期にわたる産生能が確認された。さらに、静注によるウイルス接種で HIV 感染が成立し、$CD4^+CD8^+$ DP 胸腺細胞の減少や、ヒト PBMC 移植モデルマウスで見られた末梢 $CD4^+$ T リンパ球の減少と末梢ウイルスコピー数の増加といった HIV 感染時に特徴的に起こる反応が見られた。
[堀端重男、網康至(動物管理室)、玉崗有告(済生会中央病院)、山本直樹、本多三男]

２．ヒト造血幹細胞移植 NOG マウスを用いた HIV-1 感染モデルの開発

近年開発された NOD/SCID/gamma (c)(null)マウスに、ヒト造血幹細胞を移植して、移植後出現するヒト細胞の解析および HIV-1 及び SHIV 感染後のウイルス動態解析を行った。造血幹細胞移植後、ヒト B 細胞、T 細胞(移植後４ヶ月以降)の顕著な増加がみられ、脾臓中にはヒトリンパ球に加えて、ヒト単球／マクロファージや樹状細胞も観察された。感染実験では、R5 および X4 HIV-1 両方に感染し、40 日以降もプラズマ中に高いウイルスコピー数が検出された。ヒト造血幹細胞移植 NOG マウスは、長期かつ安定に HIV-1 に感染し、有用な HIV-1 の感染モデルになると考えられる。
[渡辺哲、寺嶋一夫、太田信頼、堀端重男、山本直樹、本多三男]

３．HIV ワクチン開発の為のモルモット NK 細胞の解析

NK 細胞はウイルス感染細胞や腫瘍細胞を認識し MHC 非拘束性の細胞障害を示す細胞である。我々はモルモットの NK 活性を示す細胞集団を同定しヒト、マウスと同様に高濃度 IL-2 で NK 活性が増加することを見い出したことより、この細胞集団を NK と考えた。ヒト、マウスでは PHA により NK は細胞増殖を起こさず、IL-2 により細胞増殖を起こすとの情報を得た。今後、NK であるというさらなる証拠としてモルモットの NK 活性を示す細胞集団に関し、PHA, IL-2 での細胞増殖能の解析を行う予定である。
[滝澤万里、千葉丈(東京理科大)、本多三男]

４．モルモットモデルにおける免疫能の評価

HIV と結核の重複感染は深刻な問題であり、結核は HIV/AIDS 患者の最大の死因であると言われている。また、モルモットは結核感染モデル動物として広く使われてきた。そこで、モルモットを用いて、組み換え BCG ワクチンが BCG_{Tokyo} と同様に結核に対しても有用であることを確認する系を考えた。まず、ワクチン接種後の免疫能を評価するために、モルモットの IFN-gamma 分泌細胞を ELISPOT で測定する系を確立した。現在 BCGTokyo をモルモットに接種し、ツベルクリン皮内反応を行うと共に IFN-gamma 分泌細胞を ELISPOT で観察している。今後は組み換え BCG ワクチンをモルモットに接種し、同様に免疫応答を観察する。さらに、組み換え BCG ワクチンを接種したモルモットに結核の噴霧

感染実験を施行したいと考えている。

[相澤志保子、山崎剛(東海大学)、芳賀伸治(細菌部)、本多三男]

５．マウス HIV 感染モデルを用いた HIV-1 遺伝子発現とウイルス増殖を制御する新たな治療薬剤開発研究

抗 HIV-1 薬剤の増殖阻害効果を *in vivo* で評価するために、RAG2 common γ 鎖欠損 SCID マウスにヒト末梢血単核球を移植した hu-PBL-SCID マウス HIV-1 感染モデルの構築を行った。構築した hu-PBL-SCID マウスに HIV-1 を接種・感染させ、既存の抗 HIV-1 薬と新規薬剤を経口投与し血漿中 HIV-1 RNA コピー数（VL）の変動を観察した。その結果、既存の抗 HIV-1 薬剤投与群と新規薬剤投与群では薬剤未投与群に比べて VL は有意に低下し、その阻害効果が確認された。hu-PBL-SCID マウス HIV-1 感染モデルは新規抗 HIV 薬剤のスクリーニングに有用であると考えられた。

[西澤雅子、濱武牧子、藤野真之、厳　駸、三浦秀佳、千葉智子、杉浦 亙]

６．マウス HIV 感染モデルを用いた HIV 感染症治療法の開発

NOD-SCID common γ 鎖欠損 SCID マウスの脾臓にヒト末梢血リンパ球を移植した hu-PBL-SCID マウス/HIV 感染モデルを構築し、HIV 抗原曝露樹状細胞による特異的免疫能の賦与と感染症免疫療法としての可能性について検討を加えたヒト PBMC の CD14 陽性細胞分画より高い純度の樹状細胞を誘導し、HIV 抗原に曝露の後、マウス脾臓内に注入した。数週間の間隔で感作を行った後、誘導された特異的細胞性免疫および液性免疫について in vitro での評価を行っている。

[濱武牧子、西澤雅子、松田昌和、厳　駸、武田 哲、杉浦 亙]

７．マカクザルに異なった病態を惹起する病原性 SHIV の比較解析

SHIV-89.6P clone64（Cl64）ウイルスは接種ザルに強度のウイルス血症を引き起こすにも拘わらず、強毒性 SHIV-C2/1 KS661（C2/1）とは異なり、感染初期の CD4 陽性細胞の減少は一過性に止まり、3 年以上の経過観察でもエイズ様症状は引き起こさない。 本研究では、昨年度に引き続き、Cl64 が惹起する特異的病態の原因となるウイルス側の遺伝的要因を明らかにするために、C2/1 との間に種々の組換ウイルスを作製し、その特性を詳細に調べた。

その結果、*in vitro* では、5'半分 Cl64＋3'半分 C2/1 型組換ウイルスは C2/1 と同様の高い増殖性を示し、5'半分 C2/1＋3'半分 Cl64 型組換ウイルスは Cl64 と同様であった。即ち、高い増殖性はゲノムの 3'半分により規定されていると推測された。更に、Cl64 の Env gp41 に C2/1 型のアミノ酸変異を導入するだけで増殖性が C2/1 型に変わることより、この部位が *in vitro* での高増殖性を規定していることが分かった。一方 *in vivo* では、5'半分 Cl64＋3'半分 C2/1 型組換ウイルス接種アカゲザルは 4 頭中 3 頭が発症したのに対し、5'半分 C2/1＋3'半分 Cl64 型組換ウイルスの場合は 4 頭中 2 頭が発症した。接種後 4 週目の末梢血中ウイルスの全ゲノムシーケンスを決定した結果、何れのウイルスにも 1～6 カ所の変異が認められた。5'半分 Cl64＋3'半分 C2/1 型ウイルスは全て tRNA プライマー結合部位が C2/1 型に変化していた。5'半分 C2/1＋3'半分 Cl64 型ウイルスには、共通して、Env gp41 に C2/1 型のアミノ酸変異が入っていた。この変異は *in vitro* と同一であり、ウイルスの病原性発現に必要であると考えられるが、十分ではない様である。この点に関して更に解析を進めている。

[阪井弘治、篠原克明(バイオセーフティ管理室)、三浦智行(京都大学ウイルス研究所)]

８．糖鎖欠失 SIV 感染に対する獲得免疫の解析

SIVmac239 gp120 の 5 個の N-結合型糖鎖を欠失した変異 SIV(Δ5G)はアカゲザル感染において初期感染後に強く抑制され、以降慢性感染期は極めて低く抑えられる。そこで獲得免疫の解析を行った。中和抗体、細胞性免疫いずれも誘導されたが個体によりそれぞれ免疫の誘導に差が見られた。誘導された中和抗体と細胞性免疫には逆相関の関係があった。感染による免疫機能の障害が低いことから両免疫が相補的に感染抑制に働くことが推測された。

[杉本智恵、森一泰]

９．糖鎖欠失 SIV の細胞指向性と初期感染細胞の解析

糖鎖欠失 SIV（Δ5G）はアカゲザルでの病原性が低下し、in vitro 解析ではマクロファージ指向性を示す。病原性と細胞指向性における糖鎖の役割を明らかにするため、Δ5G のアカゲザルでの初期感染細胞を病理学的に解析した。SIVmac239 感染は感染後 7 日目から腸管、リンパ節の T 細胞に認められ、その後感染 T 細胞数の増加とマクロファージへの感染拡大が見られた。それに対し、Δ5G 感染は初期の感染が一部の組織のみに且つ一過性に限局され、マクロファージへの感染拡大も起こらなかった。この初期感染の違いがウイルスの弱毒化と関連していることが示唆された。

[杉本智恵、森一泰]

VII. 日本および他の諸国における臨床ウイルス株の分離とその病態解析

１.わが国における HIV 抗体陽性者からのウイルス分離とその特性解析

1988 年より HIV 抗体陽性者からのウイルス分離を行っており、平成 16 年度の検体数は 134 検体（hemophilia：105 検体・その他の感染：29 検体、陽性検体：25）あった。2005 年 8 月時点で 4177 検体（hemophilia：2974 検体・その他の感染：1203 検体、陽性検体：877）に達した。これらのサンプルは血漿成分、細胞成分、それら DNA/RNA および分離臨床株として、レトロスペクテイブな解析のためにセットで保管されており、国内の研究者の要望に応じて分与されている。その結果は抗エイズワクチンの開発および感染者の治療指針の確立のための資料として役立てられている。

[仲宗根正、滝澤万里、染谷健二、川原守、服部真一朗、本多三男]

２.北タイにおける宿主遺伝子多型と HIV 感染抵抗性に関する研究

HIV 感染抵抗性に関連する宿主遺伝子を調べるため、北タイランパン県病院 HIV 外来を受診した感染者 297 名、感染した配偶者を持つ抗 HIV 抗体陰性配偶者 93 名の宿主遺伝子(IL4, CCR2, RANTES, DC-SIGN, DC-SIGNR)の塩基配列多型を PCR－RFLP 法にて調べた。その結果、DC-SIGNR の遺伝子多型である exon5 の SNP（IMS-JST 025121）が“A”, exon 4 に見られる 69 塩基の VNTR(variable number of tandem repeat)が”５”, あるいは, ”homozygous”である抗 HIV 抗体陰性女性配偶者が, HIV に感染した女性配偶者に比べ統計的に有意に多いことが判明した.

[ヌアンジャン・ウイチュクチンダ(タイ国立衛生研究所)、有吉紅也、中山英美(大阪大学微生物病研究所)、塩田達雄(大阪大学微生物病研究所)、北村義浩(東京大学医科学研究所)、岩本愛吉(東京大学医科学研究所)]

３．北タイ HIV 感染者および HIV 抗体陰性配偶者における HIV 特異的細胞性免疫の研究

HIV-1 特異的細胞障害性 T 細胞（CTL）は、感染者のウイルス体内増殖を抑制する主要な宿主免疫である。タイで流行する CRF01_AE 株 Gag タンパク中の CTL 認識部位（エピトープ）を分子レベルで解明するため、我々はペプチドを用いた CTL エピトープマッピングを行い、これまでに新たに４つのエピトープを発見した。また、サブタイプＢと同じエピトープ領域であっても、CRF01_AE に感染したタイ人では拘束 HLA クラスⅠアリールが異なることを発見した。これらの結果は、HIV・エイズワクチン開発に役立つ情報を提供する。

[ブサラワン・シーワンタナ(タイ国立衛生研究所)、田中真理、有吉紅也]

４．家族内感染例 NH3 に見出された高度薬剤耐性の発達機構への組換えの関与

HIV-1 の治療に用いられている抗ウイルス剤への耐性ウイルス株は、薬剤の標的タンパク質の機能部位のアミノ酸残基の置換や挿入によって生じるが、実際の患者では複数のアミノ酸置換が組み合わせで耐性が獲得されている場合が多く、複製中に生じる塩基置換から完成された耐性株へ至る進化過程については必ずしも明確ではない。われわれは、これまでに家族内感染例（NH）の HAART 治療歴のある感染者 NH3 に、逆転写酵素（RT）領域の活性部位の大きな挿入配列（Ins69）と点突然変異（M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y）をもつ高度多剤耐性株を見出しているが、ケースをモデルとして複製中に生じる塩基置換から完成された耐性株へ至る進化過程の詳細について解明を進めた。その結果、RT 領域の

遺伝子配列の進化学的解析から、このウイルス株２つの配列に近縁なウイルス同士の組換えで発生したことを明らかにした。さらに分子進化過程の詳細を解明するために遺伝的マーカーとして複数の制限酵素切断部位の変異を加えた感染性クローンを作成し、これらのウイルスの in vitro 共感染実験を行った。ウイルスゲノムの大量解析には、われわれが新たに開発した 96-well microtiter plate を用いた RT-PCR～クローニング～塩基配列決定のシステムを用いた。その結果、Ins69 と 210W の間の連鎖は感染６日～８日で平衡に達し、共感染が頻繁に生じる状況では組換えウイルスが容易に生成されること。抗ウイルス剤が存在しなければ野生型ウイルスがその他のすべての遺伝子型に対して高い適応度を持つことなどを明らかにした。

[椎野禎一郎、保科佳美、武部豊]

５．HIV-1 遺伝子組み換えにおけるサブタイプ C LTR の selective advantage（選択優位性）

先にわれわれは、中国雲南省西部（Dehong）地域に、世界的に見ても類例のない−新規組換えウイルス（Unique recombinant form, URF）の新生地点の存在することを見出した。組換えウイルスの新生する初期過程を追跡できる極めてユニークなアドバンテージを生かして、この地域に見い出される URF の全ゲノム解析を行い、組換え点の特徴および組換えに際して作動している生物学的淘汰圧に関して解析を行った。その結果、16 検体中 6 検体がサブタイプ B'、残り 10 検体（63 %）はサブタイプ B'と C からなる多様な構造をもつ URF であった。Dehong URF のもつ組換え点のかなりの部分が中国の他地域に広く分布する組み換え型流行株（ circulating recombinant forms, CRFs ）CRF07/08_BC の組換え点と一致することから、Dehong URF は CRF07/08_BC と起源を共有し、おそらく過去に生まれた Dehong URF の中に CRF07/08_BC の共通祖先が存在した可能性が示唆される。また LTR 直下流の非翻訳領域に関してはサブタイプ B'あるいは C に由来するものが 1:1 の比率でみられるにもかかわらず、LTR 部分はすべてサブタイプ C に由来するという興味深い知見が得られた。このことはサブタイプ B'と C 間の遺伝子組換えに際して、サブタイプ C 側の LTR が選択されるような強い淘汰圧が働いているという可能性−生物学的優位性−を示唆するものである。

[武部　豊、Li Xiao-Jie, Ma Yanling, 草川　茂、Xia Xueshan(昆明理工大)]

６．HIV-1 スーパー感染とウイルスの個体内進化に関する解析

HIV-1 スーパー感染の有無は、将来のワクチン戦略を考える上で重要である。これまでに世界で数例が報告されているが、われわれは、国内症例の中にスーパー感染例と考えられるはじめてのケースを見出した。この症例から経時的に採取された検体を用いて、スーパー感染後のウイルスの個体内進化の様相を解析した。初診時およびその３ヶ月後の virus load が上昇した時点の検体の解析を行った結果、両時点で全く異なる系統のウイルス種（共にサブタイプ B）が血漿中に見出されること。さらに２ヶ月後にはウイルス準種の約 10%、さらにその１年後にはそのすべてが、組換えウイルスに置換されていることが明らかとなった。本感染例では初感染がいつであるかは明らかではないが、初診時には最初に感染したウイルスによるウイルス学的セットポイントの状態にあったと考えられ、ついで、約３ヶ月後に第２のウイルスのスーパー感染が起ったものと推論される。これらの知見は第１のウイルス感染によって誘起された宿主の免疫学的応答によってセットポイントに達していても、第２のウイルスのスーパー感染を阻止できないこと、また組換えウイルスがもとのウイルス（resident virus）および superinfecting virus に比べてなんらかの生物学的優位性をもつことが示唆された。このことはまた HIV-1 に対する十分な防御的免疫反応を誘起するワクチン開発が必ずしも容易な課題ではないことを示唆するものと考えられる。

[武部　豊、横田侑子、Li Xiao-Jie、小泉寛和(熊本大学エイズ学研究センター)、滝口雅文(熊本大学エイズ学研究センター)、岡　慎一(国立国際医療センターエイズ治療開発センター)]

VIII. その他

１．HIV 感染症統合データベースの運用

エイズワクチン開発に重要な情報をデータベース

(DB)化して公開（一部制限）し、HIV 関連研究者に活用してもらうことを目的として HIV 感染症統合データベース（略名：HIV-DB、URL：https://aids.nih.go.jp）を構築し、運用している。

本 DB では、国立感染症研究所・エイズ研究センターにおいて 1989 年から解析中の日本およびタイ国 HIV 感染者からのウイルス分離結果、遺伝子配列、蛋白構造情報などのウイルス遺伝子生物学的情報に加えて、臨床データを時系列に管理・検索可能となる統合 DB を構築し WEB 上で提供する。

DB 内容は、平成 17 年 3 月末現在、DDBJ の HIV 遺伝子 DB（123,706 件）に加えて、提供 HIV 感染者 572、ウイルス分離解析数 3217、C2V3 遺伝子解析数 361、V3 部蛋白構造解析数 361(PDB 形式)、対応臨床データ（生年、性別、CD4 細胞数、ウイルス量、薬剤履歴、その他）からなる。主機能は、DDBJ の HIV 遺伝子データに対する遺伝子相同性検索、遺伝子系統樹解析、genosubtyping、独自の division 作成機能、V3 部蛋白 3 次元構造の閲覧機能、臨床データ検索機能である。

本 DB は、研究情報データベース化事業の１つとして国立感染症研究所と科学技術振興事業団と共同で開発され、平成 14 年 10 月に WEB 公開された。

[仲宗根正、科学技術振興機構]

２．HIV-1 ゲノムの保存領域を標的とする siRNA の設計アルゴリズムの開発とそれによる HIV-1 増殖阻害効果の評価（HIV 増殖阻害のための新技術開発）

RNA 干渉とは、細胞に導入された 2 本鎖 RNA がそれと相同な塩基配列をもつ mRNA を切断することによって遺伝子発現を抑制する現象である。RNA 干渉による遺伝子機能の制御は極めて特異性が高いため、様々な宿主遺伝子だけでなく病原体遺伝子機能の特異的抑制技術として注目されている。しかし HIV-1 や HCV に代表される RNA ウイルスでは、著しく高いゲノム多様性のため siRNA 配列の選択が難しいばかりでなく、１種類の siRNA を単独で用いた場合、その siRNA に耐性をもつウイルスが容易に出現し得ることが報告されている。そこで我々は、多様なウイルス株において高度に保存された領域から siRNA を設計するアルゴリズムを構築し、データベースに登録された約 250 種の HIV-1 配列をもとに siRNA の設計を行った。ついで siDirect (http://design.RNAi.jp/) アルゴリズムにより、ヒト遺伝子に対して off-target 効果が特に少ないと予想される配列を選択した。これらの siRNA による HIV-1 の増殖抑制効果を培養細胞系で評価したところ、HIV-1 の増殖を著しく抑制する効果が見られた。本アルゴリズムおよび培養細胞によるアッセイ系により、多様な HIV-1 株に対して広汎に有効な siRNA を迅速に特定できることが期待される。

[内藤雄樹(東大理)、納富香子、小野木利成、程久美子(東大理)、西郷　薫(東大理)、武部　豊]

３．ガーナにおける B 型肝炎に関する研究

ガーナとの HIV 研究の過程で、アフリカにおける肝炎ウイルスの存在も明らかになり、G 型肝炎および TTV の遺伝子解析を行い報告するとともに健常者でのＢ型肝炎罹患率も判明してきた。そこでこれまでに得られている血清検体よりＢ型肝炎の分子疫学的解析を行った。その結果５検体の全遺伝子配列と７検体のＳ領域の遺伝子配列を同定した。その結果すべての株はゲノタイプＥで在る事が判明した。現在より詳細な分子系統樹の作成等を行っている。

[石川晃一、ガーナ野口研究所、阿部賢治(感染病理部)]

国際協力関係業務

I. JICA との共催による HIV-1 診断技術講習「第２回 HIV 感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術コース」（平成 16 年 6 月 28 日–7 月 30 日）

現在世界的に拡大を続けている HIV-1 感染、AIDS 発症の予防のためには、HIV-1 の蔓延状況の正確な把握が欠かせない。このためには確固とした診断技術に基づいた HIV-1 感染診断が必須である。近年 HIV-1 の感染診断は従来の感染の有無のみを判断する血清学的診断に加えて、感染ウイルスの質、量を知ることができる PCR 法に基づいた診断法が重視されるようになってきている。しかし、現在感染の中心となっている第三世界では必ずしもこれらの診断技術が確立されていないのが現状である。これらの状況に対応するため当センターでは JICA との共催により第三世界の研修員を対象に HIV-1 の感染診断のための技術講習コースを毎年１回開催している。

過去２フェーズ（各フェーズ５年）に渡って血清診断を中心とした研修を行ってきたが、近年の核酸に基づいた診断技術への需要に答えて、平成 15 年度からは「HIV 感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術」と名称を改め PCR や塩基配列解析などを含めた研修を行っている。平成 16 年度にはフィジー、インドネシア、マラウィー、マレーシア、ナミビア、セーシェル、スワジランド、タンザニア、タイ、ザンビア、ジンバブエの各国１名（計 11 名）の研修員を対象に５週間にわたって村山分室研修棟を中心として技術研修を行った。研修内容は診断に必要な関連分野の講義、診断技術実習、施設訪問等を組み合わせたもので、実習は小グループ制で行った。研修後の評価では特に近い将来核酸技術に基づいた診断方法の導入予定の国が多いことからも高い評価を得た。

[松田善衛、本多三男、仲宗根正、杉浦　亙、狩野宗英、西澤雅子、藤野真之、武部　豊、椎野禎一郎、草川　茂、巽　正志、阪井弘治、鈴木寿子、石川晃一、森　一泰、駒野　淳、山本直樹、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、佐多徹太郎(感染病理部)、木村幹男(感染症情報センター)、岡　慎一(国立国際医療センター)、若杉なおみ(国立国際医療センター)、増田道明(獨協医科大学)、加藤真吾(慶應義塾大学)、小柳義夫(京都大学)、中島一格(東京都西赤十字血液センター)]

II. その他

1. JICA タイ国立衛生研究所(JICA 長期専門家派遣)(平成 16 年 5 月- 平成 17 年 3 月)[有吉紅也]

2. Group training course in research for tropical diseases (JICA Institute of Tropical Disease, Nagasaki University)「HIV 感染症の分子疫学」講師(平成 16 年 5 月 24 日)[武部豊]

3. JSPS サマープログラム外国人研究者受入(平成 16 年 7 月 6 日-8 月 25 日)[杉浦　亙]

4. JICA「ナイジェリア HIV 感染予防対策」研修コース（北海道大学大学院医学研究科）見学受入(平成 16 年 9 月 17 日)[本多三男]

5. エイズ予防財団「アジア地域エイズ専門家研修」講師(平成 16 年 10 月 6 日)[山本直樹]

6. JICA「インド国分子生物学」コース研修員受入(平成 16 年 10 月 12-13 日)[本多三男]

7. エイズ対策研究事業外国人研究者招へい(平成 16 年 12 月 4-12 日)[杉浦　亙]

8. JICA「HIV/エイズ対策コース」（国際交流サービス協会）講師(平成 17 年 2 月 10 日)[巽正志]

研修業務

I. 第 15 回 HIV 検査法（PCR 法等）技術研修会（平成 16 年 10 月 27 日−29 日）

都道府県・政令市・特別区の地方衛生研究所及びエイズ治療の地方ブロック拠点病院等の検査従事者を対象とした HIV 検査法（PCR 法等）を用いた HIV 感染症の診断技術研修会を行った。全国の地方衛生研究所等への普及と標準化を図り、わが国における検査体制の充実を図ることを目的とする。

[杉浦　亙、武部　豊、松田善衛、草川　茂、椎野禎一郎、西澤雅子、藤野真之、松田昌和、山本直樹、今井光信(神奈川県衛生研究所)]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Hamano T, Sawanpanyalert P, Yanai H, Piyaworawong S, Hara T, Sapsutthipas S, Phromjai J, Yamazaki S, Yamamoto N, Warachit P, Honda M, Matsuo K: Determination of HIV type 1 CRF01_AE *gag* p17 and env-V3 consensus sequences for HIV/AIDS vaccine design. AIDS Res Hum Retroviruses. 20: 337-340, 2004.

2) Nakasone T, Hara T, Yoshino N, Honda M: Update on HIV/AIDS in Japan, 2003. (Lu Y, Essex M eds), HIV in Asia, Kluwer Academic Publishers, p72-78, 2004.

3) Matsuo K, Puthavathana P, Promkhatkaew D, Balachandra K, Ruxrungtham K, Hamano T, Sutthent R, Sittisombut N,

Butraporn R, Sriwanthana B, Boonlong J, Izumi Y, Yamazaki S, Yamamoto N, Warachit P, Honda M: Japan's collaboration with Thailand in the development of an HIV/AIDS vaccine. AIDS in Asia. (Lu Y, Essex M eds), HIV in Asia, Kluwer Academic Publishers, p 561-569, 2004.

4) Dewan MZ, Watanabe M, Terashima K, Aoki M, Sata T, Honda M, Ito M, Yamaoka S, Watanabe T, Horie R, Yamamoto N: Prompt tumor formation and maintenance of constitutive NF-kappaB activity of multiple myeloma cells in NOD/SCID/gammacnull mice. Cancer Sci. 95: 564-568, 2004.

5) Takizawa M, Chiba J, Haga S, Asano T, Yamamoto N, Honda M: The normalization of guinea pig leukocyte fractions and lymphocyte subsets in blood and lymphoid tissues using a flow cytometric procedure. Exp Anim. 53: 321-329, 2004.

6) Takeda S, Shiosaki K, Kaneda Y, Nakasatomi T, Yoshizaki H, Someya K, Konno Y, Eda Y, Kino Y, Yamamoto N, Honda M: Hemagglutinating virus of Japan protein is efficient for induction of CD4+ T-cell response by a hepatitis B core particle-based HIV vaccine. Clin Immunol. 112: 92-105, 2004.

7) Someya K, Xin KQ, Matsuo K, Okuda K, Yamamoto N, Honda M: A consecutive priming-boosting vaccination of mice with simian immunodeficiency virus (SIV) *gag/pol* DNA and recombinant vaccinia virus strain DIs elicits effective anti-SIV immunity. J Virol. 78: 9842-9853, 2004.

8) Yamakami K, Honda M, Takei M, Ami Y, Nakasone T, Kitamura N, Nishinarita S, Sawada S, Horie T: Early bone marrow hematopoietic defect in simian/human immunodeficiency virus C2/1-infected macaques and relevance to advance of disease. J Virol. 78: 10906-10910, 2004.

9) Dohi T, Fujihashi K, Koga T, Etani Y, Yoshino N, Kawamura YI, McGhee JR: CD4+CD45RBHi interleukin-4 defective T cells elicit antral gastritis and duodenitis. Am J Pathol. 165: 1257-1268, 2004.

10) Yoshino N, Lu FX, Fujihashi K, Hagiwara Y, Kataoka K, Lu D, Hirst L, Honda M, van Ginkel FW, Takeda Y, Miller CJ, Kiyono H, McGhee JR: A novel adjuvant for mucosal immunity to HIV-1 gp120 in nonhuman primates. J Immunol. 173: 6850-6857, 2004

11) Saeng–Aroon S, Wichukchinda N, Myint L, Pathipvanich P, Ariyoshi K, Rojanawiwat A, Matsuda M, Sawanpanyalert P, Sugiura W, Auwanit W :Study of antiretroviral drug resistant HIV-1 genotypes in northern Thailand :role of mutagenically separated polymerase chain reaction as a tool for monitoring zidovudine – resistant HIV-1 in resource – limited settings. J Acquir Immune Defic Syndr 36(5): 1051-1056, 2004.

12) Yan H, Miyagi T, Satoh E, Sugiura W, Yamamoto N, Kimura H: Phenotype and function of GM-CSF independent dendritic cells generated by long-term propagation of rat bone marrow cells. Cell Immunol 229(2): 117-129, 2004.

13) Myint L, Matsuda M, Matsuda Z, Yokomaku Y, Chiba T, Okano A, Yamada K, Sugiura W: Contribution of *gag* non-cleavage site mutations for full recovery of viral fitness in protease inhibitor resistant HIV-1. Antimicrob Agents Chemother 48: 444-452, 2004.

