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 17 年 4 月 1 日付で田島茂第二室研究員が主任研究官に昇任した。

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（CMV）、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、本年度はラッサ熱の検査法を開発した。一方、痘そうワクチンの有効性をサルにおいてサル痘をモデルとして示すとともに、痘そうワクチンの品質管理に関する研究を推進させた。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、ウエストナイルワクチン開発に関する基盤的研究を推進させた。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ミクログリアのケモカイン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、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、乾燥臍帯を用いた先天性 CMV 感染症の疫学的研究を行った。EBV の潜伏感染に関する研究においては、EBNA-LP と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急性 Q 熱発症例の解析を進めた。また、国内ダニ類におけるリケッチア保有状況を調査した。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調査に応用した。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、JAXA 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．SARS コロナウイルス(SARS-CoV)に関する研究

1. SARS-CoV の持続感染に関する研究

（1）SARS-CoV の持続感染に関する研究

SARS-CoV を Vero E6 細胞に感染させると 48 時間以内にほとんどの細胞がアポトーシスにより死滅するが、数%生存する細胞を観察した。この細胞は間接蛍光抗体法によりウイルス蛋白質を発現していた。さらにウイルス粒子を産生しながら、細胞増殖することも明らかとなった。SARS-CoV が感染した細胞で活性化されることがわかっているシグナル伝達経路のうち、持続感染細胞の成立には Akt と JNK の活性化が必要であることがわかった。さらに、Vero E6 細胞は、持続感染細胞を成立させ安い細胞と、させ難い細胞で構成されており、細胞の

蛋白質（抗アポトーシスなど）が関与している可能性が示唆された。［水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川　茂］

（2）VSV シュードタイプを用いた SARS-CoV に対する中和抗体測定法の開発

SARS-CoV のスパイク糖蛋白質(S 蛋白質)を被った組換え水泡性口内炎ウイルスシュードタイプ(VSV-SARS-St19)を作製した。このシュードタイプウイルスは VSV 膜タンパク質をコードする G 遺伝子を欠いていて、膜タンパク質が供給されない限り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。SARS-CoV 感染が確認されたヒト血清を用いて、VSV-SARS-St19 を用いた中和試験を行い、SARS-CoV を用いた中和抗体測定法と比較した。その結果、VSV-SARS-St19 を用いた中和試験は感度、特異性ともに優れていた。本方法は短時間で安全に中和抗体価の判定ができることから、SARS の実験室診断に有用であると考えられた。今後、多検体を同時に処理するため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-CoV スパイクタンパク質と ACE2 の相互作用の VSV シュードタイプを用いた解析

SARS-CoV のスパイク糖蛋白質(S 蛋白質)を被った組換え水泡性口内炎ウイルスシュードタイプ(VSV-SARS-St19)を用いて、SARS-CoV のレセプターである ACE2 に結合する種々のオリゴペプチドによる SARS-CoV-S を介した感染の阻害効果を検討した。その結果、ACE2 の基質であるアンギオテンシン II は VSV-SARS シュードタイプの感染を阻害しなかった。しかし、ACE2 に結合して、そのペプチダーゼ活性を阻害するオリゴペプチド DX600 はその感染を阻害したことから、このオリゴペプチドは SARS-CoV の感染阻止に有効である可能性が示唆された。一方、ACE2 を被った VSV シュードタイプ(VSV-ACE2 シュードタイプ)を作製し、これを用いて ACE2 と SARS-CoV-S との結合を介した SARS-CoV 感染細胞へのターゲッティングが可能かどうか検討した。その結果、VSV-ACE2 シュードタイプは SARS-CoV-S を発現する細胞に特異的に感染した。VSV 由来のタンパク質は強い細胞毒性を発揮するため、VSV-ACE2 シュードタイプの感染した細胞は速やかに死滅する。このことから VSV-ACE2 シュードタイプを用いた SARS-CoV 感染細胞へのターゲッティングにより、SARS-CoV 感染細胞を選択的に死滅させることが可能であると考えられた。［福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川　茂］

（4）ラット ACE2 発現細胞で継代した SARS-CoV の感染性の解析

SARS-CoV を、ラット型レセプター（ラット ACE2）を発現する哺乳培養細胞で継代培養し、ラットに馴化した SARS-CoV を分離することを目的として、ラット ACE2 発現細胞における SARS-CoV 増殖効率の解析を行った。ラット腎より RT-PCR にて得られたラット ACE2 cDNA を発現ベクターpcDNA3.1 にクローニングした。また、ラット ACE2 の一部のアミノ酸配列をヒト ACE2 のアミノ酸配列に置き換えたバリアント型ラット ACE2 を作製し、同様にクローニングした。CHO 細胞にこれらの発現プラスミドを導入後、SARS-CoV を感染させたところ、バリアント型ラット ACE2 発現細胞ではウイルスは効率よく増殖したのに対し、ラット ACE2 発現細胞では、増殖効率はバリアント型ラット ACE2 発現細胞の約 1/100 と低いレベルであった。このことから、ラット ACE2 は SARS-CoV のレセプターとして十分に機能しないことが示された。しかし、SARS-CoV などの RNA をゲノムとして持つウイルスは培養細胞を用いて複数回継代することにより、ゲノムに変異を生じることが多い。このことから、ラット ACE2 発現細胞で SARS-CoV を複数回継代培養することにより、ラット ACE2 に依存したウイルスゲノムの変異の蓄積あるいはセレクションによりラット ACE2 に馴化したウイルスが分離される可能性が高い。今後、ラット ACE2 発現 CHO 細胞を用いたウイルスの継代培養を行い、分離されたウイルスの性状解析を行う予定である。［福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川　茂］

（5）6-クロロプリンを塩基とした核酸誘導体の SARS-CoV 増殖抑制作用

重症急性呼吸器症候群（SARS）は、致死率の比較的高い新興ウイルス感染症で、その治療法開発を目指して抗 SARS コロナウイルス（SARS-CoV、SARS 病原体）活性を有する薬剤を検索している。炭素環オキセタノシン系核酸誘導体の中に比較的強い抗 SARS-CoV 活性を示す物質があることを明らかにした。本化合物の活性発現には、5’-水酸基の安息香酸エステル部や、プリンの 6 位塩素化部が関与していると考えられる。そこで、炭素環オキセタノシン系核酸誘導体の中に比較的強い抗 SARS-CoV 活性を示す物質の各種類縁体を合成し、それらの抗 SARS-CoV 活性を plaque reduction assay およ