14) Zhu D, Taguchi-Nakamura H, Goto M, Odawara T, Nakamura T, Yamada H, Kotaki H, Sugiura W, Iwamoto A, Kitamura Y: Influence of single-nucleotide polymorphisms in the multidrug resistance-1 gene on the cellular export of nelfinavir and its clinical implication for highly-active antiretroviral therapy. Antivir Ther 9(6): 929-935, 2004.

15) Yan H, Chiba T, Kitamura Y, Nishizawa M, Fujino M, Yamamoto N, Sugiura W: Novel Small - Molecule Compounds which inhibit strand transfer activity of HIV-1 integrase. Antivir Ther 9: S6, 2004.

16) Sugiura W, Matsuda M, Chiba T, Kakizawa J, Nishizawa M, Miura H, Hamatake M, Ueda T, Fujino M, Yamamda K, Yamamoto N: Changes in prevalence and patterns of drug resistant mutations in Japan-Summary of nationwide HIV-1 drug resistance surveillance study (1996 to 2003) in Japan. Antivir Ther 9:S6, 2004.

17) Wang Q, Uno T, Miyamoto Y, Hara Y, Kitazawa Y, Lu FZ, Funeshima N, Fujino M, Yamamoto H, Takenaka H, Kawashima Y, Li XK: Biodegradable microsphere-loaded tacrolimus enhanced the effect on mice islet allograft and reduced the adverse effect on insulin secretion. Am J Transplant 4: 721-727, 2004.

18) Yoshizawa N, Yamakami K, Fujino M, Oda T, Tamura K, Matsumoto K, Sugisaki T, Boyle MD. Nephritis-associated plasmin receptor and acute poststreptococcal glomerulonephritis: characterization of the antigen and associated immune response. J Am Soc Nephrol 15: 1785-1793, 2004.

19) Pathipvanich P, Rojanawiwat A, Ariyoshi K, et al., Mortality analysis of HIV-1 infected patients for prioritizing antiretroviral drug therapy. J Med Assoc Thai 87: 951-954, 2004.

20) Takebe Y, Kusagawa S, Yokota Y, Ma Y, Yang C, Li X, Hoshina Y, Wang Q, Li X, Imamura Y, Uehara R, Motomura K, Yang R, Shiino T, Xia X, Ben K, Thwe M, Aung T, Aye K. T., Oo K Y, Lwin H H: Geographical hotspots of extensive intersubtype recombination in Asia: “Melting pot” that generates diverse forms of HIV-1 unique recombinants. Proceeding of XV International AIDS Conference (Bangkok, Thailand). pp. 35-38. Medimond. Italy, 2004.

21) Kusagawa S, Yang R, Takebe Y: Isolation and biological characterization of an infectious molecular clone of HIV-1 CRF08_BC from China. Proceeding of XV International AIDS Conference (Bangkok, Thailand). pp. 39-42. Medimond. Italy, 2004.

22) Hidaka C, Norose Y, Nakagawa Y, Shimizu M, Takahashi M, Ohwaki A, Nohtomi K, Toda M, Kusagawa S, Sakaguchi, M, Kudo S, Takebe Y, Takahashi H: Dermal dendritic cells sensitized with plasmid DNA encoding immunostimulatory sequence by gene gun efficiently prime murine HIV-1 -specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes. Biomedical Research 25(2): 83-91, 2004.

23) Enose Y, Kita M, Yamamoto T, Suzuki H, Miyake A, Horiuchi R, Ibuki K, Kaneyasu K, Kuwata T, Takahashi E, Sakai K, Shinohara K, Miura T, Hayami M: Protective effects of nef-deleted SHIV or that having IFN-gamma against disease induced with a pathogenic virus early after vaccination. Arch Virol 149: 1705-20, 2004.

24) Barnor JS, Miyano-Kurosaki N, Yamaguchi K, Sakamoto A, Ishikawa K, Inagaki Y, Yamamoto N, Osei-Kwasi M, Takaku H: Intracellular expression of antisense RNA transcripts complementary to the human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) vif gene inhibits viral replication in infected T- lymphoblastoid cells. Biochem Biophys Res Commun 320: 544-550, 2004.

25) Villinger F, Miller R, Mori K, Mayne AE, Bostik P, Sundstrom JB, Sugimoto C, Ansari AA: IL-15 is superior to IL-2 in the generation of long-lived antigen specific memory CD4 and CD8 T cells in rhesus macaques. Vaccine 22: 3510-3521, 2004.

26) Matano T, Kobayashi M, Igarashi H, Takeda A, Nakamura H, Kano M, Sugimoto C, Mori K, Iida A, Hirata T, Hasegawa M, Yuasa T, Miyazawa M, Takahashi Y, Yasunami M, Kimura A, O'Connor DH, Watkins DI, Nagai Y: Cytotoxic T lymphocyte based control of simian immunodeficiency virus replication in a preclinical AIDS vaccine trial. J Exp Med 199: 1709-1718, 2004.

27) Lun WH, Takeda A, Nakamura H, Kano M, Mori K, Sata T, Nagai Y, Matano T: Loss of virus-specific CD4+ T cells with increases in viral loads in the chronic phase after vaccine-based partial control of primary simian immunodeficiency virus replication in macaques. J Gen Virol 85: 1955-1963, 2004.

28) Ansari AA, Mayne AE, Onlamoon N, Pattanapanyasat K, Mori K, Villinger F: Use of recombinant cytokines for optimized induction of antiviral immunity against SIV in the nonhuman primate model of human AIDS. Immunol Res 29: 1-18,2004.

29) Komano J, Miyauchi K, Matsuda Z, Yamamoto N: Inhibiting the arp2/3 complex limits infection of both intracellular mature vaccinia virus and primate lentiviruses. Mol Biol Cell 15(12): 5197-207, 2004.

30) Taruishi M, Terashima K, Dewan Z, Yamamoto N, Ikeda S, Kobayashi D, Eishi Y, Yamazaki M, Furusaka T, Sugimoto M, Ishii M, Kitamura K, Yamamoto N: Role of Follicular Dendritic Cells in the Early HIV-1 Infection: In vitro Model without Specific Antibody. Microbiol Immunol 48(9):693-702,2004.

31) Watanabe M, Dewan MZ, Okamura T, Sasaki M, Itoh K, Higashihara M, Mizoguchi H, Honda M, Sata T, Watanabe T, Yamamoto N, Umezawa K, Horie R: A novel NF-kappaB inhibitor DHMEQ selectively targets constitutive NF-kappaB

activity and induces apoptosis of multiple myeloma cells in vitro and in vivo. Int J Cancer. 114: 32-38, 2005.

32) Wiriyarat W, Sukpanichnant S, Sittisombut N, Balachandra K, Promkhatkaew D, Butraporn R, Sutthent R, Boonlong J, Matsuo K, Honda M, Warachit P, Puthavathana P: Specific immune response and pathological findings in BALB/c mice inoculated with recombinant BCG expressing HIV-1 antigen. Asian Pac J Allergy Immunol. 23: 41-51, 2005.

33) Dewan MZ, Watanabe M, Ahmed S, Terashima K, Horiuchi S, Sata T, Honda M, Ito M, Watanabe T, Horie R, Yamamoto N: Hodgkin's lymphoma cells are efficiently engrafted and tumor marker CD30 is expressed with constitutive nuclear factor-kappaB activity in unconditioned NOD/SCID/gammac mice. Cancer Sci. 96: 466-473, 2005.

34) Kanekiyo M, Matsuo K, Hamatake M, Hamano T, Ohsu T, Matsumoto S, Yamada T, Yamazaki S, Hasegawa A, Yamamoto N, Honda M: Mycobacterial codon optimization enhances antigen expression and virus-specific immune responses in recombinant *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guerin expressing human immunodeficiency virus type 1 Gag. J Virol. 79: 8716-8723, 2005.

35) Someya K, Cecilia D, Ami Y, Nakasone T, Matsuo K, Burda S, Yamamoto H, Yoshino N, Kaizu M, Ando S, Okuda K, Zolla-Pazner S, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M: Vaccination of rhesus macaques with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin Env V3 elicits neutralizing antibody-mediated protection against simian-human immunodeficiency virus with a homologous but not a heterologous V3 motif. J Virol. 79: 1452-1462, 2005.

36) Xin KQ, Jounai N, Someya K, Honma K, Mizuguchi H, Naganawa S, Kitamura K, Hayakawa T, Saha S, Takeshita F, Okuda K, Honda M, Klinman DM, Okuda K: Prime-boost vaccination with plasmid DNA and a chimeric adenovirus type 5 vector with type 35 fiber induces protective immunity against HIV. Gene Ther 4: on line publication, 3302590, 2005.

37) Usami O, Xiao P, Ling H, Liu Y, Nakasone T, Hattori T: Properties of anti-gp41 core structure antibodies, which compete with sera of HIV-1 infected patients. Microbes Infect 7: 650-657, 2005.

38) Amarapal P, Tantivanich S, Balachandra K, Matsuo K, Pitisutithum P, Chongsa-nguan M: The role of the Tat gene in the pathogenesis of HIV infection. Southeast Asian J Trop Med Public Health 36: 352-361, 2005.

39) Ode H, Ota M, Neya S, Hata M, Sugiura W, Hoshino T: Resistant mechanism against nelfinavir of human immunodeficiency virus type 1 proteases. J phys Chem B 109: 564-574, 2005.

40) Shiomi K, Matsui R, Isozaki M, Chiba H, Sugai T, Yamaguchi Y, Masuma R, Tomoda H, Chiba T, Yan H, Kitamura Y, Sugiura W, Omura S, Tanaka H: Fungal phenalenones inhibit HIV-1 integrase. J Antibiot 58: 65-68, 2005.

41) Miyauchi K, Komano J, Yokomaku Y, Sugiura W, Yamamoto N, Matsuda Z: Role of the specific amino acid sequence of the membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 in membrane fusion. J Virol 79: 4720-4729, 2005.

42) Kantor R, Katzenstein DA, Efron B, Carvalho AP, Wynhoven B, Cane P, Clarke J, Sirivichayakul S, Soares MA, Snoeck J, Pillay C, Rudich H, Rodrigues R, Holguin A, Ariyoshi K, Bouzas MB, Cahn P, Sugiura W, Soriano V, Brigido LF, Grossman Z, Morris L, Vandamme A-M, Tanuri A, Phanuphak P, Weber JN, Pillay D, Harrigan PR, Camacho R, Schapiro JM, Shafer RW: Impact of HIV-1 subtype and antiretroviral therapy on protease and reverse transcriptase genotype: results of a global collaboration. PLoS Med 2(4): 325-337, 2005.

43) Funeshima N, Fujino M, Kitazawa Y, Hara Y, Hara, Y Hayakawa K, Okuyama T, Kimura H, Li XK: Inhibition of allogeneic T cell responses by dendritic cells expressing transduced Indoleamine 2,3-dioxygenase. J Gene Med 7: 565-575, 2005.

44) Hansmann A, Schim van der Loeff MF, Kaye S, Awasana AA, Sarge-Njie R, O'Donovan D, Ariyoshi K, Alabi A, Milligan P, Whittle HC. Baseline plasma viral load and CD4 cell percentage predict survival in HIV-1- and HIV-2-infected women in a community-based cohort in The Gambia. J

Acquir Immune Defic Syndr 38: 335-341, 2005.

45) Tamamura H, Hiramatsu K, Ueda S, Wang Z, Kusano S, Terakubo S, Trent JO, Peiper SC, Yamamoto N, Nakashima H, Otaka A, Fujii N: Stereoselective Synthesis of [L-Arg, L/D-3-(2-naphthyl)alanine]-Type (E)-Alkene Dipeptide Isosteres and its Application to the Synthesis and Biological Evaluation of Pseudopeptide Analogs of the CXCR4 Antagonist FC131. J Med Chem 48(2): 380-91,2005.

46) Kondo M, Shima T, Sudo K, Nishizawa M, Iwamuro S, Okabe T, Takebe Y, Imai M: Identification of attenuated HIV-1 CRF01_AE variant associated with slow disease progression due to gross genetic alterations in the nef-LTR sequences. J Inf Dis 192: 2005, in press.

47) Rojanawiwat A, Miura T, Thaisri H, Pathipvanich P, Umnajsirisuk S, Koibuchi T, Vongsheree S, Iwamoto A, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P. Frequent detection of Epstein-Barr Virus and cytomegalovirus but not JC virus DNA in cerebrospinal fluid samples from human immunodeficiency virus-infected patients in northern Thailand. J Clin Microbiol, in press.

48) Wichukchinda N, Shiino T, Srisawat J, Rojanawiwat A, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Ariyoshi K, Auwanit W. Heterosexual transmission of novel CRF01_AE and subtype B recombinant forms of HIV-1 in northern Thailand. AIDS Res Hum Retroviruses, in press.

49) Takamura S, Matsuo K, Takebe Y, Yasutomi Y: Ag85B of mycobacteria elicits effective CTL responses through activation of robust Th1 immunity as a novel adjuvant in DNA vaccine. J Immunol 2005, in press.

50) Li X.-J, Kusagawa S, Xia X, Yang C, Wang Q, Yokota Y, Hoshina Y, Onogi T, Nohtomi K, Imamura Y, Shiino T, Yang R, Yamamoto N, Ben K, Takebe Y: Molecular Epidemiology of the Heterosexual HIV-1 Epidemic in Kunming, Yunnan Province, China, Suggests Origin from the Local IDU Epidemic. AIDS Res Hum Retroviruses 2005, in press.

51) Mori, K, Sugimoto, C, Ohgimoto S, Shioda T, Kusagawa S, Takebe Y, Kano M, Matano, T, Yuasa T, Kitagawa D, Miyazawa, M, Takahashi, Y, Yasunami, M, Kimura, A, Yamamoto N, Suzuki Y, Nagai, Y: Influence of glycosylation on the efficacy of an Env-based vaccine against SIVmac239 in a macaque AIDS model. J Virol, 2005, in press.

52) Tamamura H, Araki T, Ueda S, Wang Z, Oishi S, Esaka A, Trent JO, Nakashima H, Yamamoto N, Peiper SC, Otaka A, Fujii N: Identification of Novel Low Molecular Weight CXCR4 Antagonists by Structural Tuning of Cyclic Tetrapeptide-scaffolds. J Med Chem, in press.

2．和文発表

1）松尾和浩，本多三男：抗 HIV ワクチンの開発状況（総説）．化学療法の領域. 20: 1050-1056, 2004.

2）滝口雅文，上野貴将，俣野哲朗，松尾和浩，本多三男：エイズ免疫と日本におけるワクチン研究の進展（総説）．日本エイズ学会誌. 6: 82-90, 2004.

3）塚原優己，和田裕一，吉野直人，喜多恒和，稲葉憲之，戸谷良造：わが国における妊婦 HIV 抗体検査の実施状況－依然続く地域較差－．産婦人科の実際. 53: 1521-1528, 2004.

4）仲宗根正，原敬志，染谷健二，池尾一穂，五條堀孝，山本直樹，本多三男：HIV 感染症統合データベースの開発．日本エイズ学会誌. 6: 42-49, 2004.

5）杉浦　亙：HIV の薬剤耐性研究の現状と今後の課題．現代医療，No.35 Vol.6:113-118

6）杉浦　亙：日本における薬剤耐性 HIV-1 の現状．臨床とウイルス, Vol.31, No.4, 272-282

7）金田次弘, 加藤真吾, 山元泰之, 千葉智子, 杉浦　亙：抗 HIV 療法のモニタリング．日本エイズ学会誌，Vol.5:109-112

8）有吉紅也：発展途上国における HIV・エイズ対策の現状と未来．科学 74(8): 949-953, 2004.

9）武部豊: アジアの HIV･エイズ最前線 Vol. 1 ① 中国（インタビュー記事）. AIDS Report 63: pp. 6. （厚生労働省エイズストップ作戦本部監修，エイズ予防財団編集）中央法規出版．東京, 2004.

10）武部豊: トピックス「HIV サブタイプの最新分類とその世界分布」．病原微生物検出情報　Infectious Agents Surveillance Report (IASR) [http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html], 2004.

11）武部豊:「第 11 回国際レトロウイルス・日和見感染症会議 Oversea congress report」「Confronting HIV 2004」 26: McCann Healthcare Publishing, 2004.

12) 仲宗根正, 山本直樹：ワクチンはまだか！. 感染・炎症・免疫. 35: 2-11, 2005.

13) 仲宗根正：日本伝播 HIV 集団の遺伝子・分子生物学的解析及び分子力学的構造解析. 東北医学雑誌. 117: 27-31, 2005.

14) 武部豊:（分担執筆）ヒト後天性免疫不全症候群（エイズ）「感染症の事典」朝倉書店. 東京. 2004, in press.

15) 武部豊:「HIV の特徴」特集「子どもの HIV 感染症の諸問題」小児内科 37 (3): 東京医学社. 東京. 2004, in press.

16) 武部豊:（分担訳）「ハリソン内科　第二版」HIV 感染症：エイズと関連疾患（Anthony S. Fauci & H. Clifford Lane）. メディカル・サイエンス・インターナショナル.　東京. 2004, in press.

17) 武部豊:「アジアにおける HIV 流行の分子疫学：流行はいかにして形成されたか」「Confronting HIV 2004」26:　McCann Healthcare Publishing. 2004, in press.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Takebe Y, Yokota Y, Kusagawa S, Imamura Y, Uehara R, Thwe M, and Lwin H.H: Precise mapping of recombination breakpoints of HIV-1 unique recombinant forms emerging in Myanmar : in vivo sequence preference for recombination. 11th International Workshop on HIV Dynamics & Evolution. April 29 - May 2, 2004, Stockholm, Sweden.

2) Honda M, Yamamoto N: Cooperation for study of HIV-1 infected individuals & collaborative development of an HIV/AIDS vaccine. South Africa-Japan Science and Technology Forum, 1st Session of the Joint S&T Committee between the Republic of South Africa and Japan, May 11-13, 2004, Pretoria, The Republic of South Africa.

3) Komano J, Miyauchi K, Matsuda Z, Yamamoto N: Inhibiting the arp2/3 complex limits infection of primate lentiviruses. Retroviruses Cold Spring Harbor Laboratory, May 25-30, 2004, Cold Spring Harbor NY, USA.

4) Miyauchi K, Komano J, Yokomaku Y, Matsuda Z: The membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) gp41is involved in the late steps of the membrane fusion. Retroviruses Cold Spring Harbor Laboratory, May 25-30, 2004, Cold Spring Harbor NY, USA.

5) Funeshima N, Fujino M, Kitazawa Y, Okuyama T, Li XL: Potential regulatory function of dendritic cells overexpression indoleamine 2,3-dioxygenase. 7th Annual Meeting of the American Society of Gene Therapy, June 2-6, 2004, Minnesota, USA.

6) Barnor JS, Miyano-Kurosaki N, Abumi Y, Shiina H, Ishikawa K, Yamamoto N, Osei-Kwasi M, Ofori-Adjei D, Takaku H: HIV-1 decoy and vif siRNA ezpressed as a single RNA molecule under the human U6 promoter enhanced the inhibition efficacy of HIV-1 replication in transduced cells. 13th International Symphosium on HIV & Emerging Infectious Diseases, June 3-5, 2004, Toulon, France.

7) Yan H, Chiba T, Kitamura Y, Nishizawa M, Fujino M, Yamamoto N, Sugiura W: Novel small - molecule compounds which inhibit strand transfer activity of HIV-1 integrase. 13th Internatioal HIV Drug Resistance Workshop, Jun.8-12, 2004, Tenerife, Canary Islands, Spain.

8) Sugiura W, Matsuda M, Chiba T, Kakizawa J, Nishizawa M, Miura H, Hamatake M, Ueda T, Fujino M, Yamada K, Yamamoto N: Changes in prevalence and patterns of drug resistant mutations in Japan-Summary of nationwide HIV-1 drug resistance surveillance study (1996 to 2003) in Japan. 13th Internatioal HIV Drug Resistance Workshop, Jun.8-12, 2004, Tenerife, Canary Islands, Spain.

9) Takebe Y, Ma Y, Yang C, Imamura Y, Yokota Y, Kusagawa S, Uehara R, Li X, Li X, Wang Q, Yang R, Yamamuro M, Xia X, Ben K, Thwe M, Aung T, Oo K Y, Lwin H H: Molecular epidemiology of HIV in Yunnan-Myanmar border: Geographical hot spots that generate diverse forms of HIV-1 unique intersubtype recombinants. 5th Sino-Japan Virology Meeting, June 11-12, 2004, Osaka, Japan.

10) Tanaka H, Ren F, Sugiura W, Hasegawa N, Matsuda M, Tanaka H: Analysis of within - patient drug resistance evolution by reconstructing longitudinal phylogenetic tree of HIV-1 pol gene under HAART. Genomes & Evolution 2004, Jun.17-20, 2004, Pennsylvania, USA.

11) 武部豊: アジアにおけるエイズ流行の分子疫学：流行はいかにして形成されたか？ Seminar at Nagoya Metropolitan Univ., June 17, 2004, Nagoya.

12) Hagiwara Y, Dohi T, Kawamura Y, Yoshino N, Kataoka K, Komase K, Suzuki Y, McGhee JR, Fujihashi K: Nontoxic CT mutant (E112K) with second mutated in the COOH-terminal KDEL of the A subunit are effective mucosal adjuvants. 12th International Congress of Immunology, Jul. 2004, Montreal, Canada.

13) Hamano T, Okamoto T, Hibi Y, Takahashi N, Sawanpanyalert P, Yanai H, Hara T, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M, Matsuo K: TuPeA4352 Single synonymous mutation in *gag* p17 gene controls infectivity of HIV-1 CRF01_AE molecular clone in vitro. 15th International AIDS Conference, July 11-16 2004, Bangkok, Thailand.

14) Ibuki K, Enose Y, Miyake A, Takahashi M, Suzuki H, Horiuchi R, Saitou N, Nakasone T, Honda M, Miura T, Takahashi H, Hayami M: Analysis of gut-associated lymphoid tissues (GALT) at early phase of acute pathogenic SHIV intrarectal infection in macaques. 15th International AIDS Conference, Jul. 11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

15) Miyake A, Ibuki K, Enose Y, Suzuki H, Horiuchi R, Saito N, Nakasone T, Honda M, Miura T, Hayami M: Early virological events in various tissues of adult and newborn macaques after intrarectal infection with pathogenic SHIV. 15th International AIDS Conference, Jul. 11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

16) Matsuo K, Izumi Y, Ami Y, Someya K, Hamano T, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M: ThPeA6991 A completely replication-deficient and safe vaccinia virus strain DIs-based HIV vaccine induces high levels of CD4+ T cell responses in mice and monkeys. 15th International AIDS Conference, Jul. 11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

17) Yoshino N, Kanekiyo M, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Yamamoto N, Sato S, Honda M: Evaluation of mucosal HIV/AIDS vaccine based on recombinant vaccinia virus. 15th International AIDS Conference, Jul. 11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

18) Kantor R, Katzenstein D, Rhee SY, Carvalho AP, Wynhoven B, Soares MA, Cane P, Clarke J, Snoeck J, Ssirivichayakaul S, Ariyoshi K, Holguin A, Pillay C, Rudich H, Rodrigues R, Bouzas MB, Cahn P, Brigido L, Grossman Z, Morris L, Soriano V, Sugiura W, Phanuphak P, Vandamme AM, Weber J, Pillay D, Tanuri A, Harrigan PR, Camacho R, Schapiro JM, Shafer RW: HIV-1 Protease and RT mutations according to subtype and antiretroviral therapy : A watch list for epidemiologic studies using a web - based application. 15th International AIDS Conference, Jul.11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

19) Sugiura W, Matsuda M, Chiba T, Nishizawa M, Kakizawa J, Ueda T, Hamatake M, Fujino M, Yamada K, Yamamoto N: Changes in prevalence and patterns of drug resistant mutations in Japan-Summary of nationwide HIV-1 drug resistance surveillance study (1996 to 2002) in Japan. 15th International AIDS Conference, Jul.11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

20) Yan H, Chiba T, Nishizawa M, Kitamura Y, Yamamoto N, Sugiura W: Inhibition of HIV-1 integrase strand transfer activity by Carbazole derivatives. 15th International AIDS Conference, Jul.11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

21) Chiba T, akizawaM T, Matsuda M, Honda M, Nishizawa M, Matsuda Z, Yamamoto N, Sugiura W: A novel HIV-1 reporter cell line for rapid and accurate drug resistance phenotyping. 15th International AIDS Conference, Jul.11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

22) Murakami T, Yoshida A, Kumakura S, Tanaka R, Mitsuhashi S, Kirose K, Yanaka M, Yamamoto N, Tanaka Y: KRH-2731-5HC1: a new potent and orally bioavailable X4 HIV-1 inhibiting CXCR4 antagonist in vivo. 15th International AIDS Conference, Jul. 11-16, 2004, Bangkok, Thailand.

23) Kusagawa S, Yang Y, Takebe Y: Isolation and Biological Characterization of a Replication-Competent Molecular Clone of Human immunodeficiency Virus Type 1 Circulating Recombinant Form 08_BC. Bangkok, Thailand, July 13, 2004.

24) Takebe Y, Ma Y, Yang C, Yokota Y., Kusagawa S, Yang R, Xia X, Ben K, Thwe M, Aung T, Oo K Y, Lwin H H: Geographical hotspots of extensive intersubtype recombination in Asia: "Melting pot" that generates diverse forms of HIV-1 unique recombinant forms. 11th International AIDS Congress 2004, July 15, 2004, Bangkok, Thailand.

25) Hasegawa N, Sugiura W, Ren F, Matsuda M, Tanaka H:

Reconstructing longitudinal evolutional phylogenetic tree of HIV-１ protease gene under HAART by linking within - patient orthologous viral population. 12th International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology （ISMB2004） 3rd European Conference on Computational Biology (ECCB 2004), Jul.31-Aug.4, 2004, Scotland, UK.

26) Takebe Y, Yokota Y, Imamura Y, Motomura K, Uehara R, Thwe M, Zaw M, Lwin H H, Kusagawa S: Frequent detection of HIV-1 coinfections in previously identified unique geographical hotspot of extensive recombination in Asia: Implication for generation and evolution of HIV-1 intergenotype recombinants. 第５回あわじしま感染症・免疫フォーラム, Aug.25-28, 2004.

27) Komano J, Miyauchi K, Matsuda Z, Yamamoto N: Inhibiting the arp2/3 complex limits infection of both intracellular mature vaccinia virus and primate lentiviruses. 4th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Aug.30-Sep.2, Awaji Island, Hyogo.

28) Hagiwara Y, Dohi T, Kawamura Y, Yoshino N, Kataoka K, Komase K, Suzuki Y, Kiyono H, McGhee JR, Fujihashi K: Nontoxic CT (E112K) Mutated In The COOH-Terminal KDEL Of The A Subunit Elicits Mucosal Adjuvant Activity Without Intracellular Trafficking. 4th World Congress on Vaccines and Immunology, Sep. 2004. Tukuba, Japan.

29) Barnor JS, Miyano-Kurosaki N, Abumi Y, Shiina H, Ishikawa K, Yamamoto N, Osei-Kwasi M, Ofori-Adjei D, Takaku H: Lentiviral-mediated delivery of HIV-1 decoy TAR-siRNA molecule that separates to dummy and silent HIV-1 in the transduced cells. 16th International Round Table on Nucleosides, Nucleotides and Nuclei Acids, Sept.12-16, 2004,Minneapolis, USA.

30) Takebe Y: Molecular epidemiology of expanding HIV epidemic in Asia. China Medical University, October 13, 2004, Shenyang, China. Special lecture (hosted by Prof. Shang Hong).

31) Miyake A, Ibuki K, Enose Y, Suzuki H, Horiuchi R, Saito N, Nakasone T, Honda M, Miura T, Hayami M: Early virological events in various organs of adult and newborn macaques after intrarectal infection with pathogenic SHIV. 22nd Annual Symposium on Non human Primate Models for AIDS, Nov. 3-6, 2004, Seattle, USA.

32) Sugimoto C, Yasutomi Y, Ohgimoto S, Shioda, T, Yamanoto N, Nagai Y, Mori K: Viral properties of deglycosylated SIVmac239 mutants: Implication for Neutralization sensitivity, cell tropism and CD4 independency. 22nd Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Nov.3-6, 2004, San Antonio, USA.

33) Saito N, Sugimoto C, Yamamoto N, Villinger F, Ansari A, Mori K: Magnitude of SIV specific CD4 T cells correlated to the control of SHIV-RT infection in the animals received post-exposure prophylaxis. 22nd Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Nov.3-6, 2004, San Antonio, USA.

34) Nishizawa M, Kato S, Miura H, Fujino M, Yamamoto Y, Sugiura W: Comparison of intracellular protease inhibitor concentration and kinetics in different cell types. 5th HIV DRP Symposium Antiviral Drug Resistance, Nov.14-17, 2004, Virginia, USA.

35) Zhu D, Taguchi - Nakamura H, Goto M, Odawara T, Nakamura T, Yamada H, Kotaki H, Sugiura W, Iwamoto A, Kitamura Y: Influence of single - nucleotide, polymorphisms in the multidrug resistance - 1 gene on the cellular export of nelfinavir and its clinical implication for highly - active antiretroviral therapy. 5th HIV DRP Symposium Antiviral Drug Resistance, Nov.14-17, 2004, Virginia, USA.

36) Motohara M, Suzuki H, Miyake A, Ibuki K, Masuda K, Minato N, Kawamoto H, Nakasone T, Honda M, Hayami M, Miura T: Impaired T cell differentiation in thymus at early stage of SHIV-infected monkeys. 3rd International Student Seminar. Nov. 25, 2004, Kyoto, Japan.

37) Takebe Y: Geographical hotspots of extensive intersubtype recombination in Asia: “Melting pot” that generate diverse forms of HIV-1 unique recombinant forms. Drug Resistance Program, NCI-Frederic, Dec. 2, 2004, Frederic, Maryland, USA, Seminar (hosted by Dr. Wei-Schau Hu).

38) Takebe Y: Molecular epidemiology of HIV strains and recombinants in Asia- China - Myanmar - N. Vietnam -. Molecular epidemiology and HIV security, Chaired by Laurie Garrett, Council on Foreign Relations, Dec. 6, 2004, New

York.

39) Honda M, Matsuo K, Nakasone T, Someya K, Yoshino N, Izumi Y, Hamano T, Takizawa M, Kanekiyo M, Horibata S, Kawahara M, Okamura T, Hattori S, Ohta S, Komine S, Ami Y, Yamamoto N: Update on development of prime-boost vaccination with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin and a non-replicating vaccinia virus recombinant. 16th Joint Scientific Meeting of the AIDS Panels, US-Japan CMSP. Dec. 7-9, 2004, Kyoto, Japan.

40) Takebe Y: Geographical hotspots of extensive intersubtype recombination in Asia: “Melting pot” that generates diverse forms of HIV-1 unique recombinants. 日米エイズ, Dec.7-8, 2004, 京都.

41) Komano J: Inhibiting the arp2/3 complex limits infection of both intracellular mature vaccinia virus and primate lentivirues. 40th US-Japan Cooperative Medical Science Program, AIDS Panel. Dec.7-10, Kyoto, Japan.

42) Takebe Y: Precise Mapping of recombination breakpoints of HIV-1 unique recombinant forms in Myanmar: HIV-1 epidemic in Myanmar may share the “roots” with China. 16th Joint Science Meeting of the AIDS Panels U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, Dec.8-11, 2004, Nashville, USA.

43) Takebe Y, Li X, Yokota Y, Onogi T, Wang Q, Kusagawa, S, Hoshina Y, Notomi K, Aung T, Oo K Y, Thwe M: Identification of novel inter-CRF recombinants between CRF07_BC and CRF01_AE in Myanmar: evidence for the direct influence of China's IDU epidemic. 12th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infection, Feb. 22-25, 2005, Boston, USA.

44) Takebe Y, Ma Y, Yang C, Li X, Kusagawa S, Yokota Y, Hoshina Y, Xia X, and Ben K: Characterization of HIV-1 unique recombinant forms emerging in western Yunnan province: implication for the genesis of expanding IDU epidemic in China. 12th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infection, Feb. 22-25, 2005, Boston, USA.

2．国内学会

1）三浦智行，ユーリ・コズレフ，阪井弘治，篠原克明，高橋栄治，鈴木元，伊吹謙太郎，速水正憲：サル／ヒト免疫不全キメラウイルス感染性クローンにおける塩基置換と病原性との関連．第 137 回日本獣医学会学術集会，2004 年 4 月 2-4 日，藤沢.

2）尾田高志，山上和夫，藤野真之，吉澤信行：急性溶連菌感染後糸球体腎炎（APSGN）の腎炎惹起性抗原：NAPlr の Plasmin receptor としての役割．第 47 回日本腎臓学会学術総会, 2004 年 5 月 27-29 日,栃木.

3）尾田高志，藤野真之，山上和夫，清水不二雄，吉澤信行：自然発生高コレステロール血症（SHC）ラットにおける尿細管内 Giant MØ の出現とその機序．第 47 回日本腎臓学会学術総会，2004 年 5 月 27-29 日，栃木.

4）尾田高志，山上和夫，藤野真之，堀田修，吉澤信行：ヒト半月体形成性糸球体腎炎の上皮細胞における形質転換の検討．第 47 回日本腎臓学会学術総会，2004 年 5 月 27-29 日，栃木.

5）尾田高志，山上和夫，藤野真之，吉澤信行：溶連菌由来腎炎惹起性抗原：NAPlr による急性溶連菌感染後糸球体腎炎(APSGN)の発症機序．第 13 回 Lacefield 連鎖球菌研究会, 2004 年 6 月 3-4 日,東京.

6）駒野淳：Do HIV-1's receptor/coreceptor molecules cluster upon viral attachment? レトロウイルス研究会夏期セミナー（SRC2004）. June 4-6, 千葉県長生郡長柄町.

7）蓮尾泰之，和田裕一，林公一，稲葉淳一，明城光三，吉野直人，松田秀雄，谷口晴記，北村勝彦，外川正生，塚原優己，喜多恒和，戸谷良造，稲葉憲之：本邦における HIV 母子感染の疫学的研究(１)妊婦 HIV スクリーニング検査の実施率． 第 22 回日本産婦人科感染症研究会学術講演会. 2004 年 6 月 14 日，名古屋.

8）塚原優己，喜多恒和，阿部史朗，佐久本薫，高野政志，松田秀雄，箕浦茂樹，吉野直人，谷口晴記，蓮尾泰之，北村勝彦，和田裕一，外川正生，戸谷良造，稲葉憲之：本邦における HIV 母子感染の疫学的研究（２）HIV 感染妊婦の発生動向．第 22 回日本産婦人科感染症研究会学術講演会. 2004 年 6 月 14 日，名古屋.

9）松田秀雄，喜多恒和，阿部史朗，佐久本薫，高野政志，吉野直人，谷口晴記，蓮尾泰之，北村勝彦，和田裕一，外川正生，塚原優己，戸谷良造，稲葉憲之：本邦における HIV 母子感染の疫学的研究（３）妊娠中に投与された抗 HIV 薬の効果．第 22 回日本産婦人科感染症研究会学術

講演会. 2004 年 6 月 14 日, 名古屋.

10) 谷口晴記, 外川正生, 大場悟, 葛西健郎, 國方徹也, 高山直秀, 井村総一, 吉野直人, 松田秀雄, 蓮尾泰之, 北村勝彦, 和田裕一, 外川正生, 塚原優己, 喜多恒和, 戸谷良造, 稲葉憲之：本邦における HIV 母子感染の疫学的研究（４）母子感染例の感染経緯と予後. 第 22 回日本産婦人科感染症研究会学術講演会. 2004 年 6 月 14 日, 名古屋.

11) 北村勝彦, 長縄聡, 早川智, 吉野直人, 服部里佳, 西川正能, 谷口晴記, 蓮尾泰之, 外川正生, 和田裕一, 塚原優己, 喜多恒和, 戸谷良造, 稲葉憲之:本邦における HIV 母子感染の疫学的研究（５）感染妊婦における HIV subtype の検討. 第 22 回日本産婦人科感染症研究会学術講演会. 2004 年 6 月 14 日, 名古屋.

12) 吉野直人：変異型コレラトキシンの粘膜アジュバント効果と安全性. 第 9 回岩手 BRM 研究会. 2004 年 9 月, 盛岡.

13) 松尾和浩：組換え BCG/ワクシニア DIs プライムブーストワクチンの実用化研究. 第８回日本ワクチン学会シンポジウム. 2004 年 10 月 9-10 日, 札幌.

14) 山本直樹. HIV ワクチン開発の可能性. 第８回日本ワクチン学会シンポジウム. 2004 年 10 月 9-10 日, 札幌.

15) Barnor JS, Miyano-Kurosaki N, Abumi Y, Shiina H, Ishikawa K, Yamamoto N, Takaku H: Inhibition of IHV-1 replication using a single transcriptional unit that expresses decoy and siRNA in mamarian cells. 第 77 回日本生化学会, 2004 年 10 月 13-16 日, 横浜.

16) 武部豊：アジアのウイルス性感染症の分子疫学.「アジアにおける HIV 流行の分子疫学:流行はいかにして形成されたか？」第 36 回日本小児感染症学会総会シンポジウム, 2004 年 11 月 13 日, 東京.

17) 三浦秀佳, 千葉智子, 滝澤万里, 松田善衛, 松田昌和, 本多三男, 杉浦 亙：ヒト細胞由来の新たなレポーター細胞による HIV-1 薬剤感受性検査法の確立. 第 52 回ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

18) 任 鳳蓉, 杉浦 亙, 田中 博, 長谷川直樹： 抗レトロウイルス治療下の HIV-1 の宿主内進化と薬剤耐性予測１. 第 52 回ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

19) 武部豊、草川茂： アジアにおける新規組換えウイルス新生地点での HIV-1 共感染の高頻度検出とその生物学的意義. 第 52 回日本ウイルス学会, 2004 年 11 月 23, 横浜.

20) 駒野 淳, 浦野恵美子, 二橋悠子, 宮内浩典, 松田善衛, 山本直樹：ウサギ由来の RK13 細胞においてヒト免疫不全ウイルス(HIV-1)感染は逆転写後に抑制される. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

21) 駒野 淳, 宮内浩典, 松田善衛, 山本直樹：感染初期過程におけるウイルス種特異的なアクチン利用の相違. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

22) 駒野 淳, 宮内浩典, 二橋悠子, 浦野恵美子, 松田善衛, 千葉智子, 三浦秀佳, Lay Myint, 杉浦 亙, 山本直樹:ヒト免疫不全ウイルス(HIV-1)複製を特異的に増強する小分子化合物 sparsomycin. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

23) 宮内浩典, 駒野 淳, 松田善衛: Alanine-insertion mutagenesis in membrane-spanning domain of HIV-1gp41. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

24) 杉本智恵, 塩田達雄, 中山英美, 扇本真治, 山本直樹, 永井美之, 鈴木康夫, 森 一泰. 糖鎖欠損変異 SIV の弱毒化とウイルス学的性質の変化. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23, 横浜.

25) 藤秀義, 田中真理, 宮内浩典, 松田善衛, 有吉紅也, 星野忠次, 佐藤裕徳, 横幕能行. HIV env の迅速なクローニング、発現および組み換えウイルス作成システム構築. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

26) 村上 努, 田中礼子, 山本直樹, 田中勇悦:KRH-2731•5HCl: 新規 CXCR4 アンタゴニストは経口利用可能な HIV-1 侵入阻害剤である. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会・総会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

27) 清水佐紀, 吉仲由之, 山本直樹：HIV-1 感染細胞における Ly-GDI の役割について. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日, 横浜.

28) 原敬志, 坂本優子, 照沼裕, 本多三男, 山本直樹, 巽正志：Zambia 由来サブタイプ C 感染性分子クローン

の樹立と解析. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月 21-23 日，横浜.

29) 仲宗根正：日本伝播 HIV 集団の遺伝子・分子生物学的解析及び分子力学的構造解析. 第 356 回東北医学会例会シンポジウム. 2004 年 11 月 26 日, 仙台.

30) 仲宗根正, Walid Heneine, 山本直樹：逆転写酵素活性高感度測定法（Real-Time Amp-RT Assay）の開発.第 34 回日本免疫学会. 2004 年 12 月 1-3 日,札幌.

31) 兼清優, 網康至, 松尾和浩, 染谷健二, 須崎百合子, 吉野直人, 長谷川篤彦, 山本直樹, 本多三男：組換え BCG-および組換え DIs-HIV/SIV ワクチンのサルモデルによる評価. 第 34 回日本免疫学会. 2004 年 12 月 1-3 日, 札幌.

32) Barnor JS, Miyano-Kurosaki N, Abumi Y, Shiina H, Ishikawa K, Yamamoto N, Osei-Kwasi M, Ofori-Adjei D, Takaku H: HIV-1 decoy TAR-siRNAs delivered by lentiviral-vector as a single RNA substrate enhanced HIV-1 inhibition efficacy. Japan Antisense RNA Conference, Dec. 2-3, 2004, Yokohama.

33) 日比悠里名, 浜野隆一, 松尾和浩, 高橋なを子, 馬渕良生, 曽爾彊, 原敬志, 山本直樹, 本多三男, 岡本尚：A single nucleotide synonymous mutation in *gag* gene in seronegative cases of HIV-1 infection（ps-hy2126581）. 第 27 回日本分子生物学会年会. 2004 年 12 月 8-11 日, 神戸.

34) 駒野　淳, 浦野恵美子, 二橋悠子, 宮内浩典, 松田善衛, 山本直樹：Restriction of HIV-1 infection at the post-nuclear translocation process in rabbit cell line RK13. 第 27 回日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月 8-11 日, 神戸.

35) 宮内浩典, 駒野　淳, 松田善衛：Ala 残基挿入変異による HIV-1gp41 膜貫通領域の構造機能連関の解析. 第 27 回日本分子生物学会総会, 2004 年 12 月 8-11 日, 神戸.

36) 村上 努, Freed EO, 山本直樹, 田中勇悦：HIV-1 侵入直後に欠損をもつ変異株とその復帰変異株の細胞特異性. 第２7 回日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月 8-11 日, 神戸.

37) 仲宗根正, 高松純樹, 山本伸二, Walid Heneine, 山本直樹：逆転写酵素活性高感度測定法（Real-Time Amp-RT Assay）の開発. 第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日, 静岡.

38) Someya K, Matsuo K, Izumi Y, Ami Y, Nakasone T, Yamamoto N, Honda M. A novel recombinant vaccinia DIs is replication deficient and efficiently elicits virus-specific positive-immunity. 第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日, 静岡.

39) 横山勝, 木ノ本正信, 徳永研三, 佐多徹太郎, 長縄聰, 北村勝彦, 蜂谷敦子, 岡慎一, 服部知秀, 田中真理, 横幕能行, 有吉紅也, 星野忠次, 仲宗根正, 佐藤裕徳：計算科学の HIV-1 研究への適用に関する基礎研究. 第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日, 静岡.

40) 山上賢治, 武井正美, 網康至, 仲宗根正, 北村登, 三田村巧, 本多三男, 澤田滋正：病原性 SHIV C2/1 感染カニクイサルにおける早期骨髄幹細胞コロニー形成の障害と病態進行への関連性. 第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日, 静岡.

41) 吉野直人, 兼清優, 染谷健二, 松尾和浩, 網康至, 佐藤成大, 山本直樹, 本多三男：リコンビナント DIs ワクチンの皮内接種による粘膜免疫誘導. 第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日, 静岡.

42) 外川正生, 大場悟, 葛西健郎, 國方徹也, 吉野直人, 井村総一, 戸谷良造, 喜多恒和, 和田裕一, 塚原優己, 稲葉憲之：全国小児科調査にみるわが国の HIV 母子感染の実態について. 第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日, 静岡.

43) 和田裕一, 吉野直人, 稲葉淳一, 蓮尾泰之, 林公一, 早川智, 喜多恒和, 塚原優己, 外川正生, 戸谷良造, 谷口晴記, 鈴木智子, 稲葉憲之：妊婦 HIV 抗体スクリーニングの費用に関する調査～公費負担に関する実態調査. 第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日, 静岡.

44) 喜多恒和, 吉野直人, 和田裕一, 外川正生, 塚原優己, 箕浦茂樹, 高野政志, 北村勝彦, 谷口晴記, 戸谷良造, 稲葉憲之：妊娠中の抗 HIV 薬投与による血中ウィルス量の変動と母子感染. 第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日, 静岡.

45) 林公一, 戸谷良造, 喜多恒和, 塚原優己, 吉野直人, 外川正生, 和田裕一, 谷口晴記, 蓮尾泰之, 稲葉憲之：本邦の HIV 感染妊婦出産例における HIV 母子感染予防未実施妊婦の臨床的背景に関する検討. 第 18 回日本エイ

ズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

46) 浜野隆一：抗体陰性 HIV 感染者より分離された増殖欠損 HIV (S8-6).第 18 回日本エイズ学会. 2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

47) 杉浦　亙：本邦における薬剤耐性 HIV-1 の現状と今後の課題．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

48) 奈良妙美，西尾信博，高嶋能文，堀越泰雄，三間屋純一，杉浦　亙：抗 HIV 薬による様々な副作用を呈し、多剤耐性を獲得した HIV 感染血友病患者の 1 例．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

49) 植田知幸，有吉紅也，三浦秀佳，松田昌和，千葉智子，厳　駸，Lay Myint，柿澤淳子，濱武牧子，西澤雅子，杉浦　亙：プロテアーゼ阻害剤耐性変異と Gag 基質領域の相互干渉に関する解析．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

50) 任　鳳蓉，松田昌和，長谷川直樹，杉浦　亙，田中博：HAART 治療下の HIV pol 遺伝子の宿主内進化と薬剤耐性予測．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

51) 太田雅美，簾　貴士，大出裕高，畑　晶之，佐藤武幸，横幕能行，布施　晃，杉浦　亙，星野忠次：臨床応用に向けたコンピューターによるエイズ治療薬の適正予測. 第 18 回日本エイズ学会学術集会, 2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

52) 築地謙治，根岸昌功，長谷川直樹，木内　英，花房秀次，杉浦　亙，加藤真吾：PI 服用患者における毛髪内 PI 定量法の検討. 第 18 回日本エイズ学会学術集会, 2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

53) 加藤真吾，田中理恵，杉浦　亙：LC-MS/MS による AZT の細胞内薬物動態の解析．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

54) 厳　駸, 千葉智子, 三浦秀佳, 西澤雅子, 野村伸彦, 北村義浩，山本直樹，杉浦　亙：新規化合物カルバゾール誘導体による HIV-1 インテグラーゼ活性抑制機序の解析．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

55) 松田昌和，Yan Hua，植田知幸，Urvi Parikh，柿澤淳子，西澤雅子，濱武牧子，藤野真之，三浦秀佳，Lay Myint，山本直樹，杉浦　亙：本邦における薬剤耐性 HIV-1 の動向と変遷に関する考察．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

56) Barnor JS, Miyano-Kurosaki N, Abumi Y, Shiina H, Ishikawa K, Yamamoto N, Osei-Kwasi M, Ofori-Adjei D, Takaku H: HIV-1 decoy TAR-siRNAs delivered by lentiviral-vector as a single RNA substrate enhanced HIV-1 inhibition efficacy. 第 18 回日本エイズ学会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

57) 田中慎一，大場　孝，阪井弘治，仲宗根正，小島直也，佐多徹太郎，山本直樹，石川晃一：各種アジュバントを用いた抗 HIV 抗体産生能の検討．第 18 回日本エイズ学会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

58) 藤秀義, 田中真理, 宮内浩典, 松田善衛, 星野忠次, 有吉紅也，星野洪郎，佐藤裕徳，横幕能行．HIV env クローンライブラリー作成の試み－HIV env の迅速なクローニング、発現および組み換えウイルス作成システム構築－．第 18 回日本エイズ学会，2004 年 12 月 9−11 日，静岡.

59) 原敬志，坂本優子，照沼裕，本多三男，山本直樹，巽正志：アフリカ由来 HIV 1 subtype C 感染性分子クローンの樹立と解析．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

60) 坂田明子，武田哲，山本直樹：Tat 発現 Jurkat 細胞におけるプロテオーム解析．第 18 回日本エイズ学会学術集会，2004 年 12 月 9-11 日，静岡.

22.附属図書館

館長（併任）宮村達男

編集委員長　倉根一郎

概　要

当館は研究所に附属する専門図書館であり、研究支援が第一義の業務となる。研究者の希望に出来る限り沿い、要望の多い購読雑誌はオンライン・ジャーナル契約を優先する利用体制を整えてきた。

今年度は研究者の情報入手方法の多様化、迅速化を支援するため図書館が中心となり、平成 17 年１月 19 日には「ScienceDirect」の講習、２月 25 日には「Web of Science」のトライアルを開催した。

また、本年度から国内所蔵のない文献入手のために、以前から依頼していたＮＬＭ(米国医学図書館)に加え、ＢＬＤＳＣ（英国図書館の文献提供部門）へも依頼を始めたが､国内の文献相互貸借には新たな問題も起こった。それは国立大学の独立法人化に伴い、全国統一料金だった文献相互貸借における複写料金や徴収方法も含め各大学に独自の規定ができたことである。研究者が求める多種多様な文献を入手するには多くの大学が加入し、相互協力が前提となっている「ＩＬＬ（Interlibrary Loan)」相殺システムへの参加も検討課題である。そのためには感染研として複写料金の徴収の是非を含め相互貸借の在り方を議論すべきであろう。

長きにわたり懸案の「電子図書館システム」も具体化する時期になっている。

平成 16 年９月８日の戸山図書委員会で戸山図書館の決算及び予算の報告や新年度予算が了承可決され、新規購入４誌 (1) Hepatology online (2) Chem. Biol. (3) Vector Borne Zoonotic Disease (4) Infect. Control Hosp. Epidemiol. と中止 13 誌 (1) Mol. Biol. Evol. (2) Arch. Oral Biol. (3) Protozoological Abstracts (4) J. Am. Chem. Soc. (5) J. Dent. Res. (6) Systematic Parasitology (7) Pharmacol. Rev. (8) Somat. Cell Mol. Genet. (9) Canadian Entomologist (10) Environmental Entomology (11) Chromosoma (12) Int. J. Med. Microbiol. (13) Syst. Appl. Microbiol. が決まり、和雑誌並びに印刷体価格に含まれるオンライン・ジャーナルは継続し、ＡＳＭ社は全 11 誌パック､エルゼビア社の ScienceDirect に Cell Press の (1) Cancer Cell (2) Cell (3) Curr. Biol. (4) Immunity (5) Mol. Cell (6) Neuron (7) Chem. Biol. を含めた、77 誌を契約した。

加えて､「生物学的製剤に由来する感染症情報収集検討委員会」の購読誌である (1) Am. J. Publ. Health (2) Am. J. Trop. Med. Hyg. (3) Eur. J. Epidemiol. (4) Int. J. Epidemiol. (5) J. Epidemiol. Comm. Health (6) J. Travel Med. のウェブサイト業務､オンラインシステム業務の管理も図書館が行うことになった。

１月 14 日から 19 日には､印刷体の書棚不足と防災上、地下２階の保管雑誌の移動の必要性から、既に移転している国立医療・病院管理研究所の空書架を活用し、全体的な図書整理を行い、閲覧利用しやすい配列に直し、併せて電動書架耐震修理を施した。

組織の改組により移転が決まった口腔保健部（保健医療科学院へ)、及び獣医科学部第四室（独立行政法人医学基盤研究所へ）の雑誌移管が２月 10 日の部長会議で承認され、搬出された。

今後さらに多様化する文献・情報収集手段を予算の制約がある中、どのようにバランスよく図書館が取り入れていくかがこれからの課題であり、研究支援のための図書館の在り方を様々な角度から考えていくことが望まれる。

実績表

雑誌、単行本受け入れ状況

平成16年度

	戸山		村山		筑波		ハンセン	
	洋書	和書	洋書	和書	洋書	和書	洋書	和書
雑誌	**256**	**31**	**112**	**29**	**31**	**13**	**27**	**31**
購入	228	19	103	18	31	9	25	8
交換	22	6	-	-	-	-	-	-
寄贈	6	6	9	11	-	4	2	23
単行本	**65**	**82**	**61**	**38**	**9**	**6**	**2**	**-**
購入	61	67	53	12	3	4	2	-
寄贈	4	15	8	26	6	2	-	-

注：1　「交換」とは、ＪＪＩＤとの交換雑誌である。。
2　戸山の購入洋雑誌には、国内発行英文雑誌(3)を含む。
3　戸山の購入和雑誌には、国内発行英文雑誌(3)を含まない。
4　戸山の和単行本には、図書受け入れ前の紛失分(5)を含む。
5　戸山の洋単行本には、１７年度支払い分(3)を含まない。

文献相互貸借状況

平成16年度

機関名	戸山		村山		筑波		ハンセン	
	供与	依頼	供与	依頼	供与	依頼	供与	依頼
総数	**1,108**	**1,072**	**321**	**807**	**4**	**26**	**-**	**31**
国立感染症研究所	**260**	**62**	**63**	**222**	**-**	**8**	**-**	**31**
戸山	・	・	62	222	-	8	-	30
村山	222	62	・	・	-	-	-	1
筑波	8	-	-	-	・	・	-	-
ハンセン	30	-	1	-	-	-	・	・
国立感染症研究所以外の機関	**848**	**1,010**	**258**	**585**	**4**	**18**	**-**	**-**
国立保健医療科学院	27	62	15	27	-	-	-	-
国立医薬品食品衛生研究所	154	13	76	19	-	-	-	-
国立国際医療センター	514	193	2	25	-	-	-	-
国立成育医療センター	29	-	-	-	-	-	-	-
(独)国立健康・栄養研究所	・	・	8	4	1	-	-	-
(独)動物衛生研究所	69	96	112	41	-	-	-	-
(独)畜産草研究所	4	14	1	10	-	-	-	-
その他の国・県の機関((独)含)	-	38	3	3	-	-	-	-
地方衛生研究所	11	-	4	-	-	-	-	-
国公立病院	22	-	6	-	-	-	-	-
国公立大学図書館	2	342	13	400	-	13	-	-
国際医学情報センター	9	110	-	16	-	-	-	-
私立病院	1	-	1	-	-	-	-	-
私立大学図書館	2	125	9	20	-	5	-	-
企業	3	-	4	-	-	-	-	-
その他	1	17	4	20	3	-	-	-