び yield reduction assay 評価した。現在のところ、比較的抗 SARS-CoV を有する物質が数種見いだされている。［西條政幸、森川　茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、丸山徳見（徳島文理大学薬学部)］

（6）RNA ウイルスの網羅的検出に関する研究

未知のウイルスが感染している細胞からウイルスの遺伝子を同定することは容易ではない。古典的なサブトラクション法を用いると、細胞内に多数存在しているリボゾーマルRNAが特異的な検出を妨げてしまう。そこで、リボゾーマル RNA に結合せず、ほとんどの RNA ウイルスに結合できるようなプライマーを設計して、逆転写反応のプライマーとして用いサブトラクションをおこなった。SRAS-CoV 感染細胞などを用いて検討したところ、容易にウイルスの遺伝子を検出できた。この方法は未知の RNA ウイルスを検出するために有用である。［水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂、江下優樹（大分大学)、佐藤朝光（福岡大学)］

Ⅱ. ウイルス性出血熱に関する研究

1. ラッサウイルスに関する研究

（1）ラッサウイルス抗原検出 ELISA の開発と評価

ラッサ熱（ラッサウイルス感染症）の迅速診断には、RT-PCR によるウイルスゲノム検出法とともに抗原検出法が有用と考えられる。今回、ラッサウイルス（Josiah 株）組換え核タンパクに対する単クローン抗体（4A5）を捕捉抗体として、抗ラッサウイルス核タンパクに対するウサギポリクローナル抗体を検出用抗体として用いて抗原検出 ELISA を開発し、その診断における有用性を検討した。ハムスターにラッサウイルス（AV 株）を感染させ、経時的に血液を採取し、得られた血液から分離された血清をサンプルとして、RT-PCR 法および抗原検出 ELISA を施行した。今回開発された抗原検出 ELISA により、RT-PCR 法とほぼ同等の感度でラッサウイルス抗原が検出されること、ラッサウイルス AV 株の核タンパクが検出されること、旧世界アレナウイルスに分類される Mopeia ウイルスの核タンパクは検出されるがリンパ球脈絡膜髄膜炎ウイルスの核タンパクは検出されないこと、さらに、新世界アレナウイルスに分類される Junin ウイルス（アルゼンチン出血熱の病原ウイルス）の核タンパクは検出されないこと、が明らかにされた。今回開発されたラッサウイルス抗原検出 ELISA は、ラッサ熱の迅速診断に有用であることが明らかにされた。［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)］

（2）組換えラッサウイルス核タンパクを抗原としたラッサ熱血清診断法の評価

ラッサウイルスの組換え核タンパク発現 HeLa 細胞を抗原とした間接蛍光抗体法と、ラッサウイルス組換え核タンパクを抗原とした IgG ELISA による抗ラッサウイルス IgG 抗体検出法を開発した。HeLa 細胞での組換え核タンパクの発現は、pKS336 発現ベクターを用いて、IgG ELISA 用組換え核タンパクは組換えバキュロウイルスシステムを用いて発現させた。ラッサ熱患者回復期血清や実験的にラッサウイルスを感染させた霊長類から得られた血清は、間接蛍光抗体法と IgG ELISA 法で陽性を呈し、非ラッサ熱患者および非感染霊長類から得られた血清は陰性を呈した。組換えラッサウイルス核タンパクを抗原とした間接蛍光抗体法や IgG ELISA は、精度および感度は高く、血清学的診断に有用であることが明らかにされた。［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)］

Ⅲ. ポックスウイルスに関する研究

1. サル痘ウイルスに関する研究

（1)サル痘ウイルス Zr-599 株(コンゴ盆地型)と Liberia 株（西アフリカ型）の霊長類における病原性の解析

コンゴ民主共和国（旧ザイール）から西アフリカにかけて、天然痘様疾患であるヒトサル痘（サル痘ウイルスによるヒトにおける感染症）が、天然痘が根絶された今日でも流行している。2003 年には、サル痘ウイルス感染齧歯類の輸入を介して米国においてもヒトサル痘が流行し、ヒトサル痘は新興・再興ウイルス感染症の１つとして認識されている。本研究においては、旧ザイールとリベリアで発生したヒトサル痘患者から分離されたそれぞれのウイルス（サル痘ウイルス Zr-599 株と Liberia 株）を、それぞれ 5 頭のカニクイザルに、皮下接種（3 頭）または鼻腔噴霧法（2 頭）で感染させ、臨床症状を観察し、さらに病理学的およびウイルス学的に霊長類におけるサル痘を解析した。Zr-599 感染カニクイザルにける臨床症状は、Liberia 株感染カニクイザルにおけるそれより重く、致死的であった。また、Zr-599 感染カニクイザルにおけるウイルス血症レベルは、Liberia 株感染カニ

クイザルにおけるそれより高い値を示した。病理学的には、サル痘ウイルス Zr-599 は、Liberia 株に比べてより強く消化管および泌尿生殖器系臓器を冒した。サル痘ウイルス Zr-599 の病原性は、Liberia 株の病原性より高い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、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（感染病理部）]