注：戸山の(独)健康・栄養研究所に対する数は把握していない。

雑誌別利用状況の年次推移

洋雑誌（利用回数上位50誌）　　複写・貸出回数は4月～翌3月末までの実績。電子ｼﾞｬｰﾅﾙ利用回数は1月～12末までの実績(他庁舎、健栄研分含む)。

平成16年順位			雑誌名	16年(2004)				15年('03)				14年('02)			
利用回数計	複写	電子ｼﾞｬｰﾅﾙ		利用回数	複写	貸出	電子ｼﾞｬｰﾅﾙ	利用回数	複写	貸出	電子ｼﾞｬｰﾅﾙ	利用回数	複写	貸出	電子ｼﾞｬｰﾅﾙ
1	3	1	Journal of Virology	15,687	222	11	15,454	12,044	251	14	11,779	8,878	576	14	8,288
2	8	2	Science	13,746	156	2	13,588	5,204	260	-	4,944	3,885	463	1	3,421
3	2	3	The Journal of Biological Chemistry	12,606	234	1	12,371	10,181	347	1	9,833	7,798	606	1	7,191
4	6	4	PNAS:Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A	7,556	183	3	7,370	6,020	275	1	5,744	5,537	548	5	4,984
5	28	5	Journal of Clinical Microbiology	5,124	48	2	5,074	3,526	122	8	3,396	2,751	193	2	2,556
6	5	6	The Journal of Immunology	5,020	188	-	4,832	5,143	286	-	4,857	4,097	351	-	3,746
7	12	7	Infection & Immunity	4,639	115	-	4,524	4,337	116	3	4,218	2,566	207	-	2,359
8	106	8	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	3,721	10	-	3,711	1,071	31	-	1,040	844	30	-	814
9	9	10	Cell	2,817	156	1	2,660	1,871	157	1	1,713	1,505	319	1	1,185
10	43	9	JB:Journal of Bacteriology	2,776	36	1	2,739	2,326	69	-	2,257	3,169	85	-	3,084
11	1	11	Nature	2,766	262	1	2,503	3,292	310	-	2,982	557	554	3	・
12	7	12	Virology	2,642	177	9	2,456	1,852	169	13	1,670	375	368	7	・
13	26	13	MCB:Molecular and Cellular Biology	2,435	51	-	2,384	2,255	98	1	2,156	1,680	142	2	1,536
14	13	14	Journal of General Virology	2,148	108	2	2,038	1,912	112	8	1,792	1,383	173	6	1,204
15	10	15	Vaccine	2,086	127	-	1,959	2,052	74	5	1,973	96	94	2	・
16	14	17	The Journal of Experimental Medicine	1,990	104	4	1,882	1,683	146	2	1,535	1,244	158	-	1,086
17	19	16	BBRC:Biochem. biophys. res. Commun.	1,971	71	1	1,899	1,324	139	3	1,182	296	295	1	・
18	17	18	Blood	1,712	89	2	1,621	1,593	92	-	1,501	988	80	-	908
19	36	19	The Journal of Cell Biolology	1,595	41	2	1,552	1,223	73	-	1,150	1,069	181	-	888
20	11	20	THE LANCET	1,570	118	1	1,451	2,489	214	3	2,272	200	197	3	・
21	58	21	FEMS Microbiology:FULL SUBCRIPTION	1,285	27	-	1,258	945	3	-	942	19	17	2	・
22	83	22	Applied and Environmental Microbiology	1,201	15	-	1,186	903	20	-	883	399	42	1	356
23	29	23	Molecular Microbiology	1,170	48	-	1,122	949	59	2	888	92	72	-	20
24	18	24	Nature Medicine	1,163	82	-	1,081	2,038	100	1	1,937	180	176	4	・
25	22	25	BMJ:British Medical Journal	1,145	64	-	1,081	58	58	-	-	70	70	-	・
26	82	26	Molecular Cell	1,089	15	-	1,074	762	28	-	734	397	46	-	351
27	44	27	Nucleic Acids Research	1,087	36	1	1,050	69	65	4	・	98	97	1	・
28	51	28	Nature Immunlogy	1,056	32	-	1,024	746	47	-	699	75	73	2	・
29	20	31	Cancer Research	1,013	68	-	945	899	124	-	775	755	141	-	614
30	79	30	Molecular Biology of the Cell	969	16	-	953	733	24	-	709	559	57	-	502
31	34	32	FEBS Letters	957	42	1	914	870	55	2	813	107	107	-	・
32	189	29	Microbiology	956	1	1	954	703	33	1	669	593	32	-	561
33	60	33	Genes & Development	914	26	-	888	782	37	-	745	578	93	1	484
34	21	35	BBA:FULL SUBSCLIPTION	799	65	1	733	797	80	1	716	138	136	2	・
35	49	34	Immunity	793	33	-	760	781	64	-	717	496	71	2	423
36	16	36	The EMBO Journal	771	90	2	679	113	112	1	・	173	173	-	・
37	56	37	Journal of Virological Methods	688	28	-	660	462	41	1	420	30	29	1	・
38	32	38	Oncogene	680	43	1	636	657	74	1	582	168	164	4	・
39	39	39	JMB:Journal of Molecular Biology	670	39	-	631	473	36	-	437	85	85	-	・
40	81	40	Journal of Lipid Research	633	15	-	618	30	30	-	・	51	51	-	・
41	171	41	Current Biology (2004年より購読)	594	4	-	590	・	・	・	・	・	・	・	・
42	103	42	Virus Research	577	11	-	566	383	11	-	372	20	19	1	・
43	132	43	Clinical Microbiology Reviews	518	7	-	511	290	8	-	282	220	21	2	197
44	113	44	Microbes and Infection	503	10	2	491	364	7	1	356	8	8	-	・
45	72	45	Nature Cell Bilogy	500	20	-	480	841	36	-	805	52	51	1	・
46	176	46	Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology	447	3	-	444	443	5	3	435	239	19	-	220
47	59	47	FASEB Journal	446	26	-	420	273	45	-	228	62	62	-	・
48	27	51	Gene	443	50	-	393	392	51	-	341	59	59	-	・
49	46	49	Trends in Microbiolgy	436	35	-	401	366	16	-	350	36	36	-	・
50	92	48	Journal of Leukocyte Biology	425	13	-	412	389	34	-	355	262	41	2	219

和雑誌（利用回数上位10誌）

1	1	-	蛋白質・核酸・酵素	126	122	4	・	140	137	3	・	174	168	6	・
2	2	-	実験医学	110	102	8	・	126	110	16	・	143	128	15	・
3	3	-	臨床免疫	51	51	-	・	68	67	1	・	58	58	-	・
4	4	-	細胞工学	50	48	2	・	150	146	4	・	84	79	5	・
5	6	-	医学のあゆみ（＋別冊学会案内）	45	37	8	・	49	47	2	・	35	33	2	・
6	5	-	Molecular Medicine	40	39	1	・	70	70	-	・	60	57	3	・
7	7	-	Microbiology & Immnology	37	37	-	・	44	44	-	・	57	57	-	・
8	8	-	Journal of Biochemistry	26	26	-	・	16	16	-	・	28	28	-	・
9	9	-	最新医学	22	21	1	・	37	34	3	・	30	29	1	・
10	11	-	ウイルス	21	19	2	・	2	2	-	・	17	17	-	・

注：電子ジャーナル利用回数は、電子ジャーナルのサイトがあり、利用回数がカウントできるものについて計上した。「・」は、カウント不可のもの。
　　また、雑誌によりアクセスの方法が異なる（single accessなど）。

[J. J. I. D. について]

平成１６年４月に編集委員長が渡辺治雄から倉根一郎に交代し、新しく編集委員として上原至雅、谷口清洲、佐々木次雄が加わった。Laboratory and Epidemiology Communications の Section Editor を務めた吉倉　廣の退官により、今後は Section Editor を置かずに 編集委員がその専門により担当することとした。

編集方針に変更はないが、新しいセクションとして Letters to the Editor を設け、'Instructions to Authors' を改正した。また５号には International Peroxidase Meeting での発表演題を review としてまとめ掲載した。

９月には"Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan 2000"を volume 54, Supplement として発行した。

感染研でセミナーを行った演者及び１６年３月３１日をもって退官した方々に review を投稿して頂くようにお願いした。ご協力頂いた方々に改めて御礼を申し上げる。

今年度の概略は以下の通りである。

投稿数、特に海外からの投稿の増加傾向は続き、昨年度比 1.4 倍となった。

発行部数　各 950 部

発送先　国内－大学, 衛研等　300 機関
　　海外－大学, 研究所等　500 機関
　　（約 75 ヶ国）

投稿論文数　感染研内　14 編
　　他国内　42 編
　　海外　109 編

採択率　44.2 %

Japanese Journal of Infectious Diseases
Volume 57, 2004 Contents
February, No. 1

Review

Eradication of Infectious Diseases: Its Concept, Then and Now: Isao Arita, John Wickett and Miyuki Nakane 1-6

Original Articles

A Pediatric Case of Disseminated Cystic Echinococcosis Successfully Treated with Mebendazole: Zuhre Kaya and Turkiz Gursel 7-9

Community-Based Seroepidemiology of Tetanus in Three Selected Provinces in Turkey: Demet Kurtoglu, Aysegul Gozalan, Nilay Coplu, Kikuko Miyamura, Morihiro Morita, Berrin Esen and Levent Akin...10-16

Prevalence and Treatment of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, and *Mycoplasma hominis* in Patients with Non-Gonococcal Urethritis: Dilek Kilic, M. Murad Basar, Sedat Kaygusuz, Erdal Yilmaz, Halil Basar and Ertan Batislam.....17-20

Comparative Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates from Throats and Noses of Healthy Volunteers: Emiko Uemura, Shige Kakinohana, Naomi Higa, Claudia Toma and Noboru Nakasone 21-24

Short Communications

Isolation of a Promoter Region of a Secreted Metalloprotease Gene from *Microsporum canis*: Tsuyoshi Yamada, Koichi Makimura, Asuka Hirai, Rui Kano, Atsuhiko Hasegawa, Katsuhisa Uchida and Hideyo Yamaguchi.....25-28

Preparation of a Positive Control DNA for Molecular Diagnosis of *Bacillus anthracis*: Satoshi Inoue, Akira Noguchi, Kiyoshi Tanabayashi and Akio Yamada 29-32

April, No. 2

Original Articles

Investigation of Atypical Bacteria and Virus Antigens in Respiratory Tract Infections by Use of an Immunofluorescence Method: Sedat Kaygusuz, Iftihar Koksal, Kemalettin Aydin and Rahmet Caylan 33-36

An Epidemiological Analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* Strains in a University Hospital:

Rahmet Caylan, Nese Kaklikkaya, Kemalettin Aydin, Faruk Aydin, Gurdal Yilmaz, Birol Ozgumus and Iftihar Koksal.....37-40

Intestinal Parasitic Infections in HIV/AIDS and HIV Seronegative Individuals in a Teaching Hospital, Ethiopia: Getachew Hailemariam, Afework Kassu, Gemeda Abebe, Ebba Abate, Demekech Damte, Endris Mekonnen and Fusao Ota.....41-43

Infection of Cerebrospinal Fluid Shunts: Causative Pathogens, Clinical Features, and Outcomes: Kuo-Wei Wang, Wen-Neng Chang, Teng-Yuan Shih, Chi-Ren Huang, Nai-Wen Tsai, Chen-Sheng Chang, Yao-Chung Chuang, Po-Chou Liliang, Thung-Ming Su, Cheng-Shyuan Rau, Yu-Duan Tsai, Ben-Chung Cheng, Pi-Lien Hung, Chin-Jung Chang and Cheng-Hsien Lu.....44-48

Short Communications

Markers for Transfusion-Associated Hepatitis in North Indian Blood Donors: Prevalence and Trends: Bharat Singh, Monika Verma and Karttikaye Verma 49-51

Bactericidal Effects of Acidic Electrolyzed Water on the Dental Unit Waterline: Shinya Kohno, Toshitsugu Kawata, Masato Kaku, Tadashi Fujita, Keisuke Tsutsui, Junji Ohtani, Kaoru Tenjo, Masahide Motokawa, Yuiko Tohma, Mao Shigekawa, Hiroko Kamata and Kazuo Tanne.....52-54

Possible Horizontal Transmission of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus from a Mother to Her Child: Masayuki Saijo, Qing Tang, Bawudong Shimayi, Lei Han, Yuzhen Zhang, Muer Asiguma, Dong Tianshu, Akihiko Maeda, Ichiro Kurane and Shigeru Morikawa 55-57

Endotoxin Content in *Haemophilus influenzae* Type b Vaccine: Masaki Ochiai, Michiyo Kataoka, Hiromi Toyoizumi, Akihiko Yamamoto, Kazunari Kamachi, Yoshichika Arakawa, Takeshi Kurata and Yoshinobu Horiuchi.....58-59

A Comparative Survey of Serum Androgenic Hormones Levels between Male Patients with Dermatophytosis and Normal Subjects: Seyed Jamal Hashemi, Mohammad Reza Sarasgani and Kamiar Zomorodian 60-62

An Unexpected Outbreak of Japanese Encephalitis in the Chugoku District of Japan, 2002: Ryusuke Ayukawa, Hiroshi Fujimoto, Mitsuyoshi Ayabe, Hiroshi Shoji, Ryukichi Matsui, Yuko Iwata, Hitoshi Fukuda, Kazuhide Ochi, Koichi Noda, Yoichi Ono, Kenichi Sakai, Yasushi Takehisa and Kotaro Yasui.....63-66

Epidemiological Report

Seroepidemiologic Study on Pertussis, Diphtheria, and Tetanus in the Fukuoka Area of Southern Japan: Seroprevalence among Persons 0-80 Years Old and Vaccination Program: Kenji Okada, Kohji Ueda, Kazunori Morokuma, Yoichiro Kino, Ken Tokugawa and Sankei Nishima.....67-71

Laboratory and Epidemiology Communications

Regional Distribution of Acute Flaccid Paralysis Cases in Ethiopia in 2000-2002: Berhane Beyene, Ayele Gebremariam, Tilhun Teka, Zenebe Melaku, Bekure Tsegaye, Damene Alieyu, Oyewole Femi and Almaz G/senbet.....72-73

Prevalence of Erythromycin-, Tetracycline-, and Aminoglycoside-Resistance Genes in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Hospitals in Tokyo and Kumamoto: Jun-ichiro Sekiguchi, Tomoko Fujino, Katsutoshi Saruta, Hisami Konosaki, Haruo Nishimura, Akihiko Kawana, Koichiro Kudo, Tatsuya Kondo, Yoshio Yazaki, Tadatoshi Kuratsuji, Hiroshi Yoshikura and Teruo Kirikae.....74-77

Molecular Epidemiology of *Serratia marcescens* in a Hospital: Jun-ichiro Seknushii, Tomoko Fujino, Emi Kuroda, Hisami Konosaki, Haruo Nishimura, Katsutoshi Saruta, Akihiko Kawana, Fumiko Yamanishi, Koichi Kudo, Tatsuya Kondo, Yoshio Yazaki, Tadatoshi Kuratsuji and Teruo Kirikae 78-80

Clinical Pictures of Children with Human Metapneumo-

virus Infection: Comparison with Respiratory Syncytial Virus Infection: Hiroshi Kashiwa, Hiroyuki Shimozono and Shinichi Takao.....80-82

Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Tokyo Hospital in 2003: Tomoko Fujino, Jun-ichiro Sekiguchi, Akihiko Kawana, Hisami Konosaki, Haruo Nishimura, Katsutoshi Saruta, Koichiro Kudo, Tatsuya Kondo, Yoshio Yazaki, Tadatoshi Kuratsuji and Teruo Kirikae 83-85

Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Kumamoto Hospital in 2003: Fumio Kawano, Hisayoshi Miyazaki, Tatsuya Kawasaki, Tomoko Fujino, Jun-ichiro Sekiguchi, Katsutoshi Saruta, Tadatoshi Kuratsuji and Teruo Kirikae.....86-88

Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Sendai Hospital in 2003: Tsukasa Asagi, Yoshihiro Kikuchi, Yoshiharu Sakurai, Tomoko Fujino, Jun-ichiro Sekiguchi, Katsutoshi Saruta, Tadatoshi Kuratsuji and Teruo Kirikae....88-90

June, No. 3

Original Articles

Down-Regulation of $CXCR_4$ Expression in MT4 Cells by a Recombinant Vector Expressing Antisense RNA to $CXCR_4$ and Its Potential Anti-HIV-1 Effect: Hui Chun Xing, Xiao Yuan Xu, Zhen Liu, Qin Huan Wang, Min Yu and Chong Wen Si.....91-96

Tetanus Antibody Assay Combining In-House ELISA and Particle Agglutination Test and Its Serosurvey Application in a Province in Turkey: Nilay Coplu, Berrin Esen, Aysegul Gozalan, Kikuko Miyamura, Iwao Yoshida, Demet Kurtoglu, Nuvide Ozturk Dogan, Gokhan Afacan, Ahmet Unal, Setsuji Ishida and Motohide Takahashi.....97-102

Factors Improving the Propagation of *Simkania negevensis* Strain Z in Cell Culture: Tetsuya Yamaguchi, Tsutomu Yamazaki, Miyuki Inoue, Motohiko Ogawa, Sadashi Shiga, Yuichi Nakagawa, Toshio Kishimoto, Kazunobu Ouchi and Takehiko Ohzeki.....103-106

Short Communications

Spotted Fever Group Rickettsiae from Ticks Captured in Sudan: Chiharu Morita, Abdel Rahim Mohamed El Hussein, Etsuro Matsuda, Khalil Mohamed Ali Abdel Gabbar, Yasukazu Muramatsu, Magdi Badawi Abdel Rahman, Ali Mohamed Hassan Eleragi, Shawgi Mohamed Hassan, Agnes Mumbi Chitambo and Hiroshi Ueno.....107-109

The Absence of Anti-Rabies Antibody in the Sera of Feral Raccoons (*Procyon lotor*) Captured in Hokkaido, Japan: Satoshi Inoue, Makoto Asano, Yurie Motoi, Takashi Makino and Akio Yamada.....110-112

Serotypes of Clinical Cerebrospinal Fluid *Cryptococcus neoformans* Isolates from Southern Taiwan and Their In Vitro Susceptibilities to Amphotericin B, Fluconazole, and Voriconazole: Wen-Neng Chang, Chi-Ren Huang, Chien-Bang Lei, Ping-Yu Lee, Chun-Chih Chien, Hsueh-Wen Chang, Chen-Sheng Chang and Cheng-Hsien Lu.....113-115

Emergence of Nalidixic Acid Resistance in *Shigella sonnei* Isolated from Patients Having Acute Diarrheal Disease: Report from Eastern Province of Saudi Arabia: Bodh Raj Panhotra, Anil Kumar Saxena and Khalifa Al-Mulhim.....116-118

Contribution of Exotoxin A of *Pseudomonas aeruginosa* in Acute and Chronic Experimental Renal Infection: Saroj Sharma, Ramanjeet Kaur, Vanashree Yadav, Kusum Harjai and Kusum Joshi.....119-120

Oral Polio Vaccines Have Not Yet Covered West Africa: Survey of Immunization Coverage Conducted in Niger: Yumi Akano, Hiroko Ando, Ai Tanaka, Harue Uchida, Kimihiro Fujii, Masakazu Takayanagi, Adamou Magagi, Miyuki Nakene and Takashi Nakano 121-123

Mediastinal Lymphadenopathy due to Mycobacterial Infection: Mehmet Meral, Metin Akgun, Hasan Kaynar, Arzu Mirici, Metin Gorguner, Leyla Saglam

and Fazli Erdogan.....124-126

Laboratory and Epidemiology Communications

Isolation of Echovirus Type 13 in Osaka City during 2001-2002: Atsushi Kaida, Hideyuki Kubo, Nobuhiro Iritani, Tsukasa Murakami and Kosuke Haruki 127-128

Newly Developed TaqMan Assay to Detect West Nile Viruses in a Wide Range of Viral Strains: Shuzo Usuku, Yuzo Noguchi and Tomohiko Takasaki 129-130

Identification of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains Harboring the *bla*$_{VIM-2}$ Metallo-beta-Lactamase Gene in Akita Prefecture, Japan: Jun Yatsuyanagi, Shioko Saito, Yuko Ito, Kazuko Ohta, Jun Kato, Seizaburo Harata, Noriyuki Suzuki and Ken-ichi Amano 130-132

Simple Approximate Backcalculation Method Applied to Estimate HIV Prevalence in Japan: Hiroshi Nishiura, Hideki Yanai, Takashi Yoshiyama and Masayuki Kakehashi.....133-135

August, No. 4

Invited Review

Regulation by Innate Immune T Lymphocytes in the Host Defense against Pulmonary Infection with *Cryptococcus neoformans:* Kazuyoshi Kawakami 137-145

Original Articles

Prevalence of Clinical Strains Resistant to Various bata-Lactams in a Tertiary Care Hospital in India: Priya Datta, Archana Thakur, Bibhabati Mishra and Varsha Gupta.....146-149

Protective Role of Liposome Incorporated Lipopoly-saccharide Antigen of *Klebsiella pneumoniae* in a Rat Model of Lobar Pneumonia: Sanjay Chhibber, Sunita Wadhwa and Vanashree Yadav.....150-155

Serological and Molecular Evidence of HTLV-I Infection among Japanese Immigrants Living in the Amazon Region of Brazil: Antonio Carlos R. Vallinoto, Nilton A. Muto, Gemilson S. Pontes, Luiz Fernando A. Machado, Vania N. Azevedo, Sidney E. B. dos Santos, Andrea K. C. Ribeiro-dos-Santos, Marluisa O. G. Ishak and Ricardo Ishak.....156-159

Toxoplasmosis in HIV/AIDS Patients: A Current Situation: Veeranoot Nissapatorn, Christopher Lee, Kia Fatt Quek, Chee Loon Leong, Rohela Mahmud and Khairul Anuar Abdullah.....160-165

Estimation of Annual Incidence, Age-Specific Incidence Rate, and Cumulative Risk of Rotavirus Gastro-enteritis among Children in Japan: Michiyo Yokoo, Kokichi Arisawa and Osamu Nakagomi.....166-171

Investigation of Colonization with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in an Outpatient Population in Turkey: Mine Erdenizmenli, Nur Yapar, Suheyla Serin Senger, Seval Ozdemir and Ayse Yuce 172-175

Short Communications

Mosquito Larvicidal Properties of Essential Oil of an Indigenous Plant, *Ipomoea cairica* Linn.: Thekkevilayil George Thomas, Sunder Rao and Shiv Lal.....176-177

An Outbreak of Respiratory Infection due to Respiratory Syncytial Virus Subgroup B in Ankara, Turkey: Cakir Guney, Ayhan Kubar, Mehmet Yapar, A. Bulent Besirbellioglu and Levent Doganci.....178-180

Laboratory and Epidemiology Communications

A Small Outbreak of Third Generation Cephem-Resistant *Citrobacter freundii* Infection on a Surgical Ward: Toshi Nada, Hisashi Baba, Kumiko Kawamura, Teruko Ohkura, Keizo Torii and Michio Ohta 181-182

Detection of *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette -Guerin Using Quantum Dot Immuno-Conjugates: Yayoi Otsuka, Ken-ichi Hanaki, Jizi Zhao, Ryuji Ohtsuki, Kiminori Toyooka, Hiroshi Yoshikura, Tadatoshi Kuratsuji, Kenji Yamamoto and Teruo Kirikae.....183-184

Changing Epidemiology of Angiostrongyliasis

Cantonensis in Okinawa Prefecture, Japan: Ryuji Asato, Katsuya Taira, Masaji Nakamura, Jun Kudaka, Kiyomasa Itokazu and Masanori Kawanaka.....184-186

The Genetic Properties of *Streptococcus pyogenes emm49* Genotype Strains Recently Emerged among Severe Invasive Infections in Japan: Tadayoshi Ikebe, Miyoko Endo, Yuka Ueda, Kyoko Okada, Rieko Suzuki, Takeshi Minami, Hiroshi Tanaka, Norihiko Nakanishi, Masaaki Tomita, Hiroyuki Nishie, Noriko Ishii, Emi Sasaki, Yuji Miura, Toru Yamamura and Haruo Watanabe 187-188

October, No. 5

Original Articles

A Nosocomial Outbreak of Febrile Bloodstream Infection Caused by Heparinized-Saline Contaminated with *Serratia marcescens*, Tokyo, 2002: Takeshi Tanaka, Hiroshi Takahashi, John M. Kobayashi, Takaaki Ohyama and Nobuhiko Okabe.....189-192

Human Leptospirosis in Erode, South India: Serology, Isolation, and Characterization of the Isolates by Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fingerprinting: Kalimuthusamy Natarajaseenivasan, Nagarajan Prabhu, Krishnaswamy Selvanayaki, Suresh Savalaikarankulam Sudalaimuthu Raja and Sivalingam Ratnam.....193-197

Rifampicin Antagonizes the Effect of Chloroquine on Chloroquine-Resistant *Plasmodium berghei* in Mice: Low Jen Hou, S. Sivachandra Raju, M. Shukri Abdullah, Norazmi M. Nor and M. Ravichandran 198-202

Cryptococcuria as a Manifestation of Disseminated Cryptococcosis and Isolated Urinary Tract Infection: Sasisopin Kiertiburanakul, Somnuek Sungkanuparph, Benjamas Buabut and Roongnapa Pracharktam 203-205

Short Communications

Pulsed-Field Gel Electrophoresis of Multidrug-Resistant and -Sensitive Strains of *Pseudomonas aeruginosa* from a Malaysian Hospital: Kwai Lin Thong, Kin Seng Lai, R. Ganeswrie and S. D. Puthucheary 206-209

Long-Term Post-Salmonella Reactive Arthritis due to *Salmonella* Blockley: Ian G. Wilson and Esme Whitehead.....210-211

Severe Leukopenia Associated with Mild Hepatotoxicity in an HIV Carrier Treated with Nevirapine: Eduardo Shahar, Norberto Krivoy, Sara Weltfriend and Shimon Pollack.....212-213

An Adult Case of *Chryseobacterium meningosepticum* Meningitis: Cheng-Hsien Lu, Chi-Ren Huang, Nai-Wen Tsai, Chen-Sheng Chang, Yao-Chung Chuang, Ping-Yu Lee, Chien-Bang Lei, Hung-Chen Wang, Kuo-Wei Wang and Wen-Neng Chang 214-215

Cryptosporidium Spp., a Frequent Cause of Diarrhea among Children at the Korle-Bu Teaching Hospital, Accra, Ghana: Andrew Anthony Adjei, Henry Armah, Onike Rodrigues, Lornna Renner, Patience Borketey, Patrick Ayeh-Kumi, Theophilus Adiku, Eric Sifah and Margaret Lartey 216-219

Stimulation of Virus-Specific T Cell Responses by Dendritic Cell Vaccination in the Chronic Phase of Simian AIDS Models: Moriaki Kato, Hiroko igarashi, Akiko Takeda, Shigeo Horie, Eiji Higashihara and Tetsuro Matano.....220-223

Laboratory and Epidemiology Communications

Seroprevalence of Anti-Flagellin Antibody against *Burkholderia pseudomallei* in Taiwan: Yao-Shen Chen, Ssu-Ching Chen, Tsu-Rong Wu, Chih-Ming Kao and Ya-Lei Chen 224-225

Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* in a Long-Term Care Facility for Patients with Severe Motor and Intellectual Disabilities: Teruo Kirikae, Osamu Tokunaga, Yasuhiro Inoue, Tomoko Fujino, Katsutoshi Saruta, Hiroshi Yoshikura, Tadatoshi Kuratsuji and Takeshi

Miyanomae.....226-228

International Peroxidase Meeting.....S1-S35

December, No. 6

Invited Review

Terrestrial Distribution of the Lyme Borreliosis Agent *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in East Asia: Toshiyuki Masuzawa.....229-235

Review

Defense Mechanisms against Influenza Virus Infection in the Respiratory Tract Mucosa: Shin-ichi Tamura and Takeshi Kurata.....236-247

Original Articles

An Outbreak of *Dipodascus capitatus* Infection in the ICU: Three Case Reports and Review of the Literature: Gulden Ersoz, Feza Otag, Zayre Erturan, Gonul Aslan, Ali Kaya, Gurol Emekdas and Takashi Sugita.....248-252

Neisseria gonorrhoea, *Chlamydia trachomatis*, and *Treponema pallidum* Infection in Antenatal and Gynecological Patients at Korle-Bu Teaching Hospital, Ghana: Kwasi Akyem Apea-Kubi, Shinya Yamaguchi, Bright Sakyi, Toshio Kisimoto, David Ofori-Adjei and Toshikatsu Hagiwara.....253-256

Attempt to Curtail the Observation Period of Mice in the Tetanus Vaccine Potency Tests: Tadashi Fukuda, Masaaki Iwaki, Takako Komiya, Yoshichika Arakawa and Motohide Takahashi.....257-259

Combination Therapy of Once-Weekly Fluconazole (100, 150, or 300 mg) with Topical Application of Ketoconazole Cream in the Treatment of Onychomycosis: Xuejun Chen, Masataro Hiruma, Yumi Shiraki and Hideoki Ogawa.....260-263

HIV and Syphilis Infection among Elderly People in Northwest Ethiopia: Afework Kassu, Alemayehu Mekonnen, Abebe Bekele, Nuru Abseno, Endalkachew Melese, Feleke Moges, Yared Wondmikun and Fusao Ota.....264-267

Short Communications

Prevalence of Intestinal Parasitic Pathogens among HIV-Positive Individuals in Iran: Mohammad Reza Zali, Ali Jafari Mehr, Mostafa Rezaian, Ahmad Reza Meamar, Siavash Vaziri and Minoo Mohraz 268-270

The Rate of Asymptomatic Throat Carriage of Group A *Streptococcus* in School Children and Associated ASO Titers in Duzce, Turkey: C. Elif Ozturk, Taner Yavuz, Demet Kaya and Muhterem Yucel.....271-272

Antimicrobial Susceptibility of Isolates from Neonatal Septicemia: Nalini Agnihotri, Neelam Kaistha and Varsha Gupta.....273-275

Norovirus and Sapovirus Infections in Thailand: Ratigorn Guntapong, Grant S. Hansman, Tomoichiro Oka, Satoko Ogawa, Tsutomu Kageyama, Yaowapa Pongsuwanna and Kazuhiko Katayama.....276-278

Epidemiological Report

Isolation and Characterization of *Candida* Spp. in Jordanian Cancer Patients: Prevalence, Pathogenic Determinants, and Antifungal Sensitivity: Hanan M. Al-Abeid, Khaled H. Abu-Elteen, Ali Z. Elkarmi 279-284

Laboratory and Epidemiology Communications

First Case of Cerebral Phaeohyphomycosis Caused by *Nattrassia mangiferae* in Iran: Mohsen Geramishoar, Kamiar Zomorodian, Farideh Zaini, Farshid Saadat, Bita Tarazooie, Mehdi Norouzi and Sassan Rezaie 285-286

Comparison of Fluoroquinolone Resistance Genes of *Salmonella enterica* Serovar Choleraesuis Isolates in Japan and Taiwan: Hidetaka Esaki, Cheng-Hsun Chiu, Akemi Kojima, Kanako Ishihara, Tetsuo Asai, Yutaka Tamura and Toshio Takahashi.....287-288

Detection of the Antiseptic- and Disinfectant-Resistance Genes *qacA*, *qacB*, and *qacC* in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated in a Tokyo Hospital: Jun-ichiro Sekiguchi, Toshio Hama, Tomoko Fujino, Minako Araake, Atsushi Irie, Katsutoshi Saruta,

Hisami Konosaki, Haruo Nishimura, Akihiko Kawana, Koichiro Kudo, Tatsuya Kondo, Takehiko Sasazuki, Tadatoshi Kuratsuji, Hiroshi Yoshikura and Teruo Kirikae.....288-291

Further Acquisition of Drug-Resistance in Multidrug-Resistant Tuberculosis during Chemotherapy: Emiko Toyota, Jun-ichiro Sekiguchi, Hisahiro Shimizu, Tomoko Fujino, Yayoi Otsuka, Hiroshi Yoshikura, Tadatoshi Kuratsuji, Teruo Kirikae and Koichiro Kudo.....292-294

ACKNOWLEGMENTS

The Editorial Board is grateful to the following scientists for reviewing articles submitted to Japanese Journal of Infectious Diseases during 2004.