2. 痘そうワクチンに関する研究

（1）加速変性試験による旧痘そうワクチンと細胞培養痘そうワクチンの保存安定性の比較

バイオテロ対策として痘そうワクチンの製造が再開され備蓄されている。旧ワクチンは、ウシの皮膚に接種した痘苗を粗精製し適当な分散媒を加えて凍結乾燥されたもので、100℃、1 時間の加熱による力価低下が 1 $\log_{10}$ 以下である分散媒が用いられている。このため、長期にわたる保存が可能と想定され、実際に備蓄されている旧ワクチンは、多くのロットで－15 ないし－20℃保存で備蓄期間 24 年においても有効な力価が維持されている。しかし、平成 13 年度より製造の再開された乾燥細胞培養痘そうワクチンの備蓄可能期間に関しては不明である。本研究では、1972 年に製造され国立感染症研究所で 4℃保存されている Lister 株による旧ワクチン（乾燥痘そうワクチン）と平成 13 年に製造された乾燥細胞培養痘そうワクチンを用いて加速変性試験を行い両ワクチンの保存安定性を比較した。その結果、旧ワクチンに比べて乾燥細胞培養痘そうワクチンは保存安定性が低いことが推定された。この相違は、用いられている分散媒と蛋白濃度の相違によると思われる。しかし、−20℃での保存による力価推移を予測すると、両者とも非常に高く、製造時の力価が $10^{8.5}$ pfu/mL であった場合には、$10^{8.0}$ pfu/mL まで低下するのに 50 年以上かかると推定された。［森川　茂、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、堀内善信（細菌第 2 部）］

（2）痘そうワクチンの力価試験と安定性試験法の検討

長期保存痘そうワクチンの力価推移の解析から、測定年により力価のばらつきがあることが明らになっている。これは、各測定年での標準偏差を考慮すると鶏卵の感受性にばらつきがあるためと考えられる。そこで、より安定な成績が得られると考えられる株化細胞によるプラック法の有用性を検討した。試験製造細胞培養痘そうワクチン（参照品）と乾燥細胞培養痘そうワクチン（化血研件製造 VO3, VO4, および VO5：化血研件より分与）の各ワクチンを鶏卵の漿尿膜上接種による生物学的製材基準に沿った測定法（CAM ポック法）と株化ウサギ腎細胞である RK13 細胞を用いたプラック法により求めて比較検討した。また、RK13 細胞を用いたプラック法による力価測定を、国立感染症研究所と（財）化学及血清療法研究所で行い、施設間差の有無に関して解析した。その結果、プラック法では、実験者間および施設間での測定結果も良く一致し、有意差は認められなかった。このことからプラック法が CAM ポック法より優れた試験法であると結論される。CAM ポック法とプラック法を比較すると、両試験方法での力価には $\log_{10}$ 値で 0.3（実数値で 2 倍）の差が認められたが、相対力価ではよく一致した。今後、プラック法での力価結果をワクチン力価としてどのように評価するかを検討する必要がある。[森川茂、緒方もも子、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、倉根一郎、堀内善信（細菌第 2 部）、嶽本澄代・寺野　剛（(財）化学及血清療法研究所）]

（3）細胞培養痘そうワクチン LC16m8 株の温度感受性に関する研究

製造が再開された細胞培養痘そうワクチンのワクチン株である LC16m8 株は、Lister 株から低温馴化により LC16 株、LC16mO 株を経由して作製された株である。初代ウサギ腎細胞でのプラック形成温度上限は、Lister 株では 41℃以上であるのに対し、LC16 株、LC16mO 株、LC16m8 株は 41℃ではプラックを形成しない。本研究では、LC16mO 株の温度感受性の安定性、責任遺伝子のマッピング等に関して解析した結果、LC16mO 株は、非許容温度でも細胞内感染性粒子が形成されるが、感染早期にアポトーシスを誘導すること、温度感受性のリバータントは、非許容温度で若干増殖するウイルスを許容温度で増幅する cycle を 5 回繰り返してもできないことが明らかになった。また、相補性実験から温度感受性の責任遺伝子が複数存在することが示唆された。[森川　茂、緒方もも子、西條 政幸、福士秀悦、水谷哲也、倉根一郎、永田典代（感染病理部）]

3. ワクチニアウイルスに関する研究

（1）ワクチニアウイルス増殖に関与する細胞因子の解析

ヒトの既知の 8,500 遺伝子をターゲットにした siRNA library を発現するレンチウイルスベクターを用いて、siRNA 発現 HeLa 細胞 library を作製し、ワクチニアウイ

ルスを感染させた。その結果、コントロール細胞に比べてウイルス感染による細胞死を免れた細胞が多数観察された。これらの生存細胞集団に含まれる siRNA 配列を RT-PCR により増幅して配列を決定すると、TNF 関連遺伝子等のアポトーシス関連遺伝子に対するものが複数認められた。これらの遺伝子のウイルス増殖における機能を今後検討したい。[森川　茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、西條 政幸、倉根一郎]

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

2005 年には石川県、三重県、香川県から送付されたブタ血清より、1 株、2 株、3 株合計 6 株の日本脳炎ウイルスが分離された。それらのウイルスを用いたプラーク形成試験では、何れも現行ワクチン株（Beijint-1 株）に比べプラークサイズは大きく、6 株中 4 株のベロ細胞における感染価は、3～6×107 PFU/ml であった。6 株の E 蛋白領域の遺伝子配列は何れも遺伝子 1 型であった。研究参加機関全体のウイルス分離株数は、27 株であった。その内訳は、熊本 2 株、高知 6 株、香川 3 株、広島 1 株、三重 2 株、石川 1 株、静岡 8 株、千葉 2 株、東京 2 株であった。遺伝子解析の結果すべて遺伝子型 1 型であった。[根路銘令子、高崎智彦、田島 茂、小滝 徹、林 昌宏、伊藤美佳子、倉根一郎、田部井由紀子（東京都健康安全研究センター）、吉住秀隆・小川知子（千葉県衛生研究所）、足立　聡（静岡県環境衛生科学研究所）、細谷佳行（静岡県西部食肉衛生検査所）、杉山　明（三重県科学技術振興センター）、尾西 一（石川県保環センター）、多田芽生（香川県環境保健研究センター）、桑山 勝（広島県保健環境センター）、永安聖二（高知県衛生研究所）、原田誠也（熊本県保健環境科学研究所）、糸数清正（沖縄県衛生環境研究所）]

(2)中国における日本脳炎ウイルス分離株の遺伝子解析

中国における 2002 年から 2005 年の日本脳炎ウイルス新鮮分離株 65 株の遺伝子解析を prM および E 領域に関して実施したところ、中国においては現在遺伝子型 1 型と 3 型ウイルスが混在して活動していることが明らかになった。[高崎智彦、田島　茂、小滝　徹、倉根一郎]

(3) 日本脳炎感染マウスの脳内 T 細胞レセプターレパトア解析

マウスに対して強病原性株である日本脳炎ウイルス JaTH160 株を、C3H/He マウスに 100LD_{50} 腹腔内接種し、脳炎を発症したマウスについて病理解析を行った。発症したマウスの脳では、血管の周囲や海馬周辺に多くの炎症性細胞が浸潤し、神経細胞の壊死や著明な髄膜炎の所見が得られた。さらに、このマウスの脳から RNA を抽出し、adaptor ligation PCR 法により T 細胞レセプター遺伝子を増幅して、そのサブファミリーの発現比率を解析した。その結果、脳内の T 細胞レセプターのレパトアは、α鎖、β鎖ともに脾臓のレパトアと比較して特定の skewing が見られた為、脳内に特異的な T 細胞が浸潤しているものと考えられた。[藤井克樹、高崎智彦、倉根一郎、鈴木隆二（国立相模原病院）]

(4) 当研究室で分離した日本脳炎ウイルス２株の全塩基配列の決定

2002 年および 2004 年にブタ血清より分離した日本脳炎ウイルス Mie41 株および Mie40 株はともに genotype 1 に属するが、マウスに対する病原性が著しく異なり、Mie41 は弱毒型であるのに対し Mie40 は強毒型である。病原性を規定する部位を推測するため、両ウイルスゲノムの全塩基配列を決定後、ORF 領域のアミノ酸配列および非翻訳領域の塩基配列を比較した。すると ORF 領域に７ヶ所、非翻訳領域に６ヶ所差異が見出された。アミノ酸の差異は C、NS3、NS4A 領域に１ヶ所ずつと NS5 に４ヶ所存在した。塩基変異はすべて 3'非翻訳領域に存在した。今後どの部位が病原性の強さを規定しているかを調べてゆく予定である。[田島　茂、根路銘令子、高崎智彦、倉根一郎]

2.　ウエストナイルウイルスに関する研究

(1) 2005 年ウエストナイルウイルス感染症の検査・診断

2005 年 10 月 3 日に日本において初めて米国からの輸入症例が報告された．患者は 8 月 28 日から 9 月 4 日まで米国に滞在した 30 代の男性で，倦怠感，発熱，頭痛および両上下肢に 1mm 大の紅斑丘疹を呈した．髄膜脳炎の可能性は否定的であった．ウエストナイルウイルスに対する実験室検査を行ったところ IgM 抗体陽性, PCR 陰性，ペア血清を用いた中和試験での 8 倍の上昇が観察された．以上の検査結果及び臨床所見より本症例は 10 月 3 日にウエストナイル熱と診断された。[林　昌宏、高崎智彦、倉根一郎、小泉加奈子・中島由紀子・秋月哲

史(市立川崎病院)]

(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.

開発中の組織培養ウエストナイル不活化ワクチン(WN-VAX)および日本脳炎不活化ワクチン(JE-VAX)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 WN-VAX ではウエストナイルウイルス(WNV)，クンジンウイルス(KUNV), 日本脳炎ウイルス(JEV)に, JE-VAX では JEV, KUNV に対する中和抗体価の上昇を認めた. したがって開発中の WN-VAX は WNV に対して有効な中和抗体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) ウエストナイル不活化ワクチン及び日本脳炎不活化ワクチン免疫マウスにおけるウエストナイルウイルスに対する防御能の検討

組織培養ウエストナイル不活化ワクチンを免疫したマウスを用いてウエストナイルウイルス攻撃実験を行った. その結果ウエストナイル不活化ワクチン免疫マウスにおいては 100%の生存率を示しウイルス血症も観察されなかった．コントロール群においては低い生存率を示し，高いウイルス血症が観察された．以上の結果より現在米国で流行しているウエストナイルウイルスに対するウエストナイル不活化ワクチンの有効性が示唆された．[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(長崎大学)、石川豊数（阪大微研）]

(4) 日本脳炎ウイルス中和抗体保有マウスのウエストナイル不活化ワクチンによる免疫応答の検討

日本脳炎ウイルス(JEV)と免疫学的に交差するウエストナイルワクチン(WN-VAX)導入において日本脳炎ワクチン(JE-VAX)との相互作用を検討するため，JE-VAX 免疫マウスの WN-VAX に対する免疫応答の検討を行った. その結果，JE-VAX あるいは WN-VAX を単独で 1 度免疫した場合，それぞれのウイルスに対して 100%の中和抗体価の上昇は認められなかったが，JE-VAX により基礎免疫を与えた個体に WN-VAX の追加免疫を与えた場合は抗 WNV 中和抗体のみならず, 抗 JEV 中和抗体に対するブースター効果も観察された．よって WN-VAX はこれまでの JE-VAX と干渉することはなく，WNV 対策として有効であ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(長崎大学)、石川豊数（阪大微研）]

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遺伝子合成 RNA の作製および地方衛生研究所への配布

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 を用いた定量法を確立した。本合成 RNA はフラビウイルスレファレンスセンターに配布した。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、小滝　徹、倉根一郎]

（2）デングウイルス遺伝子検出法リアルタイム PCR の改良

デングウイルスの遺伝子検出法として、ウイルス型別リアルタイム RT-PCR 法は、原因ウイルスの型別を同定するために有用である。しかし、プライマーとプローブが GenBank に登録されたデータに基づいて作製され、特異性が高い反面、遺伝子配列が変化した株に対しては反応しない可能性がある。このためユニバーサルプライマーを用いた SBGR を加えた TaqMan･SBGR 同時アッセイ法開発し評価した。[高崎智彦、小滝　徹、原田文植、伊藤美佳子、倉根一郎]

（3）デング熱治療ターゲットとしての Fcγ受容体を介したデング出血熱の病態形成機序の解析

致死的なデング出血熱の Fcγ受容体を介する病態形成機序を宿主・ウイルス間の相互作用の見地から解明するため，デングウイルス 2 型および 3 型を患者血清から分離した．分離されたウイルスは激しい CPE を呈しプラークを形成した．また FcγIIA 受容体を Vero 細胞に導入した結果 FcγIIA 受容体が細胞表面に観察された. 今後これらのウイルス，細胞を用いてデングウイルスの in vitro 抗体依存性感染増強(ADE)モデルの開発を行い，ADE 発生メカニズムの解明を進める．[林　昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