Kenji Abe, Toshitaka Akatsuka, Tooru Akiyama, Shuji Ando, Yasuko Aoki, Eiji Arakawa, Yasuo Chiba, Tamaki Cho, Nobuyuki Enomoto, Harumi Gomi, Masamichi Goto, Toshikastu Hagiwara, Shigeyuki Hamada, Kenji Hirose, Takeshi Honda, Atsuko Horino, Toshiaki Ihara, Shiro Iino, Tadayoshi Ikebe, Koichi Imaoka, Yoshikazu Ishii, Koh-ichi Ishikawa, Teruyo Ito, Sunao Iyoda, Motohiro Izeki, Hidemasa Izumiya, Kazunari Kamachi, Katsuhiko Kurazono, Chushi Kuroiwa, Nobuko Maeda, Yumi Maeda, Shigefumi Maesaki, Gohta Masuda, Toshiyuki Masuzawa, Seiji Matsuda, Sokichi Matsumoto, Tadahiko Matsumoto, Yuzuru Mikami, Nobuyuki Minamoto, Toshihiro Mitsuda, Yoshitsugu Miyazaki, Saeko Mizusawa, Takashi Mochizuki, Kazuyasu Mori, Keita Morikane, Yuji Morisawa, Koichi Morita, Yoshinari Myoken, Takeshi Nagatake, Osamu Nakagomi, Kazutoshi Nakajima, Tetsuya Nakamura, Noboru Nakata, Akira Nishizono, Masahiro Noda, Masatoshi Noda, Kei Numazaki, Michio Kamei, Masahiro Kami, Shigeru Kamiya, Hiroji Kanbara, Toshio Kanbe, Naoko Kanda, Shigeyuki Kano, Hiroki Kawabata, Masako Kawasaki, Tsuyoshi Kenri, Ken Kikuchi, Teruo Kirikae, Yasuo Kitajima, Paul Kitsutani, Hiroshi Kiyono, Nobuo Koizumi, Hiroyuki Kojima, Eiji Konishi, Mayumi Kubota, Hiromi Kumon, Hisao Ohta, Hiroaki Okamoto, Yoshinobu Okuno, Kenji Onishi, Kazunori Ooishi, Yoshio Ookawa, Hisashi Ookuni, Ken Osaka, Kazunobu Ouchi, Takaaki Oyama, Takao Ozaki, Yoshiyuki Ozawa, Yuko Sagara, Masayuki Saijo, Yoshihiro Saito, Hiroo Saji, Masahiro Sakaguchi, Shinsaku Sakurada, Yuko Sasaki, Chifumi Sato, Naohiro Shibata, Kazutoshi Shibuya, Mika Shigematsu, Osamu Shimokawa, Isamu Sugawara, Takashi Sugita, Hiroshi Suzuki, Sadahiko Suzuki, Satowa Suzuki, Hiroshi Tachibana, Natsuo Tachikawa, Jun Takezawa, Masami Tanaka, Reiko Tanaka, Hatsumi Taniguchi, Koki Taniguchi, Kazuhiro Tateda, Katsuji Teruya, Masaharu Tokoro, Kenzo Tokunaga, Kazunori Tomono, Atsuko Totsuka, Akiyoshi Tsuji, Kimiko Ubukata, Shoji Uga, Kunikazu Yamane, Shinji Yamazaki, Tsutomu Yamazaki, Kazumoto Yasuda, Koji Yokoyama, Katsumi Yoshida, Yoshiya Yoshida, Masao Yoshinaga

23.筑波医学実験用霊長類センター

センター長　寺尾恵治

概　要

平成 14 年度末に着工したケージサイズを拡大するための既存飼育施設および P3 施設の改修工事と新棟建設が本年度末に完了した。センターの核となる繁殖育成集団を収容する施設の改修であり、新棟建設と改修工事を同時並行で行うためには、限られた収容スペースに千頭以上のサルを頻回に移動させねばならず、工事期間中のセンター職員およびサルの負担は大きかった。二年間にわたる工事が大過なく完了したのは、緻密な回避計画と関係者の臨機応変の対応によるものであり、村山分室を含め関係者の努力に深く感謝する。既存の第一、第二、第三棟に加え 600 頭の収容能力を持つ新棟（第七棟）が完成したことにより、懸案であった繁殖育成システムの多様化が可能となった。今後は、それぞれの飼育棟の特徴を生かした新しい管理システムを構築してゆく必要がある。

大型新棟の完成は光の部分であるが、度重なる移動の影響で繁殖成績が低下したのが陰の部分である。ここ数年妊娠率の低下が問題となっていたが、工事による影響も重なり年間生産数は 197 頭にとどまった。高品質の実験用サルの生産・供給はセンターの最も重要な業務であり、改修なった新しい革袋にどのようなシステムを入れるかが緊急の課題である。改修工事という悪条件にもかかわらず、実験用霊長類の繁殖・育成・品質管理・供給に関わる業務は遅滞なく実施され、感染研に 98 頭、共同利用施設に 69 頭の計 167 頭の育成カニクイザルを供給した。昨年度から霊長類研究リソースの開発・維持に対して厚生労働科研費による支援が開始され、個体レベルから遺伝子レベルまでの階層の異なる新規の霊長類リソースの開発と若年性網膜黄斑変性家系の維持を継続することができた。

サル類の疾患モデルの開発はリソース整備と並ぶ重要な業務であり、今年度も基盤的研究費、事業費、厚生労働科学研究費補助金、ヒューマンサイエンス財団、文部科学省科学研究費等の支援を受けて実施された。共同利用施設では、遺伝子治療、再生医療、長寿科学、脳科学研究、移植医療、新規医薬品開発、医療技術開発など運営委員会で承認された計 30 件の実験が予防衛生協会の技術支援を受けて進展した。

昭和 53 年に国立予防衛生研究所の筑波支所として開設された霊長類センターは、発足後 27 年を経過し、年産 250 頭の生産能力を有する繁殖コロニーに加えて感染症実験施設（P2、P3）と共同利用施設の二つの特殊実験施設を併設する我が国では数少ない総合的な霊長類医科学研究施設となった。整備されたセンターのリソースと施設とを広く国内の研究者に開放し、感染症研究のみならず創薬研究や医療技術の開発研究を促進するために、平成 17 年 4 月 1 日より大阪府茨木市に新設される独立行政法人・医薬基盤研究所（基盤研）の生物資源部門に移行させる。感染研で実施されるワクチン国家検定への育成ザル供給を目的として設立されたセンターは、基盤研移行に伴い実験用霊長類の供給と活用を両輪として、感染症研究から医科学研究へと守備範囲を広げることになる。センター創設以来 27 年間にわたりセンターの運営に尽力頂いた国立感染症研究所ならびに厚生労働省の関係者各位のご理解、ご支援に心から感謝するとともに、基盤研移行後も変わらぬご支援、ご協力をお願いする。

人事面では、平成 16 年 4 月 1 日付けで木村展之が、10 月 1 日付けで揚山直英が検査健康管理室研究員として採用され就任した。平成 17 年 3 月 31 日に向井鐐三郎検査健康管理室長が定年退官された。繁殖育成コロニーの微生物学的モニタリングによる育成ザルの健康管理と感染症実験施設の運営への献身的な努力に敬意を表し、今後のご活躍をお祈りする。

業　績

Ⅰ．実験用サル類の病原学的研究

１．レトロウイルスに関する研究

（１）サルレトロウイルス(SRV/D)感染の感染様式に関する研究

下痢などの SRV/D 感染症の症状を示すカニクイザルについて、血漿、唾液、尿、糞便を採取し、SRV/D の分離培養と RT-nested PCR 法によるウイルスゲノムの検出を行った。５頭すべての体液・排泄物中にウイルスゲノムを検出した。また、感染性 SRV/D もすべての体液・排泄物から回収出来た。37℃で 24 時間保温後の感染力価は、1/8 程度低下したが感染性は残存していた。また、母胎内感染仔ザル１頭は、生後の発育も正常で無症候であったが、すべての体液中にウイルスが検出され、このようなサルや排泄物が、当センターコロニーにおける感染源になっていると思われる。〔原　正幸、菊池俊彦、小野文子*、佐多徹太郎**、高野淳一朗*、藤本浩二*、寺尾恵治、向井鐐三郎（*社団法人・予防衛生協会、**感染病理部)〕

（２）霊長類免疫不全ウイルス Vif 蛋白の分子機構に関する研究

HIV-1 Vifはウイルス感染性保持に重要な役割を示す。ところが Vif を過剰発現すると、それに相関してウイルス粒子内 Vif（V-Vif）も増加し、結果としてウイルスの感染性が顕著に低下する。この作用は Vif N 末端側領域により規定されていたことから、一連の Vif 欠失変異体を作成し詳細な解析を行った。その結果、10-13 アミノ酸残基の欠失変異により感染性抑制作用が顕著に低下することが明らかとなった。これらの知見は Vif 新規機能の生理的意義の解明や、上記 Vif 作用を応用したウイルス粒子成熟過程の新規制御法開発に有用であると考えられた。〔李永仲、明里宏文〕

（３）SIV 複製及び宿主免疫回避に関わるウイルス側・宿主側因子の作用機構に関する研究

Nef 蛋白はウイルス感染細胞における MHC-I 発現を抑制することにより、CTL による抗原認識からの回避を可能とする。本研究では、HIV および SIV 由来 Nef 蛋白に共通する MHC-I 発現制御機構を解明するための基盤として、HIV 由来 Nef 蛋白において同機能に寄与するアミノ酸残基の特定を試みた。その結果、HIV/SIV 間で保存性の高い N 末端側 Val16 および Met20 が MHC-I 発現制御を規定しており、その前後に存在する Arg-rich motif は本機能に直接関与していないことが示唆された。本研究成果は、Nef による宿主免疫回避のメカニズムを解明するための重要な知見であると考えられた。〔飯島沙幸、李永仲、明里宏文〕

２．C 型肝炎のサル病態モデル開発

これまでの研究により、GBV-B の感染性分子クローンより作成したウイルス RNA をタマリンへ接種することによりウイルス血症を伴う急性肝炎を呈することが確認された。その免疫応答について解析するため、大腸菌発現により精製したウイルスコア蛋白を用いて抗コア抗体検出用 ELISA システムを構築した。これを用いて GBV-B 感染タマリンについて経時的な抗体価測定を行ったところ、血中ウイルス量及び ALT レベルが低下する感染約８週前後に急激な抗体価の上昇が認められた。その後、血中ウイルスが検出限界以下になるにつれ、抗体価が低下した。以上のことは液性免疫のウイルス制御における意義を示唆するものと考えられた。ところで、感染後１年以上が経過したタマリンにおいて、血中ウイルス RNA はリアルタイム PCR 法で検出されないにもかかわらず、抗コア抗体価は有意なレベルを維持していた。このことは、GBV-B がタマリン個体内で潜伏感染している可能性を示唆するものであり今後の解析が待たれるところである。〔飯島沙幸、李永仲、明里宏文〕

３．アルツハイマー病に関する研究

（１）カニクイザル脳組織を用いた加齢性神経変性疾患に関する検索：カニクイザル脳組織を用いた細胞内アミロイドβ（Aβ）の加齢性変化

アルツハイマー病（AD）患者脳では老人斑構成蛋白アミロイドβ（Aβ）の神経細胞内への蓄積が見られることが報告されている。そこで様々な年齢のカニクイザル脳組織を用いて細胞内 Aβの加齢に伴う局在および細胞内蓄積量の変化を検索したところ、若齢個体における細胞内 Aβの免疫染色に世界で初めて成功した。このことから、若齢期からすでに細胞内 Aβが存在していることが明らかになり、我々が確立した免疫組織化学的手法は、今後の細胞内 Aβ研究に非常に有用な実験手技となることが期待される。生化学的検索からは、加齢に伴い産生

Aβ分子種の変化が確認され、細胞内 Aβが加齢とともに神経終末分画において蓄積することが明らかになった。〔木村展之〕

（2）in vitro におけるアミロイドβ（Aβ）の神経系細胞に与える影響：ラットおよびカニクイザル胎仔大脳皮質初代培養系における Aβの影響と種差比較

過去の Aβに関する in vitro 実験は高濃度 Aβ添加による短期実験がほとんどであり、加齢性疾患であるアルツハイマー病（AD）態を再現しているとは言いがたい。そこで我々は低濃度 Aβによる神経系細胞への長期的影響をラットおよびカニクイザル由来大脳皮質初代培養系を用いて検索した。その結果、低濃度 Aβの長期暴露によって惹起された反応は神経細胞の障害ではなくアストログリア（AG）による ApoE および GFAP 蛋白の発現上昇であり、AD 進行初期では AG の反応が非常に重要な役割を担っていることが示唆された。また AG における ApoE 産生経路に種差が見られたことから、ヒトに近縁なカニクイザル由来の培養系を用いることは、今後の AD 研究に非常に有用であると考えられる。〔木村展之〕

Ⅱ．実験用サル類の臨床病理学的研究

1. サル類を用いた心疾患に関する研究

（1）カニクイザルを用いた虚血性心疾患モデルの構築

全身吸入麻酔下のカニクイザルにおいて正中開胸を行い左冠動脈前下降肢を結紮し、心筋梗塞部位を作成した。サルにはあらかじめ CV ラインを留置し、モニター電極の埋め込みを行い術後管理に備えた。心筋梗塞作製後はモニター管理と尿量測定などを行い、鎮痛剤、強心剤、利尿剤投与などの必要な処置を適宜施した。その後超音波診断、血圧測定、血中心筋逸脱酵素の濃度測定などを行い、安定して心筋梗塞病態が維持出来ていることを確認した。これまでに本モデルを利用して、虚血心筋に対する自己造血幹細胞移植治療の効果を確認しており、今後もさらに細胞療法における有効性、安全性試験に大きく寄与するものと思われる。

〔揚山直英、柴田宏昭、寺尾恵治〕

（2）カニクイザルにおける心疾患

我々はこれまでに 20 歳以上の老齢個体を含めたカニクイザル 126 頭、アフリカミドリザル 36 頭を対象として心機能検査を行ってきた。検査の結果、アフリカミドリザルでは拡張型もしくは肥大型心筋症が疑われる個体が 11 頭検出された。カニクイザルにおいては心室中隔欠損症、右室二腔症、弁膜症、心内膜炎および重度心不全症状を伴う拡張型心筋症を疑う個体を検出した。また、臨床症状を伴わない弁口の逆流を認める個体も検出され、20 歳以上の老齢個体においては半数以上に何らかの心機能障害を認めた。今後さらなる横断的調査、また重度な心疾患においては縦断的調査を行い心臓病態機序の解明、新規治療法開発研究に寄与したいと考える。

〔揚山直英、鯉江　洋、小野文子*、山海　直（*予防衛生協会)〕

２．サル類における MRI 検査

サル類における高磁場 MRI 撮像条件の確立を試みた。撮像条件の適正化を行いカニクイザル頭部 T_1、T_2、プロトン強調画像、3D 画像に加え拡散強調画像（diffusion weighted image)、組織灌流画像（perfusion weighted image）の撮像条件を確立した。さらに ECG trigger 法を用い、多動臓器である心臓の撮像を可能とした。また、血中滞在時間の長い造影剤のボーラス投与により心筋の組織灌流画像の撮像条件も確立した。これらの撮像プロトコールを用いることによりカニクイザルにおいて心疾患をはじめとした様々な疾患の病態解析が可能になると考えられる。

〔揚山直英、成田勇人*、小野文子*、寺尾恵治（*予防衛生協会)〕

３．カニクイザルにおける赤血球動態

カニクイザルの赤血球動態について調査した。生理学的には、加齢に伴い、RBC、HGB、HCT、MCV 値について増加する傾向が認められた。疾患との関連では多くの症例で貧血を併発していることが明らかとなった。しかし、貧血の重篤度と性別、加齢との因果関係は見られず、疾患による複合的な要因により貧血を併発していることが示唆された。一方で原因疾患を特定できない貧血は半数近くに認められ、このような症例では SRV 感染率が高く、貧血と SRV 感染との関連性が示唆された。

〔斎藤 直之*、大藤 圭子*、高野 淳一朗*、原 正幸、岡

林 佐知*、片貝 祐子*、向井 鐐三郎、小野 文子*、寺尾 恵治（*予防衛生協会）〕

４．カニクイザルを用いた BSE プリオン感染モデルの開発

カニクイザルに BSE 発症ウシ脳乳剤を接種し、経時的に血液や脳脊髄液等の採材、神経生理学的及び行動学的解析を行っている。接種１６ヶ月目で脳内接種群に成長の遅延傾向が認められた。また非律動運動では眼振、掻痒感が認められ、皮質脳波で高振幅徐波が多発する傾向が観察された。サルにおける発症は３～５年と報告されていることから継続して検索していく。BSE 感染モデルサル作出は、vCJD 発症機序の解明および、早期診断によるヒト相互間における移植等医原性感染のリスク排除に有用と考えられる。

〔小野　文子*、寺尾　直美、冷岡　昭雄*、大山　篤史*、寺尾 恵治（*予防衛生協会）〕

５．カニクイザルの脳ＭＲＩ画像解析

３～３３歳カニクイザルの脳 MRI 撮像を行い、加齢に伴う変化について解析した。脳の解剖学的形態の比較については 30 歳雄カニクイザルで側脳室の顕著な拡大が確認されるなど画像診断学的にも有意な所見が得られた。更に、灰白質容積・白質容積において有意な加齢性容積減少等が見られた。老人病に代表される異常化のメカニズムを明らかにするために、画像診断を用いた評価方法を樹立することは必須であり、各年齢動物の画像データベース構築を引き続き進めていく計画である。

〔成田　勇人*、斎藤 直之*、揚山直英、小松崎克彦*、小川浩美*、岡林 佐知*、片貝 祐子*、小野 文子*、寺尾恵治（*予防衛生協会）〕

６．脳梗塞モデルの作成

脳梗塞治療法の開発には脳の構造と機能がヒトと類似した霊長類モデルは不可欠である。マイクロカテーテルを用いた中脳大動脈閉塞による梗塞モデル作成を試みた。明らかな臨床症状と MRI による梗塞像が確認されたが、障害の程度が著しかったことから、梗塞時間を調節することによって、治療研究の評価に適切なモデル系を作出することが重要と考えられる。一方、MRI による梗塞の評価については脳損傷の広がりを非侵襲的、経時的に描出でき、非常に有用な手段であることが示された。

〔小野文子*、成田勇人*、斎藤 直之*、小松崎克彦*、小川浩美*、片貝祐子*、間瀬光人**、吉川泰弘***、寺尾恵治（*予防衛生協会、**名古屋市大、***東大）〕

Ⅲ．霊長類の研究リソース開発に関する研究

１．カニクイザルのマイクロサテライトマーカーの整備

カニクイザルのマイクロサテライトマーカーを整備するために、148 のゲノム全体のヒト用プライマーを用いて、20 の無関係なカニクイザルゲノム DNA を鋳型にしてヒトのマイクロサテライトマーカーが使えるか検討を行った。その結果、少なくとも 106 (72%) のプライマーがカニクイザル DNA 配列でも増幅し、さらに 66 (45%) のプライマーが多型性を持つ産物を増幅できる事を確認できた。これらのマーカーの多型数は 2 ～ 10 であり、その平均値は 5.28 であった。また、この多型マーカーはメンデルの遺伝法則に準拠していることを確認した。今後、このデータを基礎として、カニクイザルゲノムの連鎖地図の作成を目指していく。

〔菊池俊彦、寺尾恵治〕

２．カニクイザル繁殖コロニーにおける EBV、CMV、SFV の SPF 化に関する研究

母ザル哺育および人工哺育由来の離乳仔ザルについて EBV、CMV、SFV 感染状況を調査し、SPF 化の検討を行った。人工哺育由来の仔ザルは EBV、CMV、SFV 全てにおいて、母ザル哺育由来の仔ザルに比べ低い感染率であった。特に EBV については母ザル哺育仔ザルでの感染率が 56%であったのに対し、人工哺育由来の仔ザルは全て陰性であり、人工哺育の有効性が明らかとなった。今後、人工哺育サルを活用して、高率にこれら３種のウイルスをコロニーから排除できる可能性が示された。

[成田豊子*、高野淳一朗*、羽成光二*、藤本浩二*、吉田高志、寺尾恵治（*予防衛生協会）]

３．SRV/D の SPF 化における人工哺育利用の有効性に関する研究

カニクイザル繁殖群における SRV/D の感染率を、離乳時から 24 歳齢まで 5 つの年齢群に分け、RT-PCR に

よるウイルス RNA ゲノム検出と WB により調査した。また離乳時における人工哺育と母ザル哺育由来についても比較を行った。陽性率は年齢とともに上昇し、５歳齢で 90%以上であった。一方、ゲノムの検出率は全ての年齢群において差は無く、離乳時の比較でも差はなかった。離乳時期を早めても SRV/D の排除には有効でなかった。この結果、経胎盤感染が推測され、現在妊娠ザルとその胎仔あるいは新生仔の感染状況を調査している。

[高野淳一朗*、成田豊子*、羽成光二*、藤本浩二*、吉田高志、寺尾恵治（*予防衛生協会）]

４．カニクイザルの人工哺育

カニクイザル繁殖群では、野生ザル由来から F1 世代への移行に伴い、人工哺育の必要性が増加している。ミルクは１日４回与え、8 週齢まで保温性の高い発泡スチロール箱とパネルヒーターを用いた。それ以降は２分割に仕切れるアクリル製哺育箱に移し、同居させた。人工哺育は６ヶ月齢もしくは体重 800ｇで終了した。この結果、人工哺育期間の死亡率は 1990 年の 40%から、2003 年には 10%以下に減少した。体重成長は離乳時で母ザル哺育の仔ザルと差が無く、死亡率も減少したため今回の人工哺育方法はカニクイザルに適していると判断した。

[羽成光二*、新井千尋*、後藤五十六*、藤本浩二*、吉田高志、寺尾恵治（*予防衛生協会）]

５．縦断的調査によるカニクイザルでの閉経後の骨量減少

年齢の異なる多数の個体を対象として横断的手法による骨密度の減少を調査しても、老齢個体では個体差が大きく実証は困難である。そこで、霊長類医科学実験施設のエイジングファームの動物の腰椎骨ならびに全身骨の測定を行なった。2000 年 5 月より約半年の間隔で反復測定を行なった。個体毎に測定値をプロットしたところ、23 歳齢以上の一部の個体で全身骨量並びに腰椎骨量の減少傾向が認められた。カニクイザルの 23 歳齢頃は閉経時期に相当する。今後も可能な限り観察を継続し自然発症性の閉経後骨粗鬆症の実験モデルとしたい。

[小松崎克彦*、羽鳥真功、藤田志歩、吉田高志（*予防衛生協会）]

Ⅳ．生殖生理および発生工学的研究

１．年齢によるカニクイザルの排卵時期の比較

カニクイザルを若齢（6～10 歳）と高齢（15～21 歳）の２群に分けた。排卵時期は血中エストラジオール-17β（E2）のピーク値から急激に低下する間に起きたものと推定され、両群を比較した。若齢群で排卵は月経初発日から第 12-13 日と第 13-14 日に高率に認められた。高齢群では第 11-12 日、第 12-13 日、第 13-14 日で同様に見られ、排卵率は若齢群よりも低かった。第 14-18 日では、高齢群でより多く排卵が認められた。高齢群において排卵する時期の幅が若齢群よりも大きく、高齢個体の排卵は、若齢個体よりもバラツキを生じやすいことが明らかとなった。

[下澤律浩、岡田浩典、羽鳥真功、吉田高志、山海　直]

２．カニクイザルの体細胞核移植卵作出の試み

ホルモン処理により卵胞発育を誘起したカニクイザルから未受精卵を採取した。卵の核を除いたあと、卵丘細胞あるいは皮膚細胞を卵細胞質に注入した。その後、活性化処理を行い核について観察した。また、得られた卵は 37 度、5%CO_2、5%O_2 環境で培養した。その結果、低率ではあるが発生を開始する卵を認めた。

[山海　直、下澤律浩、岡田浩典、羽鳥真功、小倉淳郎*、井上貴美子*、越後貫成美*、三木浩美*、吉田高志、寺尾恵治（*理研）]

３．妊娠カニクイザルの卵巣から採取した未成熟卵子の体外成熟培養

実験殺妊娠カニクイザルの卵巣から成熟卵子と同等サイズの卵子の体外成熟培養を検討した。卵子は、卵丘細胞の付着程度の良好なものからＡ区、Ｂ区およびＣ区に分けた。24 時間後に成熟卵は、それぞれ 18%、20%および 17%であった。培養を継続した未成熟卵は、48 時間目で、積算してそれぞれ 45%、30%および 25%、ならびに 72 時間目で 50%、30%および 29%であり、Ａ区において成熟率が高い傾向にあった。未成熟卵子の体外成熟において卵丘細胞の必要性と成熟時間にバラツキが生じることが示された。

[下澤律浩、岡田浩典、羽鳥真功、吉田高志、山海　直]

４．アフリカミドリザル精子の凍結保存

マカカ属サル類精子の凍結保存に有効な TTE 溶液を用いた方法でオナガザル属のアフリカミドリザルの精子を凍結すると運動性を失うが、凍結前処理を短時間で実施する変法を用いることにより融解直後に良好な運動性を示す精子がみられることを確認している。今回、さらに凍害保護剤と平衡時間について検討を進めた。その結果、LN_2 気相中で瞬間的に凍結した場合、凍害保護剤を用いなくても運動性を保った精子が回収でき、このとき凍害保護剤の有無による大きな差は認められないことが明らかとなった。

[岡田浩典、下澤律浩、羽鳥真功、山海　直]

５．顕微鏡下細胞培養システムで培養した細胞の長期間デジタル連続撮影装置を用いた動画による観察

STO 細胞およびカニクイザル胎児線維芽細胞の増殖動態並びにウサギ受精卵卵割の長期間観察を行った。培養には顕微鏡下で温度と CO_2 濃度の制御システムを用い、コンピューターで自動制御されたデジタルカメラによる高画質で長期間の連続撮影を行った。その結果、胎児線維芽細胞で共通の分裂様式が見られ、その中でいくつかの種特異的な現象も認めた。また、ウサギ受精卵の発生の全行程の観察が可能となった。本システムで長期の培養観察が可能であり、さらに、新知見が得られる可能性が示された。

［羽鳥真功、岡田浩典、下澤律浩、山海　直］

６．カニクイザル ES 細胞におけるテラトーマ形成能

他機関から分与されたカニクイザル ES 細胞である CMK6GFP の培養およびその正常性をテラトーマ形成により検討した。コラゲナーゼによる継代を 3-４日毎に行ったところ、継代初期は分与時と同様に扁平なコロニー形状を示した。この CMK6GFP を継代時に浮遊培養させたところ、胚様体が形成され、その初期分化能を認めた。さらに、多分化能を確認するために、免疫不全マウスに CMK6GFP を移植し、２−３ヶ月後に形成された腫瘍を調べたところ、三胚葉に由来する組織が認められた。分与初期のサル ES 細胞は正常な多分化能を保持していることが確認できた。

[下澤律浩、中村紳一郎*、寺尾恵治（*日獣大）]

７．カニクイザル ES 細胞における発現タンパク質の解析

カニクイザル ES 細胞で高発現しているタンパク質を解析するためにウェスタンブロット法を応用した PowerBlot 解析（BD Biosciences）を用いて分化初期の胚様体との比較を行った。コラゲナーゼ処理した ES 細胞コロニーを回収し、PBS 洗浄後-80℃に保存した。また、胚様体は浮遊培養から２-３週間後に回収し、PBS 洗浄後-80℃に保存した。これら二つを解析したところ、初期分化細胞である胚様体と比べて ES 細胞で５倍以上および 1/5 以下の発現を示したタンパク質が９種類および１５種類確認できた。これらのタンパク質は初期分化あるいは未分化性と何らかの関連があるものと考えられる。

[下澤律浩、寺尾恵治]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1) Kimura N, Negishi T, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y: Astroglial responses against Abeta initially occur in cerebral primary cortical cultures: species differences between rat and cynomolgus monkey. Neurosci Res 49: 339-346, 2004.

2) Hayashi H, Kimura N, Yamaguchi H, Hasegawa K, Yokoseki T, Shibata M, Yamamoto N, Michikawa M, Yoshikawa Y, Terao K, Matsuzaki K, Lemere CA, Selkoe DJ, Naiki H, Yanagisawa K: A seed for Alzheimer amyloid in the brain. J Neurosci 24, 4894-4902: 2004.

3) Kimura N, Nakamura S, Ono F, Sakakibara I, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y: Presenilin-2 in the cynomolgus monkey brain: investigation of age-related changes. Primates 45: 167-175, 2004.

4) Nguyen KL, Llano M, Akari M, Miyagi M, Poeschla EM, Strebel K, Bour S: Codon optimization of the HIV-1 vpu and vif genes stabilizes their messenger RNA and allows for highly efficient Rev-independent expression. Virology, 319: 163-175, 2004.

5) Akari H, Fujita M, Kao S, Khan MA, Shehu-Xhilaga M, Adachi A, Strebel K: High level expression of Human

immunodeficiency virus type 1 Vif inhibits viral infectivity by modulating proteolytic processing of Gag precursor at the p2/NC processing site. J Biol Chem 279: 12355-12362, 2004.

6) Uda A, Tanabayashi K, Yamada YK, Akari H, Lee YJ, Mukai R, Terao K, Yamada A: Detection of Fourteen Alleles Derived from MHC Class I A Locus in Cynomolgus Monkeys. Immunogenetics 56: 155-163, 2004.

7) Fujita M, Akari H, Sakurai A, Yoshida A, Chiba T, Tanaka K, Strebel K, Adachi A: Expression of the HIV-1 accessory protein Vif is controlled uniquely to be low and optimal by proteasome-degradation. Microb Infect 6: 791-798, 2004.

8) Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, Hasegawa M. In vivo expansion of gene-modified hematopoietic cells by a novel selective amplifier gene utilizing the erythropoietin receptor as a molecular switch. J Gene Med, 6: 22-31, 2004.

9) Sato Y, Koketsu D, Ageyama N, Ono F, Miyamoto Y, Hisatsune T. Successful Retrograde Transport of Fluorescent Latex Nanospheres in the Cerebral Cortex of the Macaque Monkey. Exp Anim, 53:383-386, 2004.

10) Ueda K, Hanazono Y, Shibata H, Ageyama N, Ueda Y, Ogata S, Tabata T, Nagashima T, Takatoku M, Kume A, Ikehara S, Taniwaki M, Terao K, Hasegawa M, Ozawa K. High-Level In Vivo Gene Marking After Gene-Modified Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation Without Marrow Conditioning in Nonhuman Primates. Mol Ther, 10: 469-477, 2004.

11) Ueda K, Hanazono Y, Ageyama N, Shibata H, Ogata S, Ueda Y, Tabata T, Ikehara S, Taniwaki M, Hasegawa M, Terao K, Ozawa K. Intra-bone marrow transplantation of hematopoietic stem cells in non-human primates: long-term engraftment without conditioning. Gene Ther Regulation, 2: 207-218, 2004.

12）Miyamoto S, Chen Y, Nakamura S, Sankai T, Machida T, Yoshida T: Synthesis and release of steroids in intestines from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). Zoolog. Sci., 21: 639-648, 2004.

13) Okada H, Hirose Y, Manonmani P, Ito M, Sankai T: Zona-froat method for separating mouse eggs from other cells. Exp. Anim, 53: 355-359, 2004.

14) Manonmani P, Okada H, Ogonuki N, Uda A, Ogura A, Yoshida T, Sankai T: Fertilization and preimplantation development of mouse oocytes after prolonged incubation with caffeine. Reprod Med Biol., 3: 245-251, 2004.

15) Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, Hasegawa M. In vivo expansion of gene-modified hematopoietic cells by a novel selective amplifier gene utilizing the erythropoietin receptor as a molecular switch. J Gene Med. 6:22-31, 2004.

16) Uda A, Tanabayashi K, Mukai R, Terao K, Yamada A. Detection of CD3epsilon polymorphism in cynomolgus monkeys by a method based on RFLP. J Med Primatol. 33:34-37, 2004.

17) Mimuro J, Mizukami H, Ono F, Madoiwa S, Terao K, Yoshioka A, Ozawa K, Sakata Y. Specific detection of human coagulation factor IX in cynomolgus macaques. J Thromb Haemost. 2:275-280. 2004.

18) Asano T, Hanazono Y, Sasaki K, Ueda Y, Hasegawa M, Ageyama N, Terao K, Kitano Y, Momoeda M, Ozawa K, Harii K. Allogeneic transplantation of genetically modified primate embryonic stem cells. Wound Repair Regen. 12:A16, 2004.

19) Hayashi H, Kimura N, Yamaguchi H, Hasegawa K, Yokoseki T, Shibata M, Yamamoto N, Michikawa M, Yoshikawa Y, Terao K, Matsuzaki K, Lemere CA, Selkoe DJ, Naiki H, Yanagisawa K. A seed for Alzheimer amyloid in the brain. J Neurosci. 24:4894-4902, 2004.

20) Uda A, Tanabayashi K, Yamada YK, Akari H, Lee YJ, Mukai R, Terao K, Yamada A, Detection of 14 alleles derived from the MHC class I A locus in cynomolgus monkeys. Immunogenetics. 56:155-163, 2004.

21) Yoshioka T, Ageyama N, Shibata H, Yasu T, Misawa Y, Takeuchi K, Matsui K, Yamamoto K, Terao K, Shimada K, Ikeda U, Ozawa K, Hanazono Y. Repair of Infarcted Myocardium Mediated by Transplanted Bone Marrow-Derived CD34+Stem Cells in A Nonhuman Primate Model. Stem Cells 23: 355-364, 2005.

22）Hara M, Sata T, Kikuchi T, Nakajima N, Uda A, Fujimoto K, Baba T, Mukai R: Isolation and characterization of a new simian retrovirus type D subtype from monkeys at Tsukuba

Primate Center, Japan. Microb. Infect, 7: 126-131, 2005

23) Hara M, Kikuchi T, Ono F, Takano J, Ageyama N, Fujimoto K, Terao K, Baba T, Mukai R: Survey of captive cynomolgus macaque colonies for SRV/D infection using polymerase chain reaction assays. Comp. Med, 55: 145-149, 2005

24) Okada H, Hirose Y, Manonmani P, Ito M, Sankai T: Characterization of an immortalized oviduct cell established from the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). J. Med. Primatol., in press.

25) Okada H, Ito M, Hirose Y, Yoshida T, Sankai T: Buffalo rat liver cells produce proteins that support the preimplantation development of mouse embryos cultured in vitro. Comp. Med., in press.

26) Kwon J, Mochida K, Wang YL, Sekiguchi S, Sankai T, Aoki S, Ogura A, Yoshikawa Y, Wada K: Ubiquitin C-terminal hydrolase L-1 is essential for the early apoptotic wave of germinal cells and for sperm quality control during spermatogenesis. Biol. Reprod., in press.

27) Koie H, Ageyama N, Ono F, Kanayama K, Sakai T, Sankai T: Echocardiographic diagnosis of muscular ventricular septal defect in a cynomolgus monkey. Contemporary topics, in press.

２．和文発表

1）寺尾恵治、小山高正、鈴木樹里、実験用霊長類の心理的ストレスを評価する免疫学的指標と飼育環境のエンリッチメント評価。実験動物技術、39: 97-104, 2004.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Kimura N, Ishii Y, Suzaki S, Negishi T, Kyuwa S, Yoshikawa Y, Terao K.: Amyloid beta induces expression of LGI3 in rat astrocytes. The 7th International Conference AD/PD 2005. Sorrento, Italy, Mar 8-14, 2004

2) Akari H, Fujita M, Kao S, Khan MA, Shehu-Xhilaga M, Lee YJ, Adachi A, Strebel K: High level-expression of HIV-1 Vif inhibits viral infectivity by modulating proteolytic processing of the Gag precursor at the p2/NC processing site. Cold Spring Harbor Meeting on Retroviruses. New York, USA. May 25-30, 2004

3) Fujimoto K：Experimental Use of Non-Human Primates in Japan. The First Congress of AFLAS (The Asian Federation of Laboratory Animal Science Associations), May 2004, Nagasaki

4) Ueda K, Ueda Y, Hanazonno Y, Shibata H, Ageyama N, Nagashima T, Tabata T, Kume A, Ikehara S, Terao K, Ozawa K, Hasegawa M. Efficient In Vivo Gene Marking of Hematopoietic Cells without Marrow Conditioning in Nonhuman Primates. 7 th Annual Meeting of the American Society of Gene Therapy. Minnesota, USA. June 2-6, 2004.

5) Kimura N, Tanemura K, Nakamura S, Takashima A, Yanagisawa K, Terao K, Ono F, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa S.: Age-Related Changes of Senile Plaque-associated proteins in Cynomolgus Monkey Brains. The 9th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disoerders.Philadelphia, USA, July7 16-23, 2004

6) Okada A, Shimozawa N, Baba S, Yokofujita J, Murakami K, Igarashi H, Nimori S, Sankai T, Kuroda M: Effect of magnetic fields on mammalian spermatozoa 16 th international Congress of the FAA (International federation of association of anatomists) Anatomical Science 2004 from gene to body. Kyoto, Japan. August, 2004

7) Sato Y, Ageyama N, Ito H, Aizawa K, Yokoyama C, Terao K, Yoshikawa Y, Miyamoto Y, Hisatsune T. Induction of targeted cerebral ischemia in macaque monkeys. Society for Neuroscience 34th Annual Meeting. San Diego, USA. October10 23-27, 2004

8) Shimozawa N, Okada H, Hatori M, Yoshida T, Sankai T: Collection of mature ooctyes and the intracytoplasmic sperm injection in the African green monkey (Cercopithecus aethiops) and cynomolgus monkey (Macaca fascicularis). 11th International Workshop of Primate Diseases, December 2004, Tsukuba.

9) Okada H, Hatori M, Shimozawa N, Sankai T: Development of the cryopreservation method of spermatozoa in cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) and African green monkeys (Cercopithecus aethiops) −Comparison of cynomolgus monkey and African green monkey freeze-thawed spermatozoa −. 11th International Workshop of

Primate Diseases, December 2004, Tsukuba.

10) Hatori M, Okada H, Shimozawa N, Ebisawa T, Sankai T: Development of the new cell culture system under a microscope and observation of the cells by the animation built using a digital photography equipment. 11th International Workshop of Primate Diseases, December 2004, Tsukuba.

11) Kikuchi T, Terao K: Establishment of microsatellite marker in Cynomolgus monkey. 11th International Workshop of Primate Diseases（Tsukuba）December, 2004.

12) Ageyama N, Koie H, Ono F, Kanayama K, Sakai T, Sankai T. Diagnosis of Cardiovascular System in African Green Monkey (Cercopithecus aethiops). 10 th International Workshop of Primate Diseases. Tsukuba, Japan. December 9-10, 2004.

13) Koie H, Ageyama N, Ono F, Sato T, Sakai T, Kanayama K, Sankai T. Echocardiography of Cardiovascular Disorders in a Cynomolgus Monkey (Macaca fascicularis). 10 th International Workshop of Primate Diseases. Tsukuba, Japan. December 9-10, 2004.

14) Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Mochida K, Hirose Y, Okada H, Shimozawa N, Takeiri S, Nagashima H, Sankai T, Ogura A:.Differential development of rabbit embryos following microinsemination using sperm and spermatids. 31st Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Copenhagen. January 2005.

２．国内学会

1) 揚山直英、鯉江　洋、小野文子、山海　直：室内繁殖カニクイザルコロニーでの循環器疾患に関する大規模スクリーニング。第 137 回日本獣医学会学術集会（神奈川）2004 年 4 月

2) 鯉江　洋、揚山直英、小野文子、佐藤常男、酒井健夫、金山喜一、山海　直：心エコー図で見られたサル類の心疾患。第 137 回日本獣医学会学術集会（神奈川）2004 年 4 月

3)海老澤崇史、揚山直英、小野文子、神田忠仁、西村亮平、豊岡照彦：サル類を用いた研究に期待すること-重症心不全の遺伝子治療の開発戦略-。第 137 回日本獣医学会学術集会（神奈川）2004 年 4 月

4)揚山直英、鯉江　洋、小野文子、山海　直：室内繁殖カニクイザルコロニーでの循環器疾患に関する大規模巣クリーニング　シンポジウム：サル類における循環器疾患モデル　第 137 回日本獣医学会（藤沢）2004 年 4 月

5)鯉江　洋、揚山直英、小野文子、佐藤常男、酒井健夫、金山喜一、山海　直：心エコー図でみられたサル類の心疾患シンポジウム：サル類における循環器疾患モデル第 137 回日本獣医学会（藤沢）2004 年 4 月

6)原正幸、小野文子、菊池俊彦、高野淳一朗、成田豊子、藤本浩二、馬場忠、寺尾恵治、向井鐐三郎: 霊長類センターのカニクイザルコロニーにおける SRV/D の疫学調査、第 51 回日本実験動物学会（長崎）2004 年 5 月

7)下澤律浩、広瀬良宏、岡田浩典、吉田高志、山海　直：アフリカミドリザルおよびカニクイザルにおけるグリセリン溶媒を用いた FSH による卵胞発育誘起の試み　第 45 回日本哺乳動物卵子学会（大津市）2004 年 5 月

8)冷岡昭雄、吉田高志：　サル類の飼育・繁殖現場から生まれる最新医療研究　シンポジウム　カニクイザル室内繁殖コロニーの現状と工夫、および問題点　第 51 回日本実験動物学会（長崎）2004 年 5 月

9)下澤律浩、広瀬良宏、岡田浩典、吉田高志、山海　直：アフリカミドリザルにおける顕微授精に関する検討　第 51 回日本実験動物学会（長崎）2004 年 5 月

10)岡田浩典、広瀬良宏、下澤律浩、伊藤雅夫、山海　直：アフリカミドリザルの ES 細胞樹立の試み　第 51 回日本実験動物学会（長崎）2004 年 5 月

11)高野淳一朗、成田豊子、 橘裕司、清水利行、小松原博文、寺尾恵治、藤本浩二：輸入カニクイザルからの赤痢アメーバ（Entamoeba histolytica）の分離　第 51 回日本実験動物学会（長崎）2004 年 5 月

12)寺尾恵治、サルをモデルとした神経・免疫・内分泌相関の解析_心理的、社会的ストレスと免疫機能_シンポジウム II、ストレス研究最前線_各種ストレス環境における生体反応_、第 51 回日本実験動物学会（長崎）2004 年 5 月

13)寺尾恵治、再生医療技術のトランスレーショナルと実験用サル類、シンポジウム「サル類の飼育・繁殖現場から生まれる最新医療研究」、第 51 回日本実験動物学会（長崎）2004 年 5 月

14)下澤律浩、岡田浩典、冷岡昭雄、吉田高志、山海　直：年齢によるカニクイザルの排卵時期の比較　第 20 回日

本霊長類学会（犬山）2004 年 7 月

15)岡田浩典、下澤律浩、山海　直：アフリカミドリザルおよびカニクイザル精子の凍結保存　第 20 回日本霊長類学会（犬山）2004 年 7 月

16)土田順子、吉田高志、小野孝浩、山海　直：室内繁殖コロニーで育成されたカニクイザルの哺育態度に関する統計学的解析　第 20 回日本霊長類学会（犬山）2004 年 7 月

17)成田豊子、高野淳一朗、小野文子、藤本浩二、寺尾恵治：筑波医学実験用霊長類センター（TPC）カニクイザル繁殖コロニーにおける EBV、CMV、SFV の感染状況調査と SPF 化に関する研究　第 20 回 日本霊長類学会（犬山）2004 年 7 月

18)寺尾恵治, 河野陽子, 古屋優子、坂庭操、カニクイザルの老化に伴う抗核抗体出現時期の検討。第 20 回日本霊長類学会（犬山）2004 年 7 月

19)花園豊, 吉岡徹, 揚山直英, 柴田宏昭, 安隆則, 山本啓二, 寺尾恵治, 島田和幸, 池田宇一, 小澤敬也：虚血性心疾患に対する骨髄幹細胞移植治療のメカニズム。第 66 回日本血液学会総会（京都）2004 年 9 月

20)揚山直英、鯉江　洋、金山喜一、酒井健夫、小野文子、山海　直：アフリカミドリザルにおける心機能検査。第 138 回日本獣医学会学術集会（北海道）2004 年 9 月

21)木村展之、柳澤勝彦、寺尾恵治、小野文子、榊原一兵、石井寿幸、久和茂、吉川泰弘：Age-Related Changes of Senile Plaque-associated proteins in Cynomolgus Monkey Brains.　第２３回日本痴呆学会（東京）2004 年 10 月

22）飯島沙幸、石井孝司、李永仲、岩田奈織子、八木慎太郎、山口健次郎、槇昇、吉崎佐矢香、町田早苗、木村展之、鈴木哲朗、佐多徹太郎、宮村達男、明里宏文：C 型肝炎のサル病態モデル開発。第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004 年 11 月

23)中山大介、徳永恵一、清永康平、三隅将吾、高宗暢暁、向井鐐三郎、橘　圀臣、梅田　衛、柴田英昭、庄司省三：CCR5-CXCR4 キメラ環状抗原により得られた種々の単クローン抗体の Cross-clade HIV-1 感染防御。第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004 年 11 月

24)李　永仲、飯島沙幸、明里宏文：HIV-1 Vif 蛋白による Gag p2/NC プロセシング制御に関する解析。第１８回日本エイズ学会学術集会（静岡）2004 年 12 月

25)徳永恵一、中山大介、清永康平、三隅将吾、高宗暢暁、向井鐐三郎、橘　圀臣、梅田　衛、柴田英昭、庄司省三：HIV-1 coreceptor に元づいたキメラ環状抗原免疫カニクイザル抗血清による種々clade 由来の R5X4 HIV-1 への多様な感染阻害。第 18 回日本エイズ学会学術集会（静岡）2004 年 12 月

26)土屋英明、中川佳子、岡田浩典、下澤律浩、高田達之、鳥居隆三、桑名　貴、山海　直：カニクイザル始原生殖細胞の検出と培養の試み　第 84 回関西実験動物研究会（京都）2004 年 12 月

27)前田るい、寛山　隆、須藤和寛、三原田賢一、山海　直、小倉淳郎、中村幸夫　マウス核移植 ES 細胞の造血細胞への分化能　第 27 回日本分子生物学会（神戸）2004 年 12 月

28)柴田宏昭、佐々木京子、揚山直英、北野良博、林　聡、田中裕次郎、寺尾恵治、花園　豊：サル ES 細胞を用いた同種移植実験：テラトーマ形成リスクの軽減の試み。日本再生医療学会（大阪）2005 年 3 月

招聘講演

1)揚山直英：サル類輸入検疫の実際と健康管理に関する臨床例。滋賀医科大学　動物生命科学研究センター（RCALS）第５０回記念特別セミナー（滋賀）2004 年 5 月

2）寺尾恵治、サル類の免疫系の初期発達と加齢変化、イナリサーチ創業 30 周年記念学術講演会（大阪）2004 年 7 月

3)藤本浩二、カニクイザルコロニーの微生物学的モニタリング、イナリサーチ創業 30 周年記念学術講演（大坂）2004 年 7 月

4）寺尾恵治、カニクイザルをモデルとした末梢 T 細胞の加齢変化、シンポジウム「老化のバイオロジー（1）：実験動物のヒト老化モデルとしての有用性と限界、そして新たな挑戦」第 19 回老化促進モデルマウス（SAM）研究協議会（守口）2004 年 7 月

5)寺尾恵治、サルをモデルとした神経・内分泌・免疫相関の解析–心理的、社会的ストレスと免疫機能–、第 68 回日本心理学会ワークショップ「ストレスにおける神経系、内分泌系、免疫系のクロストーク（2）–脳・免疫相

関、新たなストレスモデルの提唱（大阪）2004 年 9 月

6）寺尾恵治、霊長類を用いたトランスレーショナル・リサーチの現状と将来（独法・医薬基盤研究所における霊長類センターの役割）、動物衛生研究所、第 626 回水曜会（筑波）2004 年 12 月

7)寺尾恵治、再生医療など新規医療技術の光と陰－ES 細胞を用いた再生医療戦略を例として－、第 7 回生殖工学研究会、2005 年シンポジウム（東京）2005 年 3 月

24.ハンセン病研究センター

センター長　宮村達男

概　要

「ハンセン病問題に関する検証会議」の最終報告書が、平成１７年３月にまとめられた。我が国における唯一のハンセン病の研究センターとして、これからも患者さんをはじめとする社会の付託に応える現実的な研究を続けると共に、抗酸菌研究をリードするような根源的な微生物学、免疫学、分子生物学を集積した先端的研究を行うことが当センターの使命である。それと共に、得られた成果をわかりやすく社会に還元していく地道な努力をおこたってはならないことを私達は教訓として学んだ。幸い、ヒトの全遺伝子配列が決定されてから数年のうちに、らい菌の全遺伝子配列も決定され、我々の研究の基礎はできた。

人事面では、平成１６年４月１日よりウイルスⅡ部長宮村達男がセンター長に着任した。（ウイルスⅡ部は併任）また、平成１６年７月１日に宮本友司が病原微生物部第一室研究員として採用された。平成１７年３月３１日には、生体防御部第三室長　佐々木津が横浜市立大医学部分子生体防御学教室に転出した。新天地での研究の発展を祈りたい。

いろいろあったが、平穏に過ぎた１年であった。来年はいよいよ当センターが国立らい研究所として発足してから５０年を迎える。

国内関係事業

1.　第 27 回ハンセン病医学夏期大学講座を医療関係者に対して開講（8 月 23－27 日)。参加者数は 42 名（うち医師及び医学部学生が 13 名)。講義コースのほか、医学コースで基礎から臨床について包括的に実験・実習を行い、また、看護コースでは実習・グループ学習を実施。実行委員はセンター、多磨全生園、全療協、入所者自治会で構成。スタッフは約５０名。

2．全国国立ハンセン病療養所施設長協議会にセンター長出席（5 月 13 日、6 月 3 日、10 月 27,28 日、2 月 25 日）

国際協力事業

1.　平成１６年度 JICA 研修

名称：ハンセン病の治療及び予防の実践

目的：ハンセン病に関する研究を行い、当該分野の最新の診断・治療法や研究技術を習得し、帰国後ハンセン病研究の中核になりうるように指導し、ハンセン病対策のみならず、その他の感染症対策の向上に寄与しうる人材の育成を目的とする。

参加者：インドネシア、ミャンマー、タイ、ニジェール各１人、計４名

研修期間：平成１６年４月６日～１２月１２日

内容：日本語講義　１ヶ月

講義　年間２９（所内２３、所外６）

個別研修　約６ヶ月

外部研修　約２６回

（株）ＢＭＬ
川崎市高津区保健福祉センター
笹川記念保健協力財団
万有製薬
広島県環境衛生協会
多磨全生園、大島青松園
邑久光明園
京都大学大学院医学研究科
横浜市立大学
国立国際医療センター
神奈川県鎌倉保健所
日本ハンセン病学会
日本熱帯病学会
日本公衆衛生学会
ハンセン病医学夏期大学講座
小、中学校訪問　　他

成果：各研修員は有意義な研修を行い、平成 16 年 12 月に帰国した。

2. 国際共同研究と職員の海外派遣状況

・ベトナム：血液診断の技術的指導及び薬剤耐性菌の発生状況等についての共同研究のため職員４名派遣。

行政検査実績（石井則久）

平成 9 年７月からハンセン病検査要項が施行され、ハンセン病研究センターで行政検査が実施されている。検査項目は、病理学的検査、血清抗体価(抗 PGL-I 抗体)検査、PCR 検査、薬剤耐性遺伝子検査である。

平成 16 年度（平成 16 年 4 月～平成 17 月３月）の検査件数は表のごとく 55 症例、98 検査件数であった。１症例で複数回依頼（経過観察や異なる検査内容など）されるものもあった。また１回（１症例）の検査で複数の検査項目の依頼もあった。ハンセン病診断には複数の検査が推奨されており、各医療機関で実施できない検査が当センターに依頼されるため、依頼検査項目に差異が生じている。今年度は薬剤耐性遺伝子の検査依頼はなかった。最終的に新規にハンセン病と診断されたものは 9 例であった。

検査件数は増加傾向{平成９年度：47 件、平成 10 年度：32 件、平成 11 年度：34 件、平成 12 年度：50 件、平成 13 年度：739 件(国療ハンセン病療養所から 630 件の血清検査の依頼があった)、平成 14 年度：261 件(国療ハンセン病療養所から 105 件の血清検査の依頼があった) 、平成 15 年度：54 件}にあったが、平成 15 年度は減少したが、平成 16 年度には再増加した。平成 16 年度の増加の理由は、ハンセン病新規患者数の増加と共に鑑別診断のための検査依頼が増加したためである。ハンセン病新規患者数は毎年 10 名程度あるが、平成 16 年では 12 名であった。

ハンセン病の発生動向と検査件数を対比すると、検査の需要があるにも関わらず、行政検査がまだ十分に利用されていない可能性もある。

今後の課題として、行政検査の各医療機関への周知徹底、検査依頼の簡素化、検体送付の迅速化、検査結果の迅速通知、臨床症状を把握したうえでの検査の指導、皮膚スメア検査の指導、知覚検査の指導、治療効果判定への検査利用、検査結果を基にしたコンサルテーション、追跡検査などがあり、患者・主治医に一層有益な検査のあり方が求められている。

平成 16 年度（2004 年度）行政検査実績

年度	2004
年度	平成16
登録検査番号	55
総検査件数	98
病理学的検査件数	23
血清抗体価検査件数	40
PCR検査件数	35
薬剤耐性遺伝子検査件数	0
実症例数	37

らい菌の供給（松岡正典・天内肇）

平成 16 年４月より同 17 年３月までの間において、表に示すように、のべ 28 回、124 匹、6 施設、11 名の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。

らい菌感染ヌードマウス足蹠の分与

（平成 16 年４月より平成１７年３月）

Ｎｏ.	年月日	分与先		マウス匹数
	平成 15 年			
１）	4.9	福富	ハンセン研	1
２）	4.19	吉田	九州大	1
３）	4.21	与儀	ハンセン研	1
４）	4.27	牧野	ハンセン研	5
５）	5.10	鈴木	ハンセン研	3
６）	6.7	吉田	九州大	1
７）	6.15	大山	埼玉医大	2
８）	6.24	与儀	ハンセン研	2
９）	7.7	鈴木	ハンセン研	3
１０）	7.8	牧野	ハンセン研	2
１１）	7.14	遠藤	ハンセン研	6
１２）	7.21	儀同	ハンセン研	2
１３）	7.26	吉田	九州大	2
１３）	8.4	藤村	北里大	6
１４）	9.13	牧野	ハンセン研	2
１５）	9.29	藤村	北里大	3
１６）	11.16	与儀	ハンセン研	2
１７）	11.18	福富	ハンセン研	4

ハンセン病研究センター

Ｎｏ.	年月日	分与先		マウス匹数
１８）	11.22	遠藤	ハンセン研	13
１９）	11.25	儀同	ハンセン研	2
	平成 15 年			
２０）	1.11	後藤	鹿児島大	4
２１）	1.13	牧野	ハンセン研	2
２２）	1.24	向井	ハンセン研	10
２３）	2.7	向井	ハンセン研	10
２４）	2.8	福富	ハンセン研	3
２５）	2.21	向井	ハンセン研	13
２６）	2.22	藤村	北里大	6
２７）	3.7	向井	ハンセン研	13
２８）	3.7	松尾	杏林大	3
２８）	3.31	儀同	ハンセン研	2