（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

デングウイルスには血清型1-4の4つの型が存在する。ヒトにおいてはデング熱・デング出血熱を起すウイルスであり、初感染とは異なる血清型のウイルスによる感染増強が確認されている。そこで、感染増強のメカニズを解明するために､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交叉性中和抗体および型特異的中和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中和抗体および型特異的中和抗体の感染増強現象を解析した。その結果、感染後 58 週目の交叉性中和抗体および型特異中和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､交叉性中和抗体は１：３倍希釈で、型特異中和抗体は１：３０倍希釈で最も感染の増強が認められたことから、初感染とは異なる血清型のウイルスの方が、同型のウイルスよりも再感染時に感染増強が発生しやすいことが明らかとなった。このことから、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、初期感染時の中和抗体が減少し、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ことが考えられた。[伊藤美佳子､高崎智彦､倉根一郎、片貝祐子(予防衛生協会、霊長類センター）]

（5）台湾のデング熱患者における血清型特異的 IgA 抗体検出法の確立

デング熱の血清診断法としてわれわれが開発したウイルス特異的 IgA 抗体検出のための IgA 捕捉 ELISA 法は、日本人輸入症例に関して評価したもので、実際に流行地域の患者の診断に用いていない。そのため、近年デング熱が流行している台湾高雄市におけるデング熱患者血清を用いて評価し、病日との関連等を検討した。 [高崎智彦、林　昌宏、倉根一郎．名和　優、赤塚俊隆（埼玉医科大学)．韓明榮（高雄市政府衛生局）]

（6）マウス樹状細胞におけるデングウイルス感染機構の解析

デングウイルスのワクチン開発、あるいは感染免疫を解析するうえで、免疫の獲得において司令塔的な役割を果たす樹状細胞の役割を明らかにすることは重要である。人の樹状細胞を用いた解析では、デングウイルスが未熟な樹状細胞上の DC-SIGN に結合し、ウイルス増殖したことが明らかになっている。しかしながら、これまで実験感染モデルとして広く用いられているマウス樹状細胞での感染の成立は明らかにされていない。我々は、BALB/c および C57BL/6 の 2 系統のマウスを用いて骨髄と脾臓から樹状細胞を分離し、マウス樹状細胞にデングウイルスが感染するかを間接蛍光抗体法および RT-PCR 法で解析した。デングウイルスは、人の解析と同様に骨髄の未熟な樹状細胞に感染することが間接蛍光抗体法で認められ、感染樹状細胞の上清中にウイルス遺伝子の存在が明らかになった。マウスにおいても未熟な樹状細胞に感染し、ウイルスが増殖していることが示唆された。[高崎智彦、倉根一郎．町田早苗、名和　優（埼玉医科大学）]

（7）デング熱患者における抗ウエストナイルウイルス交差中和抗体に関する検討

日本人の輸入デング熱患者の場合、日本脳炎ワクチン接種や自然感染によって日本脳炎ウイルスに対する免疫を有している場合が多い。このようなデング熱患者におけるウエストナイルウイルスに対する交差中和抗体価を検査したところ、19 例において 40 倍以上の抗体価を示した。デングウイルスに対する中和抗体を測定すれば鑑別可能であるが、複数のフラビウイルス侵淫地域における血清診断には慎重を期す必要がある。[原田文植、高崎智彦、林　昌宏、伊藤美佳子、倉根一郎]

（8）小動物を用いたデングウイルス実験感染モデルの構築

スナネズミを用いた感染実験においてデングウイルスによるウイルス血症が観察された。顕著な出血熱症状やショック症状は観察されなかったものの、スナネズミ体内でのウイルス増殖が確認された。今回の感染実験結果から、スナネズミはマウスよりデングウイルスに感受性が高く、デングウイルス感染症を研究する上で重要な動物実験感染モデルになり得ると思われた。[濱野正敬、高崎智彦、田島　茂、伊藤美佳子、小滝　徹、倉根一郎、松田潤一郎（医薬基盤研）]

（9）3'非翻訳領域内可変領域のウイルス増殖における役割解析

フラビウイルスゲノムの 3'非翻訳領域の中でも、ウイルス蛋白質コード領域直後の領域は株間で保存性が低く、さらにこの領域の一部が欠損したウイルス株も見出されることから、可変領域（VR）と呼ばれる。さらに VR は

特に保存性の低い hyper-variable region (HVR)と、HVR よりは保存性の高い semi-variable region (SVR) の亜領域に分けられる。VR 領域および各亜領域を欠失した組換えデング１型ウイルスを作製し増殖能を調べたところ、すべてで Vero 細胞でのウイルス増殖能が低下した。次に各亜領域を逆転配列に置換したウイルスを作製し調べたところ、SVR では増殖能の低下が見られたが、HVR では野生型と同等の増殖能を示した。さらに２種類の HVR 塩基置換変異体を作製したが、いずれも野生型と同等の増殖能を示した。一方、欠失および置換変異体を C6/36 細胞に感染させたが、いずれの変異体でも増殖能の低下は認められなかった。以上よりデング１型ウイルスの VR は、哺乳動物細胞内での効率的な増殖に関与することが示された。またこの領域は、配列の置換が可能な HVR と置換が不可能な SVR に分けられることが明らかとなった。SVR は HVR に比べると保存性が高いことからも、配列が哺乳動物細胞内での増殖に重要と考えられた。一方 HVR は、配列よりもヌクレオチド数が一定以上確保されていることが重要と考えられた。[田島　茂、貫井陽子、高崎智彦、倉根一郎]

（10）3'非翻訳領域内可変領域変異ウイルスの RNA 複製能の解析

上記（9）で使用した変異体ウイルスの Vero 細胞内でのプラス鎖およびマイナス鎖ウイルス RNA 合成能をリアルタイム RT-PCR 法で定量し比較した。すると増殖能の低下した変異体でのみ、両鎖とも合成量の低下がみられた。このことから VR は哺乳動物細胞内での効率的なゲノム RNA 複製に関与することが示された。[田島　茂、貫井陽子、高崎智彦、倉根一郎]