24.ハンセン病研究センター

(ｉ)病原微生物部

部長　牧野正彦

概　要

ハンセン病新患患者数は徐々に減っているもののいまだに年間数十万人を数えている。ハンセン病を文字通り制圧するためには、有効に作用するワクチンの存在が不可欠である。当部においても有効かつ信頼に足るワクチンの開発を主な研究テーマの一つとして取り上げている。ハンセン病は多菌型と少菌型に大別されるが、少菌型ハンセン病においては菌体成分に対する細胞性免疫、とりわけ獲得性免疫応答が作用し、菌の体内分散を防いでいる。そこで、少菌型ハンセン病患者 T 細胞が生体内において認識している菌体分子を同定することがワクチンの開発に結びつくと想定し、少菌型ハンセン病患者血清を用いてらい菌をスクリーニングした。その結果、らい菌の細胞膜に存在する Major Membrane Protein-II (MMP-II)が同定された。本分子は、樹状細胞やマクロファージなど抗原提示細胞を活性化し種々のサイトカインを産生すると同時に T 細胞をも活性化した。さらに、少菌型患者メモリーT 細胞は正常健常者に比し、より強く MMP-II に反応することが明らかになり、目的とした分子である可能性が強く示唆された。今後、ハンセン病に対するワクチンと成り得るか検討を加えていきたい。さらに、MMP-II に対する抗体が少菌型ハンセン病患者血清中に存在したことから、MMP-II が血清診断に応用可能である可能性が示唆された。多菌型患者の 80%、少菌型患者の 40%強が MMP-II 抗体陽性であり、従来の PGL-I に比し有効であることが判明した。国際共同研究を通じハンセン病濃厚流行国での有用性を検討する。ハンセン病の確定診断には、らい菌の遺伝子診断法、特に PCR 法を用いた検査法が有効である。しかし、高価な機械を必要とするため途上国ではなじまない側面を有していた。この点を凌駕するため、恒温槽があれば検査が完了する等温遺伝子増幅法（LAMP 法）を確立した。また、病原体を安全に検査室まで運ぶ FTA カードを組み合わせた方法の開発にも成功した。今後、途上国への技術移転を図り、国際的厚生行政に貢献したい。つくば霊長類センターと共同でカニクイザルを用いたハンセン病モデル動物の作製研究を展開している。らい菌の投与ルート、投与回数、投与量などの基本的なデータの蓄積を行っているが、カニクイザルのハンセン病発症には至っていない。ヒトと同様サルにおいても、らい菌感染から長時間を経て病変が発症するものと推定している。

らい菌は細胞内寄生性菌であるが、生体防御機構をかいくぐり細胞内に長期に宿る免疫学的機構、特に TCR と TACO の関係あるいはサイトカインの果たす役割についても昨年に引き続き研究を行った。薬剤耐性菌は、「ハンセン病新時代」の中核を成す重要な研究課題の一つである。薬剤耐性菌に見られる薬剤ﾀｰｹﾞｯﾄ遺伝子の突然変異が、直接的に薬剤耐性に関わっているかを知るためモデル菌の作製を試みている。本試験法が確立されれば、従来の疫学調査を待たずして結論が得られるため、難治性ハンセン病患者には大きな福音となる。非結核性抗酸菌の研究では、糖脂質 Glycopeptidolipid (GPL)の糖移転酵素遺伝子を解析した。その結果、非病原性菌である *M. smegmatis* と病原性菌 *M. avium* では、共通した糖移転酵素とそれぞれに特異的な酵素の両者を有していて、両者が働いてそれぞれの菌に特徴的な GPL を形成していることを明らかにした。

最後に人事についてであるが、ヒューマンサイエンス財団からの流動研究員として活躍していた稲垣勝也が中途退所してアメリカ合衆国へ留学した。

業　績

調 査・研 究

I. 抗酸菌の病原性因子と病変発症機構に関する研究

1. 抗酸菌糖脂質 Glycopeptidolipids (GPLs)糖鎖生合成の解析

M. avium や *M. smegmatis* などの抗酸菌には GPLs が存在する。GPLs 生合成における糖鎖形成機構を解明するため、糖転移酵素遺伝子の破壊株を *M. smegmatis* により作製した。破壊株より抽出した GPLs を構造解析した結果、骨格部分の糖鎖は複数の転移経路を経て形成され、さらに末端部分では *M. smegmatis* は *M. avium* と異なった糖鎖生合成を持つことが判明した。

[宮本友司、向井　徹、中田　登、前田百美、甲斐雅規、中　崇(BCG 中央研究所)、矢野郁也(BCG 中央研究所)、牧野正彦]

2. 抗酸菌糖脂質 Glycopeptidolipids (GPLs)の細胞内寄生に与える影響

GPLs の糖鎖構造が変化した糖鎖転移酵素遺伝子の破壊株及び過剰発現株を *M. smegmatis* において作製し、J774 細胞へ感染させ、経時的に細胞内細菌の CFU を測定して各株の細胞内寄生性を算出した。その結果、野生株型 GPLs とは異なる糖鎖が付加された *gtf3* 遺伝子過剰発現株において野生株の 10～100 倍の CFU 値が認められ、GPLs の糖鎖構造が細胞内寄生に影響を与えることが示唆された。

[宮本友司、向井　徹、中田　登、前田百美、甲斐雅規、中　崇 (BCG 中央研究所)、矢野郁也 (BCG 中央研究所)、牧野正彦]

3. らい菌２成分情報伝達系の解析

らい菌２成分情報伝達系 SenX3-RegX3 の機能を解析した結果、第２成分 RegX3 がほとんど機能していないこと、原因として RegX3 遺伝子上流部分の欠失のためであることが判明した。しかし第１成分 SenX3 のプロモーター活性を lacZ レポーター遺伝子を利用し調べた結果、結核菌 SenX3 とほぼ同等の活性が観察された。また、このプロモーター活性は、らい菌 SenX3-RegX3 は RegX3 がほとんど機能していなかったにもかかわらず、らい菌 SenX3-RegX3 領域を強発現させると活性が上昇することから、RegX3 はリン酸化の有無にかかわらず SenX3 プロモーターに結合し、オートレギュレーションする可能性が示された。現在遺伝子破壊株を作成している。

[甲斐雅規、中田　登、P. J. Brennan (コロラド州立大学)、牧野正彦]

4. サル由来シュワン細胞を用いた神経障害機構の解明

らい菌のシュワン細胞への感染がヒト末梢神経障害の誘導に深く関与しているが、その障害機構は未だに不明である。そこで、私たちは幾つかのサル由来シュワン細胞株を樹立した。これらシュワン細胞は、MHC クラス I 抗原は発現していたが TLR2 などのレセプターは発現していなかったが、らい菌感染またはらい菌膜画分の刺激により、サイトカイン産性が誘導されることが明らかとなった。

[前田百美、遠藤真澄(生体防御)、寺尾恵治(筑波医学実験用霊長類センター)、牧野正彦]

5. らい菌感染モデルサルの樹立

ワクチン開発において、候補抗原の効果判定、安全性の確認が必要になる。そのため、系統的ならい菌感染サルの樹立を目的とした。幼若カニクイサルへ、鼻腔内、鼻尖皮下、静脈の 3 経路を選択し、らい菌を接種した。１１ヶ月後鼻尖皮内にらい菌の存在が確認された。鼻腔内投与では、接種後 3 ヶ月まで鼻腔内洗浄液に菌の存在が確認された。

[向井　徹、松岡正典（生体防御部)、鈴木幸一、寺尾恵治（筑波医学実験用霊長類センター)、小野文子（予防衛生協会)、牧野正彦]

6. 抗酸菌の細胞内寄生と自然免疫活性化のバランス決定の分子機構に関する研究

抗酸菌は宿主マクロファージのファゴゾーム内で様々な殺菌機構から免れて寄生する。ファゴゾームとライソゾームの融合阻害に関わる蛋白として CORO1A が見い出された。我々は、CORO1A の発現がマクロファージにおける TLR シグナルを抑制することを示し、その作用には CORO1A の coiled-coil モチーフと WD リピートの両方の構造が必要であることを示した。一方、マクロファージにおいては、抗酸菌感染、TLR リガンド刺激、活性化ビタミン D3 処理等で、CORO1A mRNA 発現量が低下することを示した。

[鈴木幸一、中田　登、牧野正彦]

7. らい菌が持つ多くの偽遺伝子に関する研究

らい菌全遺伝子領域の約 98%をカバーするコスミドライブラリーを膜にスポットし、らい菌由来標識 cDNA をプローブにアレイ解析を行い、さらにサザン法にて発現遺伝子を同定した。その結果、偽遺伝子の多くが強く発現しており、その発現量が感染によって変化することが判明した。このことから、これら偽遺伝子由来 mRNA がたの遺伝子発現に影響を与えている可能性を示した。

[鈴木幸一、中田　登、牧野正彦]

II. 生体防御機構とワクチン開発に関する研究

1. 新しいＴ細胞活性を示すらい菌分子の探索

ハンセン病に対する有効なワクチンの開発は切望されている。今回らい菌の細胞壁画分に注目し、最も高いＴ細胞活性を示す画分を探索した。水溶性の細胞壁画分に比べて非水溶性画分が高いＴ細胞活性を示し、さらに非水溶性画分をクロロフォルムとメタノール（2：1）を用いて分離したところ、脂溶性分画より、非脂溶性分画の活性が高く､さらに非脂溶性分画をは熱処理したところ、Ｔ細胞刺激活性は若干低下した。このことから、蛋白質以外の糖質などの関与が示唆された。

[前田百美、牧野正彦]

2. 新しいワクチン候補分子 MMP-II の抗原性の評価

新たに同定されたタンパク Major Membrane Protein (MMP-II)を樹状細胞にパルスすると自己のナイーブ及びメモリーＴ細胞の両者を刺激し、IFN-γ産生性タイプ 1 CD4 陽性および CD8 陽性Ｔ細胞を活性化した。ナイーブＴ細胞の反応性は正常健常者とハンセン病患者で差はなかった。しかし、メモリーＴ細胞においては、少菌型ハンセン病患者では、Ｔ細胞反応は正常健常者に比し著しく亢進していた。従って、MMP-II は生体内で認識され得る抗原性に富んだらい菌由来抗原であることが明らかとなった。

[前田百美、向井　徹、石井則久(生体防御)、牧野正彦]

3. らい菌特異的リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

これまでに、らい菌のリポ蛋白 LpK はヒト末梢血単球を刺激し、細胞性免疫応答の誘導に重要な IL-12 を産生することを明らかにした。今回 LpK のＮ末端 13 アミノ酸配列を含む合成リポペプチド Palmitoyl-Cys (2,3-di(palmitoyloxy)-propyl)-Leu-Pro-Asp-Trp-Leu-Ser-Gly-Phe-Leu-Thr-Gly-Gly-OH （lipoK）を合成し、抗原提示細胞の活性化を検討した。その結果、lipoK は抗原提示細胞上に発現する TLR2 を認識し、単球由来樹状細胞の抗原提示能を増強した。従って、lipoK はらい菌感染防御機構に重要な役割を担っていることが明らかになった。

[前田百美、牧野正彦]

4. 鼻腔を介したワクチン投与法の開発

らい菌の感染経路の一つとして鼻腔が考えられる。鼻腔内に効率的な粘膜免疫を誘導することを目的とし、粘膜の抗原補足細胞M細胞と特異的に結合するレオウイルσ因子とらい菌抗原融合蛋白をマウス鼻腔内に投与した。その結果、σ因子依存的にＮＡＬＴにおいて、Ｔ細胞の活性化、ＩＦＮ－γの産生が上昇し、粘膜面に効率的に細胞性免疫が誘導されたことが示唆された。

[向井　徹、宮本友司、牧野正彦]

5. 新しい結核のワクチン開発に関する研究

BCG-Tokyo 株に結核菌由来 Ag85a の分泌シグナルを付加した抗原遺伝子を、ベクターに組み込んだプラスミッドをもつ、rBCG をモルモットに皮下接種し、結核菌 H37Rv 株 10-20cfu/匹を噴霧感染して結核菌防御能を調べた。rBCG を 10^4cfu/匹に接種した場合には、PBS 群に比べて臓器の還元培養の結果から、明らかに結核菌防御能が見られた。また、rBCG(pMV261-SM)は、rBCG (pMV306-SM)より強い結核菌防御能であった。

[山崎利雄、芳賀伸治（細菌第一部）；宮本友司、稲垣勝也、牧野正彦]

6. DC-SIGN 分子による抗酸菌認識機構の検討

結核菌群の抗酸菌は、DC-SIGN を受容体とし樹状細胞へ感染することが知られている。そこで各種抗酸菌の DC-SIGN を介した細胞内感染の分子機構の解析を目的とした。GFP 発現 BCG, *M. avium, M. smegmatis* を作製し、樹立された DC-SIGN 発現細胞への細胞内侵入

性を検討した。その結果、*M. smegmatis* は、DC-SIGN を受容体として使用しないが、*M. avium* は、DC-SIGN N依存的に細胞内侵入が認められた。つまり、一量体 MAN-LAM も DC-SIGN のリガンドとなることが示唆された。

[向井　徹、宮本友司、牧野正彦]

III. ハンセン病の診断および治療に関する研究

1. ハンセン病の新しい血清診断の開発

昨年度、血清診断用の抗原として、Major Membrane Protein-II (MMP-II)が同定された。今回、199 例の患者血清中の抗 MMP-II 抗体を測定し、ROC 曲線を用いて統計的な処理を行った結果、多菌型ハンセン病患者 83.9%、少菌型ハンセン病患者では約 48.2%の陽性率を示した。この陽性率は抗 PGL-I 抗体の陽性率に比べて極めて良好な成績を示した。今後、ハンセン病流行地での検討が望まれる。

[前田百美、甲斐雅規、福富康夫、向井　徹、石井則久(生体防御)、牧野正彦]

2. クロファジミンによる細胞死誘導

ハンセン病の治療には DDS・リファンピシン・クロファジミン(B663)等の抗菌薬が用いられている。マウス腹腔正常マクロファージや健常人末梢血単球由来マクロファージを B663 存在下にて培養すると細胞死が観察された。さらに、THP-1 細胞でも B663 により著明な細胞死が観察されたが、annexinV 染色陽性細胞が現れヌクレオソーム単位での DNA の断片化も観察されたことから、アポトーシスを起こしていることが分かった。B663 にはハンセン病におけるらい反応、特に ENL を抑制する作用が知られているがその機構については明らかになっておらず、アポトーシス誘導能と何らかの関係があると思われた。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

3. マクロファージの *in vitro* における抗らい菌活性発現

ヒトマクロファージをヒト正常血清存在下でらい菌と共に培養して細胞内に取り込ませた後、同マクロファージを IFNγ と TNF、若しくは TNF inducer である LPS 存在下で 37 度にて培養した後、らい菌を回収しラジオレスピロメトリーにて代謝活性を調べたが、サイトカインを添加しない群との差はなかった。一方、マウス腹腔マクロファージは IFNγ と TNF や LPS の組み合わせで活性化してらい菌の代謝が著明に低下し、かつ殺菌作用に関与する NO の産生も起こった。ヒトマクロファージでは IFNγ 刺激しても NO の産生がみられなかったことから、ヒトマクロファージの抗らい菌活性発現には種々の因子が必要であることが示唆された。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

4. らい菌由来糖脂質の解析

抗酸菌菌体成分糖脂質の１つである Trehalose Dimycolate (TDM)が結核菌などの抗酸菌ではある種の病原性因子であること、また各種生物活性を示すことなどから、らい菌由来糖脂質の存在の有無を各種溶媒分画で調べたところ、結核菌の糖脂質 TDM, TMM と同等のバンドが得られた。また、質量分析でも結核菌の TDM および TMM と同様の物質であることを明らかにした。これら糖脂質はらい菌からの収量が著しく悪いことから、半合成の試みと他抗酸菌糖脂質かららい菌と類似の物を検索した。現在、類似 TDM を用いて各種活性を調べている。

[甲斐雅規、藤田由希子（BCG 中央研究所)、矢野郁也（BCG 中央研究所)、牧野正彦]

IV. 薬剤耐性らい菌に関する研究

1. らい菌 のダプソン耐性に関する研究

らい菌のダプソン耐性機構として、らい菌の葉酸合成酵素 DHPS をコードする遺伝子 *folP* の変異が見つかってきた。その変異はアミノ酸配列で 53 位と 55 位であったが、臨床分離株でしばしば発見される、それ以外の位置でのマイナー変異については耐性との相関は不明である。そこで、３次元分子構造解析ソフトウェア（MOE）を利用し、従来の耐性変異で示される耐性変異した酵素と基質である PABA あるいはダプソンとの結合シュミレーションを行い、他の可能性のある変異酵素モデルでの結合シュミレーションを行い、比較することで新しい耐性関連変異の同定を行っている。

[甲斐雅規、中田　登、牧野正彦]

2. *Mycobacterium smegmatis* の第 2 の *katG* 遺伝子の役割

katG 遺伝子は、結核菌などの病原性への関与が知られている。私達は *M. smegmatis* のゲノムに第 2 の *katG* 配列を見出したため、H_2O_2 抵抗性、およびイソニアジド感受性への寄与について既報の *katG* 遺伝子と比較したところ、両者には役割分担があることが明らかになった。抗酸菌では、らい菌の *katG* 配列が偽遺伝子であり、結核菌などは唯 1 つの *katG* 遺伝子を持つが、*M. smegmatis* は 2 種の役割の異なる *katG* 遺伝子を持つことで、より広い生存環境に適応していると考えられる。

[中田 登、甲斐雅規、宮本友司、鈴木幸一、牧野正彦]

V. 結核菌と非結核性抗酸菌に関する研究

1. 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

昨年度に続き、2 次抗結核薬である Capreomycin (CPM)、Cycloserine (CS)、Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)、Emviomycin (EVM) について ATP 法による薬剤感受性試験の有用性を検討した。ATCC 標準結核菌株を用いて再現性を確認後、臨床分離結核菌 55 株を用いて ATP 法の信頼性を調べた。ATP 法と寒天比率法との判定結果の一致率は、CPM 96.4%、CS 96.4%、TH89.1%、PAS 94.1%、VM 98.2% と高く、二次抗結核薬についても、ATP 法は、迅速で正確な結核菌の薬剤感受性試験であることを確認した。

[山崎利雄；山下研也、岡沢　豊（極東製薬工業）]

2. 飼いイヌの臓器由来の結核菌の RFLP 分析

昨年度、飼い主が結核患者であり、安楽死の処置がとられたイヌの肺、気管リンパ節、肝臓より結核菌を分離した。犬の各臓器由来の結核菌と飼い主から分離された結核菌の RFLP パターンは、完全に一致した。また、スポリゴタイピング法でも同一パターンを示し、北京ファミリーの結核菌であり、*M. bovis* や *M. bovis* BCG では無いことも確認された。イヌの結核症は非常に稀であり、RFLP 分析の結果や、犬の生活環境から、飼い主から感染したものであろうと推察された。

[山崎利雄、芳賀伸治、渡邊治雄、神山恒夫（獣医科学）、高橋光良（結核研究所）宇根有美（麻布獣医科大学]

3. ATP 測定法によるらい菌の薬剤感受性試験法の検討

昨年度までに、現行の *in vitro* の薬剤感受性試験法である放射性の Buddemeyer 法に代わる、非放射性のらい菌の薬剤感受性試験法の確立をするために、ATP 測定による検討を行ってきたが、今年度は、菌液均等化のために、超音波処理やボルテックスのらい菌に及ぼす影響と、供試菌の凍結の有無の影響等を検討し、より測定精度の高い方法に改良した。

[山崎利雄；儀同政一、松岡正典（生体防御部）]

4. 非結核性抗酸菌症迅速診断法の開発

らい菌遺伝子検出のため、RLEP 遺伝子領域を標的に loop-mediated amplification method（LAMP 法）の開発を行った。その結果、抗酸菌 27 菌種を非特異増幅せず、また、国内各地、韓国、インドネシア臨床分離株を増幅し、らい菌特異増幅であることを示した。また、検出感度は、ゲノム DNA５コピーであった。昨年に引き続き *dnaA* 遺伝子を標的に *M. kansasii, M. gastri* 鑑別可能な LAMP 法を検討した結果、両菌共に、500 コピーまで検出が可能になった。

[向井　徹、宮本友司、山崎利雄、松岡正典(生体防御部)、牧野正彦]

国際協力関係業務

I. ハンセン病血清診断及び DNA 診断に関するベトナム国との国際共同研究

ベトナム国、中部クイニョンのクイホーハンセン病病院において、DNA 診断のための技術供与として、らい菌感染を迅速・高感度に検査する PCR 法を指導した。各種精製 DNA を用い、４セットのらい菌検出用 PCR プライマーを作成しテストした結果、らい菌の RLEP 領域を増幅させる LP1-4 プライマーを用いた neted-PCR 法が感度、特異性ともに成績がよかった。現地ラボでの機器及び実験室条件で最適な条件を検討し、患者由来 slit skin smear サンプルからの検出を行い、よい成績を得た。また、血清診断技術として PGL-I を用いた ELISA 法の技術指導を行った。

[甲斐雅規、福富康夫、宮本友司、前田百美、向井　徹、中田　登、山崎利雄、鈴木幸一、牧野正彦]

発 表 業 績 一 覧

I.誌上発表

1. 欧文発表

1) Kai, M., Y. Maeda, S. Maeda, Y. Fukutomi, K. Kobayashi, Y. Kashiwabara, M. Makino, M. A. Abbasi, M. Z. Khan and P. A. Shah. Active surveillance of leprosy contacts in country with low prevalence rate. Intl. J. Lepr. Other Mycobact. Dis., 72:50-53, 2004.

2) Miyamoto, Y., T. Mukai, F. Takeshita, N. Nakata, Y. Maeda, M. Kai and M. Makino. Aggregation of mycobacteria caused by disruption of fibronectin-attachment protein-encoding gene. FEMS Microbiol. Letters, 236:227-234, 2004.

3) Kimura, H., Y. Maeda, F. Takeshita, L. E. Takaoka, M. Matsuoka and M. Makino. Upregulation of T-cell-stimulating activity of mycobacteria-infected macrophages. Scand. J. Immunol., 60:278-286, 2004.

4) Yamashita, Y., Y. Maeda, F. Takeshita P. J. Brennan and M. Makino. Role of the polypeptide region of 33 kDa mycobacterial lipoprotein for efficient IL-12 production. Cell. Immunol., 229:13-20, 2004.

5) Maeda, Y., T. Mukai, J. Spencer and M. Makino. Identification of Immunomodulating Agent from *Mycobacterium leprae*. Infect. Immun., 73:2744-2750, 2005.

6) Makino, M., Y. Maeda, and N. Ishii. Immunostimulatory activity of major membrane protein-II from *Mycobacterium leprae*. Cell. Immunol., 233:53-60, 2005.

7) Fukutomi, Y., M. Matsuoka, F. Minagawa, S. Toratani, G. McCormick, and J. Krahenbuhl.: Subversion of macrophage anti-microbial function bolsters intracellular survival of *M. leprae*. Int. J. Lepr. 72: 16-26, 2004.

8) Yoshida A., I. Hisatome, S. Taniguchi, N. Sasaki, Y. Yamamoto, J. Miake, H. Fukui, H. Shimizu, T. Okamura, T. Okuda, O. Igawa, E. D. Green, L. D. Kohn and K. Suzuki. Mechanism of iodide/chloride exchange by Pendrin. Endocrinology. 145: 4301-4308, 2004.

9) Takeshita F., K. Suzuki, S. Sasaki, N. Ishii, D. M. Klinman and K. J. Ishii. Transcriptional regulation of the human Toll-like receptor 9 gene. J Immunol, 173: 2552-2561, 2004.

10) Grassadonia A., N. Tinari, B. Fiorentino, K. Suzuki, M. Nakazato, M. De Tursi, C. Giuliani, G Napolitano, D. S. Singer, S. Iacobelli and L. D. Kohn. The 90k protein increases MHC class I expression and is regulated by hormones, g-interferon and double strand polynucleotides. Endocrinology. 145:4727-4736, 2004.

11) Takeshita F., I. Gursel, KJ. Ishii, K. Suzuki, M. Gursel and D. M. Klinman. Signal transduction pathways mediated by the interaction of CpG DNA with toll-like receptor 9. Semin. Immunol., 16: 17-22, 2004.

2. 和文発表

1) 牧野正彦. 結核・ハンセン病. 倉田毅編、ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御、同文書院出版、105-110、2005.

2) 牧野正彦. 生体防御機構. 牧野正直・長尾栄治・畑野研太郎編. 総説現代ハンセン病医学、東海大学出版会、in press、2005.

3) 福富康夫. ハンセン病におけるマクロファージの機能変化. Jpn. J. Leprosy、73:253-261、2004.

4) 甲斐雅規. らい菌のダプソン耐性変異. 日本ハンセン病学会雑誌、73:221-226、2004.

5) 牧野正彦、鈴木幸一、福富康夫、山下康子、前田百美、宮本友司、向井 徹、中田 登、甲斐雅規、山崎利雄、儀同政一、松岡正典. ハンセン病基礎医学研究のトピックス. Jpn. J. Leprosy、74:3-22、2005.

6) 山崎利雄. 結核患者であった飼い主から感染した犬の結核の一例報告. BAMS、16:6-9、2005.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Makino, M., M. Maeda, T. Mukai and N. Ishii. Development of a new vaccine candidate against mycobacteria. 4th The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Hyogo, Japan. 30 August-2 September, 2004.

2) Maeda, Y., M. Endoh, K. Terao and M. Makino. Study of the interaction of *M. leprae* with Schwann cells. 4th The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Hyogo, Japan.30 August-2 September, 2004.

3) Miyamoto, Y., T. Mukai, N. Nakata, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano and M. Makino. The genes involved in

glycosylation steps of mycobacterial glycopeptidolipids.. 4th The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Hyogo, Japan.30 August-2 September, 2004.

4) Makino, M., Y. Maeda and T. Mukai. Identification of anti-mycobacterial host defense-associated antigen and assessment of its immunological significance. Fortieth Anniversary US-Japan Cooperative Medical Science Program. 39th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kyoto, December 7-10, 2004.

5) Mukai, T., Y. Miyamoto, M. Matsuoka, T. Yamazaki and M. Makino. Loop-mediated isothermal amplication of the *dnaA* sequence for rapid detection of *Mycobacterium leprae*. Fortieth Anniversary US-Japan Cooperative Medical Science Program. 39th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kyoto, December 7-10, 2004.

6) Fukutomi, Y., F. Takeshita, M. Matsuoka and M. Makino. Regulation by clofazimine of cytokine production in *M. leprae*-infected macrophages. Fortieth Anniversary US-Japan Cooperative Medical Science Program. 39th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kyoto, December 7-10, 2004.

7) Aye, K-S., Y-T-N. Oo, K. Kyaw, M. Matsuoka, M. Kai. Molecular detection of primary dapsone resistant *Mycobacterium leprae* in Myanmar. Forth Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto, Japan. December 7-10, 2004.

2. 国内学会

1) 中田　登、松岡正典、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦. らい菌ゲノム DNA の株間における多様性の検討. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

2) 稲垣勝也、前田百美、牧野正彦. らい菌由来抗原 MMP-II の分泌型および脂質付加型発現抗酸菌株の作製. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

3) 前田百美、牧野正彦、遠藤真澄、寺尾恵治. サルシュワン細胞のらい菌感受性の検討. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

4) 宮本友司、向井　徹、武下文彦、中田　登、甲斐雅規、牧野正彦. 抗酸菌糖脂質 Glycopeptidolipids (GPLs)糖酵素遺伝子の破壊株作製とその機能解析. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

5) 牧野正彦、前田百美、向井　徹、武下文彦、山下康子、稲垣勝也、石井則久. らい菌由来 Major Membrane Protein-II による自然免疫および獲得免疫の活性化.第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

6) 山下康子、前田百美、武下文彦、牧野正彦. らい菌由来リポ蛋白 LpK の IL-12 産生活性中心の解析. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

7) 向井　徹、宮本友司、前田百美、牧野正彦. DC-SIGN を介した抗酸菌感染の解析. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

8) 福富康夫、甲斐雅規、中田　登、牧野正彦. *M. smegmatis katG* 変異株の機能. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

9) 甲斐雅規、山崎利雄、藤田由希子、矢野郁也、牧野正彦. らい菌由来糖脂質抗原の分離とその免疫原性の解析. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

10)前田伸司、中田 登、中　崇、小林和夫. 抗酸菌におけるフォスファチジルセリン合成酵素欠損による表現型の変化.第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

11)山崎利雄、佐藤直樹、 山下研也、岡沢　豊、三輪昭成、田村俊秀. 結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法‐2 次抗結核についての検討. 第 74 回実験結核研究会、名古屋、2004 年 4 月.

12)山崎利雄、芳賀伸治、佐藤直樹、山下研也、岡沢　豊、三輪昭成、田村俊秀. 結核菌の ATP 測定による多剤併用薬剤感受性試験法の検討. 第 79 回日本結核病学会総会、名古屋、2004 年 4 月.

13)赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治. 結核菌感染ヒトマクロファージにおける NRAMP1 の発現と MAP カイネースの活性化について. 第 79 回日本結核病学会総会、名古屋、2004 年 4 月.

14)向井　徹、宮本友司、武下文彦、牧野正彦. LAMP 法によるらい菌遺伝子の検出. 第 77 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、大宮、2004 年 5 月.

15)中田　登、松岡正典、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦. らい菌ゲノム DNA の多様性についての検討. 第 77 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、大宮、2004 年 5 月.