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と性状解析

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更なる改良と応用を検討している。さらに、他の遺伝子欠損ウイルスの作製も試みている。［森本金次郎、伊藤睦代、倉根一郎、佐藤　豪、酒井健夫（日本大学)］

（2）狂犬病ウイルス cDNA 発現系を利用した神経病原性機構の解明

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用いて、狂犬病ウイルスの神経病原性の機序を解析している。［森本金次郎、伊藤睦代、倉根一郎］

（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（東北大学)］

（5）狂犬病ウイルスに対するミクログリアのケモカイン応答

ウイルス侵襲を受けた脳局所におけるケモカインの産生は、血液脳関門を介した末梢白血球の遊走を促し、病原体の排除に働く。その反面、ケモカインの過剰分泌は

炎症による神経破壊を惹起し、ウイルス性脳炎の重篤化に深く関与する。ミクログリアは中枢神経系に常在するマクロファージ様細胞であり、脳のケモカイン応答において中心的な役割を担う。本研究ではウイルス感染に対するミクログリアのケモカイン応答メカニズムを細胞レベルで解析した。代表的な中枢神経系ウイルスである狂犬病ウイルス(RV)はミクログリアに感染しウイルス蛋白質を発現するが、ウイルスゲノムの複製が阻止されるために子孫ウイルスが産生されないことが分かった。RV 感染によるミクログリアのケモカイン発現プロファイリングを行った結果、CXCL10 および CCL5 の発現が選択的に増大することが分かった。また、RV に感染したミクログリアでは、NF-kB および MAPK ファミリーに属する ERK1/2 と p38、JNK 経路が活性化することが分かった。各シグナル経路に対する阻害剤の存在下でのケモカイン応答を解析した結果、CXCL10 及び CCL5 の発現は NF-kB の活性化によって誘導されること、また p38 は NF-kB シグナルを間接的に増強することでケモカイン発現を促進することが分かった。さらに、ERK1/2 の活性化は RV 感染に対する過剰な CCL5 産生を負に制御することが示された。[中道一生、伊藤睦代、齋木めぐみ、久保山有紀、森本金次郎、倉根一郎]

（6）Toll 様受容体 3(TLR3)リガンドに対するミクログリア活性化メカニズムの解析

脳がウイルス侵襲を受けた場合、常在型のマクロファージ様細胞であるミクログリアはアメーバ状の活性型細胞へとトランスフォームすることで変性細胞を貪食し、サイトカインや酵素、神経保護因子等を高発現する。ミクログリアの活性化はウイルスに対する防御ラインにおいて必須である反面、過剰な炎症応答は神経細胞傷害を誘発しウイルス性脳炎の重篤化に関与する。本研究は、ウイルス感染において普遍的な分子パターンである TLR3 リガンドに対するミクログリアの活性化モデルを確立し、ウイルス性脳炎治療薬の探索技術として応用することを目的とする。TLR3 リガンド(二本鎖 RNA)を用いて刺激したミクログリアでは、炎症性サイトカイン(IL-β、IL-6)およびケモカイン(CXCL2、CXCL10、CCL2、CCL5)の発現が増大した。また、これらの炎症性遺伝子の発現応答は、NF-kB ならびに JNK、p38 を介したシグナル伝達経路を介して誘導されることが分かった。さらに、TLR3 リガンドの認識による細胞内シグナル経路の活性化には、液胞内の酸性環境が必須であることを示した。TLR3 リガンドに対する細胞内シグナリングおよび炎症性遺伝子発現は、ミクログリアの活性化を数値化するための指標として応用することが可能であり、脳内免疫細胞を指向する抗炎症物質のスクリーニングにおいて有用であることが示唆された。[中道一生、伊藤睦代、齋木めぐみ、久保山有紀、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。有効性と安全性の判断基準のひとつとして、現行ワクチンに特徴的な遺伝子配列が各製造ロットで保存されていることを今後保証することが望ましいと考えられる。そこで、ワクチン株と親株との塩基配列の差異を解析する方法として、昨年度より蛍光エネルギー移動(FRET)を応用した LightCycler の Tm 値解析を検討してきた。本年度は、ワクチン株で配列に混じりが知られる 8 塩基部位に着目し、この混じりの程度の安定性を検討した。我国の製造ワクチンのいくつかのロットについて比較したところこの混じりの程度に差はなく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。一方、同じ Oka ワクチン株を用いた海外メーカーの水痘ワクチンと比較したところ、メーカー間で ORF39, ORF55 部位などで有意に混じりの程度が異なることが明らかとなった。[井上直樹、山本由美子、稲見有希、野澤直樹、Vladimir Loparev (CDC)、D. Scott Schmid (CDC)、原田志津子、倉根一郎]

（2）VZV レポーター細胞株の樹立

VZV ORF9 遺伝子の活性化に必要十分なプロモーターの最小領域を利用して MeWo 細胞より VZV レポーター細胞 MV9G 株を樹立した。MV9G 細胞に VZV 感染後 16 時間でレポーター活性がみられ、時間とともに活性が増加した。感染 48 時間で検討したところ、レポーター活性は感染力価と比例した。また、50 PFU の感度があった。他の増殖の遅いヘルペスウイルスでは反応はまったく見られなかった。ただし、同じアルファヘルペス亜科の単純ヘルペスウイルスはこの細胞株を活性化したが、強い細胞変性効果を示し感染 48 時間後には多くの細胞が溶解することから実際的には VZV との峻別は容易であった。VZV は細胞フリーの感染粒子が得にくいので、感染細胞とレポーター細胞を共培養することにより、VZV 感染力価を測定できるかを検討した。その結果、この共培養法により合計 3 日で感染 VZV を定量できるこ

とが明らかになった。その感度は、数個の感染細胞で十分であり、感染細胞数とレポーター活性に強い相関があった。アシクロビル・ロスコビチンなどの化合物をモデルにして抗ウイルス剤の効果評価に本レポーター細胞が有用であることを示した。共培養法により、煩雑かつ時間のかかる作業であった細胞フリーウイルスの調製をすることなく、ACV 耐性株を容易に同定できることを明らかにした。[Guan-Qing Wang、錫谷達夫（福島医大)、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）臨床検体中の CMV 迅速検出、中和抗体価測定、及び抗ウイルス剤評価などへの CMV レポーター細胞株の応用

PCR、抗 IE 蛋白モノクローナル抗体を用いた免疫染色法、及び通常のウイルス分離の 3 種の従来法により尿や唾液などの臨床検体中の CMV の同定を検討すると同時に、昨年度樹立した CMV レポーター細胞 U4C48 に臨床検体を接種しレポーターアッセイによる CMV の検出を検討した。その結果、レポーター細胞による検出は PCR 及びウイルス分離法による検出と相関することを明らかにした。健常成人の血清中の CMV に対する中和抗体価を、レポーター細胞を利用した化学発光減少と従来のプラーク数減少との 2 方法で比較した。その結果、両方法で測定した中和抗体価に高い相関がみられたことからレポーター細胞を用いることで省力化・迅速化が図れることが明らかとなった。AraC など第 1 世代の核酸アナログ抗ヘルペス薬に加え、新たに合成された araU 誘導化合物についてレポーター細胞株を用いて構造活性相関を検討した。[福井良子、柳　舞美、実吉峯郎(帝京科学大)、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。昨年度、新生児尿を収集した特殊濾紙を直接 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。今年度、条件検討を行うことによって、尿検体を含む濾紙片から DNA を溶出することによりリアルタイム PCR 法を用いて陽性例について CMV ゲノムコピー数を効率よく測定することを可能にした。 [野澤直樹、古谷野伸（旭川医大)、山本由美子、稲見有希、倉根一郎、井上直樹]

（3）乾燥臍帯を用いた先天性 CMV 感染症の疫学的研究

出生時不顕性の先天性感染児の血液、尿及び乾燥臍帯中の CMV 量をリアルタイム PCR を用いて比較した。通常１反応に使う量を基準にすると尿、乾燥臍帯に比して血液中の CMV DNA 量は 100 から 1000 分の１程度しかないことがわかった。このことは、ガスリー紙などに塗布された乾燥血を用いたレトロスペクティブな先天性 CMV 感染検出には感度の点で限界があることを意味した。先に我々が報告した乾燥臍帯を用いたレトロスペクティブな先天性 CMV 感染の同定法では、先天性感染が知られる 5 例すべてでリアルタイム PCR 結果は陽性となり、一方、健常児から得られた乾燥臍帯からは CMV は検出されなかった。こうした感度と特異性を念頭に高度難聴患児 67 例及び精神発達遅延児 30 例の先天性 CMV 感染を検討した。その結果、高度難聴児の 15%、精神発達遅滞の 10%が先天性 CMV 感染によることが明らかになった。また、高度難聴児の 24%で GJB2 遺伝子に変異が同定されたが、CMV 感染児には GJB2 変異は同定されなかった。 [井上直樹、錫谷達夫(福島医大)、古谷野伸（旭川医大)、小川洋（福島医大)、馬場陽子(福島総合療育センター)、山本由美子、稲見有希、野澤直樹、倉根一郎]

（4）CMV 感染により壊死性腸炎を呈した低出生体重児の感染経路の検討

在胎 25 週 3 日、838g 帝王切開で出生した児が、日齢 74 に腸穿孔の疑いから壊死部小腸切除を行い、この際の病理組織より CMV 封入体が検出され、日齢 85 にて CMV IgM 陽性が確認された。乾燥臍帯 DNA は CMV 陰性、日齢 7, 28, 39 に採血されたガスリー紙検体も陰性であった。日齢 43 には濃厚赤血球輸血が行われたが、CMV IgG 陰性血であった。以上より先天性・産道・輸血の各感染経路が否定された結果、日齢 28 より母乳に増粘剤を使用し母乳の吸収を高めことから、母乳を介して CMV 感染が成立したと推測された。患児は日齢 87 から 13 日間投与された GCV が奏効し、血中 CMV は検出限界以下となった。なお、投与 13 日目に好中球減少が見られた。免疫グロブリンの移行が不十分な早産児での母乳を介した症候性 CMV 感染の可能性への対策について今後議論が必要と思われた。[山本和歌子（日赤医療センター)、

野澤直樹、倉根一郎、井上直樹]

（5）緑色蛍光蛋白質を発現する組換えモルモットサイトメガロウイルスウイルスの作製

モルモットサイトメガロウイルス(GPCMV)は､小動物における唯一の先天性感染動物モデルとして知られている。この動物モデルを用いた 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、GPCMV 粒子から精製した全長ゲノムと GFP 発現カセッテをコードしたトランスファーベクターとの相同的組換えにより緑色蛍光蛋白質を発現する組換えウイルスを作製し、各種解析によりその性状を解析した。サザンブロット法により、作製した組換えウイルスのゲノム構造はデザイン通りであることを確認した。また組換えウイルスの培養細胞での増殖は野生型とほぼ同等であり、感染後 1 日で緑色蛍光蛋白の発現を確認した。[野澤直樹、中村幸之助、筒井祥博（浜松医大)、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継続して行った。細胞周期、ストレスシグナル、アポトーシスなどの関連遺伝子のプロモーター活性を検索し、簡便なルシフェラーゼ分析で、ウイルス遺伝子発現による特定遺伝子プロモーターの活性変化を示すことができた。また、ウイルス遺伝子の発現様式を解析するための定量的 PCR 用プライマー設計と条件設定をおこない、２‐３倍の変動を検出できる鋭敏な系を確立した[原田志津子、平田顕恵、新井哲郎、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。今年度は酵母実験系で相互作用蛋白の検索を行い、クローニングと塩基配列の結果、候補蛋白を数種類得た．これらについての相互作用能分析のための融合蛋白やプラスミド作製を行った。EBNA-LP の補因子機能への関与を検討した。[原田志津子、新井哲郎、恒川賢太、三浦啓司、平田顕恵]