16)福富康夫、武下文彦、松岡正典、牧野正彦. クロファジミンによるマクロファージのサイトカイン産生調節.

第 77 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、大宮、2004 年 5 月.

17)福富康夫. らい菌によるマクロファージの機能の変化(ワークショップマクロファージの機能と肉芽腫性炎)、第 77 回日本ハンセン病学会総会、大宮、2004 年 5 月.

18)甲斐雅規. らい菌のダプソン耐性変異. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、大宮、2004 年 5 月.

19)山崎利雄、松岡正典、儀同政一生物発光法を用いたらい菌の薬剤感受性試験法. 第 77 回日本ハンセン病学会、大宮、2004 年 5 月.

20)山崎利雄、三輪昭成：結核菌の ATP 測定による 2 次抗結核薬を用いた迅速薬剤感受性試験法の検討. 第 31 回 結核・非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2004 年 6 月.

21)山崎利雄、佐藤直樹、山下研也、岡沢　豊、三輪昭成：結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法－2 次抗結核についての検討. 第 51 回日本臨床検査医学会総会、東京、2004 年 9 月.

22)内藤晴道、横田和也、尾崎佐記、柑本敦子、宇根有美、芳賀伸治、山崎利雄、鹿住裕子、高橋光良. 人型結核菌による犬の結核症の 1 例. 第 138 回日本獣医学会学術集会、札幌、2004 年 9 月.

23)宇根有美、金本英之、内藤晴道、芳賀伸治、山崎利雄、高橋光良. 犬の人型結核症の 1 例. 第 138 回日本獣医学会学術集会、札幌、2004 年 9 月.

24)鈴木幸一、武下文彦、中田　登、松岡正典、牧野正彦. 抗酸菌感染マクロファージにおける菌の細菌内寄生と排除に関わる分子機構. 第 45 回日本組織細胞化学学術集会、鹿児島、2004 年 10 月.

25)山崎利雄、芳賀伸治、鹿住祐子、高橋光良. 人犬感染が疑われた結核症の一例. 第 146 回日本結核病学会関東支部会、千葉、2004 年 11 月.

26)山崎和子、鈴木幸一、山田恵美子、金地嘉夫、武下文彦、瀬谷司、加藤佳幸、佐藤幹二、高野加寿恵、小原孝男. ヒト甲状腺細胞には toll-like receptor 3 が発現しウイルス由来二本鎖 RNA によりホルモン合成が抑制される. 第 47 回日本甲状腺学会、前橋、2004 年 11 月.

27)牧野正彦、前田百美、向井　徹、山下康子、石井則久. 自然免疫および獲得免疫の活性化能を有する新たな抗酸菌抗原の同定. 第 34 回日本免疫学会総会、札幌、2004 年 12 月.

28)Takeshita F., K. Suzuki, S. Sasaki, N. Ishii, DM. Klinman and KJ. Ishii. Transcriptional regulation of the human Toll-like receptor 9 gene. 第 34 回日本免疫学会総会ワークショップ、札幌、2004 年 12 月.

29)福富康夫、牧野正彦. ヒトマクロファージのらい菌貪食とサイトカイン産生. 第 34 回日本免疫学会総会、札幌、2004 年 12 月.

30)山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住祐子、高橋光良、宇根有実、内藤晴道. 飼い主が感染源と思われた犬の結核例. 第 32 回結核・非定型抗酸菌治療研究会、東京、2004 年 12 月.

31)赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治. ヒトマクロファージの結核菌の増殖抑制機構. 平成 16 年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、京都、2005 年 3 月

32)山本三郎、芳賀伸治、山崎利雄、山崎剛、関昌明、本田育郎、池田のり子. RD16BCG の DTH 誘導能および抗結核活性. 平成 16 年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、京都、2005 年 3 月.

24.ハンセン病研究センター

(ii)生体防御部

部長　石井則久

概　要

ハンセン病はらい菌による慢性感染症で、皮膚と末梢神経が主に侵される疾患である。世界の新規患者数はほぼピークを越え、減少に向かっている。2002 年の世界の新規患者数は約 62 万人であったが、2003 年では約 51 万人、2004 年では約 41 万人となってきている。患者数は減少してきたが、ハンセン病の病態解明は今だ研究途上であり、研究の発展が望まれている。

ハンセン病の研究推進には実験動物の開発は重要であり、モデル動物として高血圧ヌードラットを開発し、病理組織学的観察を行った所、免疫・アレルギー性炎症疾患類似の感染像を示し、さらなる検討を行う予定である。

らい菌の多型性のひとつである TTC 繰返し数の多型性を比較し、同一家族内の複数の患者間で異なる遺伝子型のらい菌による感染が存在し、感染様式は単純でないことが考えられ、住居内濃厚接触が唯一の感染様式ではなく、患者以外の感染源があることが推察され、今後も感染源の同定、感染経路について検討が必要である。

国内でのハンセン病患者の多くは戦後のプロミンあるいはダプソン（DDS）の単剤治療、またその後リファンピシンなどの治療が行われた。そのような元患者から少数ながら再発や再燃がみられる。これらの患者の薬剤耐性の検査を進めている。OFLX 耐性らい菌に対する同じフルオロキノロンの WQ-3402、STFX、MFLX、SPFX の抗らい菌活性を検討すると、交差耐性があるものの高濃度で優れた抗らい菌活性を認め、治療薬選択に幅が出ることが示唆された。

現在の日本のハンセン病で解決すべき問題の一つは後遺症である。この後遺症は末梢神経のシュワン細胞へのらい菌の浸潤によることが判明している。らい菌感染シュワン細胞が発現する神経障害に係わる因子の探索を、プロテオーム解析にて行った。シュワン細胞由来生理活性物質の発現調節機構の動態を解析することで、後遺症を含めたハンセン病性末梢神経炎の新しい治療や予防戦略を構築することが期待できる。

ハンセン病に対するワクチン開発にはいくつかの問題点がある。研究開発費の問題、ワクチン接種によるらい反応の誘発の問題、接種方法（注射か、複数回か、など）、MDT との費用対効果の問題、等である。そのため、単にハンセン病のみでなく多くの抗酸菌や他の細胞内寄生病原体に応用出来るワクチンを開発することも考慮すべきである。今回は、外来遺伝子を強力に発現する過給式転写増幅システムの作成、評価を行い、遺伝子発現システムを解析している。

厚生行政の一環として日本のハンセン病の患者動向を明らかにすることも重要である。ハンセン病の行政、医療などの向上、偏見の解消に向けての基礎資料作成によって日本のハンセン病、しいては WHO が主導している世界のハンセン病の制圧に貢献できる。日本における新規患者は日本人患者の減少（2004 年は４人）、外国人患者の減少（2004 年は８人）と終焉になっている。また JICA のハンセン病制圧計画をサポートするため、ミャンマー連邦における過去のハンセン病政策を歴史的に検証した。

今年度も引き続き、ブルーリ潰瘍の研究を行った。らい菌類似の *M. ulcerans* による皮膚感染症で、WHO も撲滅に乗り出している。ブルーリ潰瘍の研究はハンセン病の病態解明にも大いに役立つものと期待されている。今年度も薬剤感受性の検討が行われ、リファンピシン系のリファラジルが有効であることを *in vitro* 及び *in vivo* の系で証明し、更に病理組織学的に末梢神経障害像を見出し、現在詳細を解析中である。

病原性のある抗酸菌の分離･同定を迅速に行うための、培養、生化学的性状検査、遺伝子シークエンス等の方法

を確立し、７種類の菌の分離・同定に成功した。

以上、生体防御部は主に生体側の立場からハンセン病及び抗酸菌症制圧のための基礎的及び臨床的研究を遂行している。

業績

調査・研究

I. らい菌の動態に関する研究

１．らい菌感染部の初期病理像と防御細胞

ハンセン病に伴う肉芽腫を形成するSHR/NCrj-*rnu*とその対照ラットの後肢足底部にらい菌を感染後１時間目から３日目までの感染早期に接種局所に誘導されてくる細胞について病理組織学的観察を行った。らい菌感染 1 時間目の感染局所の HE 染色では接種足全域に夥しい肥満細胞の浸潤とらい菌存在局部では菌を取り囲んで無数の好中球浸潤像が観察された。Fite-Faraco 染色からは 8 時間目をピークに好中球によるらい菌の貪食像が観察された。らい菌感染部の初期像は、肥満細胞、らい菌を取り囲んだ好中球の浸潤に始まり、好酸球、マクロファージ、リンパ球と移行していく浸潤像は免疫・アレルギー性炎症疾患をおもわせる感染像であった。

[与儀ヤス子]

II. 抗ハンセン病薬に関する研究

１．OFLX 耐性らい菌に対するフルオロキノロン系抗菌薬の抗らい菌活性

OFLX 耐性らい菌(Zensho-4 株)に対するフルオロキノロン(8μg/ml, 2μg/ml)の抗らい菌活性を Buddemeyer 法を用いて検討した。薬剤濃度 8μg/ml, 2μg/ml での抗らい菌活性(inhibition %)は,WQ-3402(76.8%, 42.4%)＞ STFX(65.5, 38.3) MFLX(59.2, 41.0) ＞ SPFX(39.0, 19.3) ＞ GFLX(34.1, 18.9) ＞ LVFX(20.2, 15.1) ＞ OFLX(15.2, 14.2)の順で、WQ-3402 が最も強く、STFX と MFLX に強い、SPFX に優れた抗らい菌活性を認めたが、LVFX と OFLX の抗らい菌活性は著しく低下した。

[儀同政一]

III. ハンセン病の神経障害に関する研究

１．ハンセン病による末梢神経炎の発症および制御機構の解析

ハンセン病性末梢神経炎発症機構解明の一環として、らい菌感染シュワン細胞が発現する神経障害に係わる因子の探索を、プロテオーム解析にて行った。2D-DIGE 法によりらい菌感染に伴い発現量の増減が見られるタンパク質集団を確認できたが、さらに詳細な解析を目的にシュワン細胞より調製したタンパク質を電荷の違い、細胞内局在の違いによりプレ分画した後、2D-DIGE 法により解析した。発現の差異が認められたタンパク質を MS/MS 解析等で同定し、神経障害との関与を考察することを進めている。

[遠藤真澄]

IV. ハンセン病の免疫応答に関する研究

１．DNA ワクチン用ベクターの開発

外来遺伝子を強力に発現する過給式転写増幅システムの作成、評価を行った。発現させたい遺伝子を制御するサイトメガロウィルスプロモータ内に転写因子結合モチーフのタンデムリピートを導入し、対応する転写因子を直列に連結した発現カセットから供給して転写フィードバックループを形成させたところ遺伝子発現の増幅が示された。現在はこの遺伝子発現システムをワクチン・遺伝子治療に応用するための至適化に取り組んでいる。

［佐々木　津、石井則久、武下文彦（横浜市大）、島田　勝（横浜市大）、奥田研爾（横浜市大）］

V. ハンセン病の疫学に関する研究

１．らい菌の遺伝子型別とハンセン病の感染様式解明への応用

TTC 繰返し数の多型性比較によりらい菌の型別が可能となり、疫学解析への応用が図られたが、単一の多型性の比較では解析能が不十分であることから他の 44 の short tandem repeat(STR)について型別における有用性を検討した。9 個の STR が安定性と多型性の範囲から型別に適していた。家族内に複数感染例から得たらい菌の比較は先に発症した患者と、後に発症した患者の間での異なる遺伝子型のらい菌による感染を示した。TTC 繰り返し配列の比較によっても示されたように、住居内濃厚接触が唯一の感染様式ではなく、患者以外の感染源があることが推察された。

[松岡正典、張　良芬]

２．ハンセン病発症状況の把握に関する研究

日本におけるハンセン病の新患数の把握と、統計学的解析を行った。新患について学会発表や論文等から検索を行い解析した。ハンセン病の新患は、最近 10 年間(1995-2004 年)の平均では年間約 14.8 名で、日本人は 5.6 名で、その 71.4%は 60 歳以上であり、沖縄県出身者は 57.1%を占めていた。一方在日外国人は 9.2 名で、ブラジル人は 51.1%を占め、男性の若者が多かった。なお、平成 16 年（2004 年）については、日本人 4 名（沖縄県出身者 2 名)、在日外国人 8 名（うちブラジル人 5 名）であった。それぞれの平均年齢は 65.3 歳、37.4 歳であった。

[石井則久]

３．開発途上国におけるハンセン病対策の適正技術の開発に関する文献的研究

ミャンマー連邦におけるハンセン病対策の将来的戦略および適性技術の未来像を文献的に検討した。WHO のハンセン病制圧プログラムや笹川記念保健協力財団などの指導・協力の下、ハンセン病発生率の劇的低下を成功させると共に、ハンセン病医療プログラムの一般医療政策への統合が順調に進行していた。また国民へのハンセン病の啓発と共に、後遺症対策が今後の課題として残っており、日本としては JICA 等の協力が考えられる。

[石井則久、森　修一（福島医大）]

VI. 抗酸菌感染症に関する研究

１．*Mycobacterium ulcerans*　感染症に関する研究

抗酸菌感染症のひとつであるブルーリ潰瘍の有効な化学療法は確立されていない。我々は、ブルーリ潰瘍に有効な治療薬・ワクチン等の開発を目的として、*M. ulcerans*　のマウス実験感染モデル系を確立した。これまでに同モデル系を用いて rifalazil の有効性を明らかにした。また同モデル系において、病理組織学的に末梢神経傷害像を見出し、現在詳細を解析中である。

［中永和枝、石井則久、後藤正道（鹿児島大)、齋藤　肇(広島県環境保健協会)］

２．病原性抗酸菌の分離･同定に関する研究

培養不能の、あるいは同定不能の病原性抗酸菌について、1. 各種培養条件による培養、2. 培養菌の生化学的性状、3. 16SrRNA 遺伝子シークエンス等により分離・同定を試みた。これまでに、日本では例数の少ない *M. lentiflavum, M. intermedium,　M. haemophilum,　M. celatum, M. shimoidei,　M. malmoense*, および *M. triplex*,の分離・同定に成功した。今後は治療法の改善を目的として、薬剤感受性の検討や、動物接種実験もあわせて行う予定である。

［中永和枝、石井則久、齋藤　肇(広島県環境保健協会)］

レファレンス業務、研修業務はハンセン病研究センターの項目に記載

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

１）Inagaki K., Suzuki T., Shimizu H., Ishii N., Umezawa Y., Tada J., Kikuchi N., Takata M., Takamori K., Kishibe M., Tanaka M., Miyamura Y., Ito S. and Tomita Y.: Oculocutaneous albinism type 4 is one of the most common types of albinism in Japan. Am. J. Hum. Genet. 74: 466-471, 2004.

2) Sasaki S., Takeshita F., Oikawa T., Kojima Y., Xin K-Q., Okuda K. and Ishii N.: Improvement of DNA vaccine immunogenicity by a dual antigen expression system. Bioch. Biophy. Res. Com. 315: 38-43, 2004.

3) Takeshita F., Suzuki K., Sasaki S., Ishii N., Klinman D.M. and Ishii K.J.: Transcriptional regulation of the human TLR9 gene. J. Immunol. 173: 2552-2561, 2004.

4) Matsuoka M., Zhang L., Budiawan T., Saeki K. and Izumi S.: Genotyping of *Mycobacterium leprae* on the basis of polymorphism of TTC repeats for analysis of leprosy transmission. J. Clin. Microbio. 42: 741-745, 2004.

5) Fukutomi Y., Matsuoka M., Minagawa F., Toratani S., McCormic G. and Krahenbuhl J.: IL-10 treatment of

macrophages bolsters intracellular survival of *Mycobacterium leprae*. Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis. 72: 16-25, 2004.

6) Kimura H., Maeda Y., Takeshita F., Takaoka L. E., Matsuoka M., and Makino M.: Upregulation of T-cell-stimulating activity of Mycobacteria-infected macrophages. Scand. J. Immunol. 60: 278-286, 2004.

7) Zhang L., Namisato M. and Matsuoka M.: A mutation at codon 516 in the *rpoB* gene of *Mycobacterium leprae* confers resistance to rifampin. Int. J. Lepr. 72:468-472, 2004.

8) Ozarmagan Ｇ., Sutlas M., Zhang L. and Matsuoka M.: Detection of dapsone resistant *Mycobacterium leprae* by DNA sequence analysis from a Turkish relapsed leprosy patient. Med. Bull. Istanbul Med. Facul. 67: 153-156, 2004.

２．和文発表

1)石井則久、森　修一、中嶋　弘：横浜市医師会員並びに大学医学部付属病院診療科におけるハンセン病患者の診療に関するアンケート結果. 日本ハンセン病学会雑誌 73:207-215, 2004.

2)松岡正典、張　良芬：ハンセン病の分子疫学　日本ハンセン病学会雑誌 73:7－14, 2004

3)中永和枝、斎藤　肇、石井則久、後藤正道：*Mycobacterium ulcerans* 感染マウスに対する rifalazil および rifampicin の発症阻止効果の比較. 結核 79: 333-339, 2004.

4)斎藤　肇、戸田憲一、松本いづみ、松尾清光、中永和枝、石井則久：　免疫不全患者の皮膚病巣から分離された *Mycobacterium haemophilum* の細菌学的特性. 日本感染症学会雑誌 78: 389-397, 2004.

5)石井則久：疥癬. 臨床と薬物治療 23: 113-115, 2004.

6)石井則久：皮膚疾患からエイズを疑う. 血液フロンテイア 14: 417-424, 2004.

7)石井則久：一般医療の中のハンセン病. 多磨 85: 2-7, 2004.

8)石井則久：ハンセン病. 化学療法の領域 20: 870-876, 2004.

9)石井則久：疥癬の集団発生に対する実践的治療と問題点. 日本皮膚科学会雑誌 114: 2239-2242, 2004.

10)石井則久、小林睦生：疥癬.感染症の事典（国立感染症研究所学友会編集）, p42-43,,朝倉書店（東京）, 2004.

11)石井則久：免疫機能低下患者における性感染症の混合感染. 第 10 回ヘルペス感染症フォーラム(ヘルペス感染症研究会編集), p65-66, マッキャン・ヘルスケア（大阪）, 2004.

12)石井則久：抗酸菌感染症. NEW 皮膚科学（飯塚　一、大塚藤男、宮地良樹編集）, p365-370, 南江堂（東京）, 2004.

13)石井則久：ハンセン病. 家庭医学大全科（高久史麿、猿田享男, 北村惣一郎, 福井次矢監修）,p2689-2690,法研（東京）, 2004.

14)石井則久：Hansen 病. 皮膚診断の技法（岩月啓氏、宮地良樹編集）, p148-149, 診断と治療社（東京）, 2004.

15)石井則久：皮膚の痛み、知覚異常. 今日の治療と看護（水島　裕、黒川　清総編集）,p27-28,南江堂（東京）, 2004.

16)石井則久：昔、梅毒と言われて治療しましたが、もう大丈夫でしょうか？患者さんから浴びせられる皮膚疾患 100 の質問（宮地良樹編集）, p184-185, メデイカルレビュー社（東京）, 2004.

17)石井則久：梅毒検査は陰性化しないのでしょうか？患者さんから浴びせられる皮膚疾患 100 の質問（宮地良樹編集）, p186-187, メデイカルレビュー社（東京）, 2004.

18)石井則久、馬場直子：小児の皮膚感染症―細菌性疾患. 最新皮膚科学大系特別巻 1（玉置邦彦総編集）, p133-137, 中山書店（東京）, 2004.

19)石井則久、林　正幸：疥癬―老人福祉施設における院内疥癬対策を中心に.最新皮膚科学大系特別巻 1（玉置邦彦総編集）, p322-325, 中山書店（東京）, 2004.

20)松岡正典: ハンセン病. 感染症の事典　p201－203 朝倉書店（東京), 2004.

21)儀同政一・並里まさ子・熊野公子・後藤正道・野上玲子・尾崎元昭：ニューキノロン使用指針. 日本ハンセン病学会雑誌 73,65-67,2004.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Matsuoka M.: Genotyping of *Mycobacterium leprae* and its application for analysis of leprosy transmission. Symposium of Leprosy. Guadarajara, Mexico, January 2004.

2) Yogi Y.: *Mycobacterium leprae* multiplied well in IL-10

intense host. 7th International Symposium on Molecular Basis of Predictive Oncology Intervention Strategies. Nice, France, February 2004.

3) Goto M, Saito H, Nakanaga K, Ishii N, Yonezawa S.: Nerve damage by bacteria causing Buruli ulcer-ultrastructure of mouse inoculated with *Mycobacterium ulcerans*. 40th Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto, Japan, December 2004.

4） Saito H, Nakanaga K, Ishii N: In vivo activities of rifalazil and rifampicin against *Mycobacterium ulcerans* infection induced in mice. 25th Annual Meeting of the Europian Society for Mycobacteriology, Sardinial, Italy, June 2004.

5) Takeshita F., Xin K-Q., Okuda K., Sasaki S.: Amplification of transgene expression by a transcriptional booster system. The 10th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Tokyo, August 2004.

6) Xin K-Q., Someya K., Takeshita F., Sasaki S., Mizuguchi H., Hayakawa T., Hamajima K., Honda M., Okuda K.: Prime-boost vaccination with plasmid DNA and a chimeric adenovirus type 5 vector with type 35 fiber induces persistent protective immunity against HIV in mice. The 10th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Tokyo, August 2004.

7) Xin K-O., Urabe M., Takeshita F., Sasaki S., Mizukami H., Hamajima K., Ozawa K., Okuda K.: Comparison of HIV-specific immunogenicity of adeno-associated virus type1-5 vector in mice. The 10th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Tokyo, August 2004.

8) Matsuoka M.: Chemotherapy and drug resistance in leprosy. Symposium on Drug Resistance. 40th Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto, Japan, December 2004.

9) Khin Saw Aye, Yin Thet Nu Oo, Kyaw Kyaw, Matsuoka M., Kai M.: Molecular detection of primary dapsone resistant *Mycobacterium leprae* in Myanmar. 40th Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto, Japan, December 2004.

10) Mukai T., Miyamoto Y., Matsuoka M., Yamazaki T., Makino M.: Loop-mediated isothermal amplification of the dnaA sequence for rapid detection of *Mycobacterium leprae*. 40th Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto, Japan, December 2004.

11) Fukutomi Y., Takeshita F., Matsuoka M. Makino M.: Regulation by clofazimine of cytokine production in *M. leprae*-infected macrophages. 40th Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto, Japan, December 2004.

12) Endoh M.: Studies of the peripheral nerve regeneration in leprosy patients. 4th Asia Pasific Symposium on Neural Regeneration, Osaka, December 2004.

２．国内学会

1）斎藤　肇、中永和枝、石井則久：実験的 Buruli 潰瘍に対する rifalazil と rifampicin の間欠的治療効果の比較. 第 54 回日本結核病学会中国四国支部学会、岡山、2004 年 2 月.

2）松岡正典：らい菌の環境中での存在と感染源としての可能性. 第 6 回 VNC 研究会、東京、2004 年 2 月.

3）後藤正道、中永和枝、石井則久、斎藤　肇： *M. ulcerans* 接種マウスにおける末梢神経病変について. 日米医学協力研究会結核･ハンセン病専門部会国内会議、京都、2004 年 3 月.

4）長谷川淳一、井上　香、生垣英之、林　宏一、松本和彦、斎田俊明、石井則久：らい反応を生じ、治療に難渋した LL 型ハンセン病の１例. 第 103 回日本皮膚科学会総会、 京都、2004 年 4 月.

5）石井則久：疥癬の集団発生に対する実践的治療と問題点. 第 103 回日本皮膚科学会総会(教育講演)、京都、2004 年 4 月.

6）中田　登、松岡正典、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦：らい菌ゲノムの株間における多様性の検討. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

7）中永和枝、斎藤　肇、石井則久：実験的マウス Buruli 潰瘍に対する rifalazil と rifampicin の間欠的投与効果の比較. 第 78 回日本感染症学会総会、東京、2004 年 4 月.

8）斎藤　肇、中永和枝、石井則久：実験的マウス Buruli 潰瘍に対する rifalazil と rifampicin の間欠的治療効果の比較. 第 79 回日本結核病学会総会、名古屋、2004 年 4

月.

9) 佐藤則子、佐藤かすみ、小関正倫、青崎　登、石井則久：ハンセン病の再発疹が疑われた脛骨前粘液水腫の 1 例. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

10) 佐藤則子、佐藤かすみ、小関正倫、青崎　登、石井則久、岩田　誠：ハンセン病ニューロパチーの 1 例. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

11) 石井則久、小原安喜子、熊野公子、杉田泰之、並里まさ子、野上玲子、細川　篤、牧野正直：2003 年のハンセン病新規患者発生状況. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

12) 松岡正典、張　良芬、佐伯圭介、和泉眞蔵、Teky Budiawan：らい菌の遺伝子多型に基づく感染様式の解析. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

13) Zhang L., Matsuoka M., Teky Budiawan, Edualdo C., Dela Cruz, Indropo Agusni, Ratna Wahyuni ： Prevalence of drug resistant leprosy case in Southeast Asian countries. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

14) 儀同政一、松岡正典：OFLX 耐性らい菌に対する SPFX の抗らい菌活性. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

15) 山崎利雄、松岡正典、儀同政一：生物発光法を用いたらい菌の薬剤感受性試験法. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

16) 藤村響男、佐藤直哉、与儀ヤス子、狩野真帆、宮田聡子、増澤真実子、松岡正典、増澤幹男、勝岡憲生：mce1 蛋白によるらい菌の上皮細胞への侵入. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

17) 儀同政一：MFLX と TFLX の抗らい菌活性. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

18) 中永和枝、石井則久、後藤正道、斎藤　肇：Rifalazil(KRM-1648)の *Mycobacterium ulcerans* に対する *in vivo* 抗菌活性（その 3）：実験的マウス Buruli 潰瘍に対する間欠投与効果. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、さいたま、2004 年 5 月.

19) 佐々木　津、武下文彦：転写因子過給装置を備えたターボプロモーターシステムによる外来遺伝子発現の増幅. 遺伝子・デリバリー研究会　第 4 回シンポジウム、京都、2004 年 5 月.

20) 後藤正道、中永和枝、石井則久、斎藤　肇：Buruli 潰瘍をひきおこす *Mycobacterium ulcerans* を接種したマウスでは、末梢神経に抗酸菌が侵入する. 第 45 回日本神経病理学会総会、前橋、2004 年 5 月.

21) 斎藤　肇、中永和枝、岩本朋忠：我が国において未だ記載をみない、あるいは珍しい非結核性抗酸菌症原因菌. 第 31 回結核･非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2004 年 6 月.

22) 儀同政一：新しい抗菌薬の抗らい菌活性. 第 52 回日本化学療法学会総会、宜野湾、2004 年 6 月.

23) 與儀ヤス子、柳田美子：インドネシア（スラヴェシ島）におけるハンセン病患者と家族の栄養状態-2 報-. 第 13 回日本健康教育学会、栃木、2004 年 6 月.

24) 北村達彦、新田悠紀子、石井則久：ハンセン病の経過中、境界反応を呈した 1 例. 日本皮膚科学会東海地方会, 名古屋, 2004 年 6 月.

25) 谷合啓明、天児和暢、松岡正典、吉田眞一：Acanthamoeba culbertsoni は *Mycobacterium leprae* の生存をサポートする. 第 57 回日本細菌学会九州支部総会、福岡、2004 年 9 月.

26) 並里まさ子、柏原嘉子、松岡正典、藤原 剛、小川秀興、Khin Nwe Oo、Kyaw Kyaw：ミヤンマーの農村におけるハンセン病の疫学調査. 第 45 回日本熱帯医学会総会、東京、2004 年 10 月.

27) 鈴木幸一、武下文彦、中田　登、松岡正典、牧野正彦：抗酸菌感染マクロファージにおける菌の細胞内寄生と排除に関わる分子機構. 第 45 回日本組織細胞化学会総会・学術集会、鹿児島、2004 年 10 月.

28) 與儀ヤス子：らい菌感染の初期防御に関与する細胞. 第 45 回日本組織細胞化学会総会・学術集会、鹿児島、2004 年 10 月.

29) 山本芙希、藤村響男、佐藤直哉、與儀ヤス子、狩野真帆、増澤幹男、勝岡憲生：上皮系細胞への侵入に関わるらい菌 mce1A.　第 34 回日本免疫学会総会･学術集会、札幌、2004 年 12 月.

30) 岸不盡彌、守山千夏、伊藤昭英、伊藤健一郎、藤野道宏、秋山也寸史、斎藤　肇、岩本朋忠、中永和枝：間質性肺炎による呼吸不全で死亡した肺 *Mycobacterium*

triplex 症の一例. 第 32 回結核･非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2004 年 12 月.