（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 Cre-loxP 系での誘導発現細胞株を作った。樹立細胞を薬剤タモキシフェンで変異蛋白を発現誘導すると､発現細胞は一様に増殖抑制されていた。ウイルス遺伝子の発現パターンの解析を行ったところ、LMP１の発現レベルが RNA レベルで低下していることがわかった。さらに細胞遺伝子の発現活性をリポーター分析で解析したところ、myc や AP1 活性などが優位に低下していた。また、アポトーシスが昂進し、ある特定の細胞周期が遅延している結果が得られたので、そのメカニズムを検討している。変異蛋白の発現によって細胞遺伝子発現の様式が変動するかどうかを網羅的に検索している。[原田志津子、加藤美緒、平田顕恵]

（4）ストレス負荷時の EBV 潜伏感染細胞遺伝子発現変動の検討

重力などのストレスや環境の変動による EBV 感染細胞の遺伝子発現変化をとらえることを検討した。岐阜県土岐市の MGLAB で落下実験を行い､微小重力にさらした潜伏感染細胞のストレスシグナルの変動とウイルス遺伝子発現の関連を､（１）で確立した定量実験系を用いて調べた。落下実験には培養細胞の準備や装置作製、実験用具の輸送と設置、研究材料の運搬、費用など様々な困難があり、実験回数は２回にとどまった．試行数が少ないため、有為差のある実験データの蓄積ができなかったが、ある細胞遺伝子の活性が変動し同時に潜伏感染核蛋白 EBNA2 の発現に変化が現れるという結果が得られた。さらに実験を重ねて確実な結論を導きたい。なお、本研究は宇宙航空研究開発機構、日本宇宙フォーラムとの共同研究である。[原田志津子、加藤美緒、新井哲郎、平田顕恵]

Ⅶ. リケッチアに関する研究

1.リケッチアに関する研究

(1)リケッチア感染症の病態と発生疫学の解析

国内のリケッチア感染症の発生状況の把握を目的に調査票を用いて解析している。感染症法による発生動向調査からの情報では、つつが虫病患者の約 90%にみられるとされる刺し口が約 50%の症例報告に記載が無いなど、リケッチア症の様な希少感染症では、疾患に合わせた情

報収集が必要であることが改めて示された。また、地域ごとの詳細な患者発生解析を行うことにより、患者発生について、従来の情報と異なる季節消長パターンがあることが明らかになってきた。[安藤秀二、小川基彦、重松美加・山下和予（感染症情報センター）、山本徳栄(埼玉県衛生研究所)、岸本寿男]

(2)日本産マダニからの紅斑熱群リケッチア､エーリキア､アナプラズマの検出・解析

マダニが保有する病原体検索を国内の多くの研究者と共同研究し、日本各地で採集された様々なマダニから分子生物学的手法によってリケッチアを検出､マダニの種、患者発生との関連を把握するリケッチア疾患の発生状況の網羅的解析を進めている。この中で、*Carios*属マダニから新規の紅斑熱群リケッチア遺伝子を検出した。米国本土で確認されているものと遺伝学的に近似であることから、ベクターの移動とともに新規リケッチアの国内侵入を監視することが重要であることが示された。[安藤秀二、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)､鶴見みや古(山階鳥類研究所)、岸本寿男]

2.　Q熱コクシエラに関する研究

（1）生物テロに使用される可能性の高い病原体による感染症の迅速診断に関する研究

生物テロにQ熱病原体*Coxiella burnetii*(*C.burnetii*)が用いられた場合、従来の診断とは異なり、迅速性と同時に多数の検索が求められる。これまでPCRやnested PCRによる迅速な遺伝子診断技術の開発を進めてきており、平成17年度は*C.burnetii*が生物テロに使用される場合の可能性として、水の汚染を想定し、遺伝子抽出や検出技術の応用の可能を検討した。異なる容積の蒸留水にホルマリン不活化*C.burnetii*を各濃度でスパイクし、高速遠心濃縮後、市販のDNA抽出試薬による抽出法とReal time PCRによる検出を行った。供試材料の容量が増えると、50μℓでは反応あたり菌体0.1個、50mℓ(5000倍容量)では反応あたり菌体10個と、抽出･検出効率が100倍低下した。このことから、今後供試検体のより効率的な濃縮法を検討する必要があると考えられた。[安藤秀二、佐藤　梢、小川基彦、柳　陳堅、岸本寿男]

（2）Q熱病原体 *Coxiella burnetii* に関する診断・疫学的研究

鶏卵のQ熱汚染が示唆されたことから、食品からの検出法を開発している。磁性ビーズDNA抽出機を用いた大量の検体処理を安定した抽出効率で、迅速かつ人為的ミスが入り難い抽出法を確立し、ABI 社の Real time PCR 法を用いて市販卵について検討し、検出限界以下の陰性であることを確認した。現在、公表されている Light Cycler を用いた SYBR Green の系について検討している。[安藤秀二、小川基彦、柳　陳堅、佐藤　梢、岸本寿男]

（3）典型的急性Q熱症例の解析

高力価の血清抗体価を呈した典型急性Q熱一例を経験した。症例は76歳、男性。無職。最近の海外渡航歴および国内旅行歴なし。2005年5月38℃を超える発熱を認め、入院。初診時 WBC 正常、CRP 高値、肝・胆道系酵素の上昇。肝生検の病理所見、「Necrotizing granulomatous hepatitis」より､Q熱が疑われ､血清抗体価を測定した。間接蛍光抗体法kit(Focus社)を用いて急性期から2ヶ月フォローしたところ、急性期（Ⅰ相菌 IgG 陰性、Ⅱ相菌 IgG 64 倍、Ⅰ相菌 IgM 陰性、Ⅱ相菌 IgM 512 倍)、発症約二ヵ月後（Ⅰ相菌 IgG 256 倍、Ⅱ相菌 IgG 8192 倍、Ⅰ相菌 IgM 2048 倍、Ⅱ相菌 IgM 8192 倍）と、著明な抗体価上昇とともにⅡ相菌に対する抗体価がⅠ相菌より高値を示した。MINO、NQ 投与にて経過は良好であった。国内感染例でも欧米の例や輸入例と同様の典型的な急性Q熱症例が存在することが確認できた。本人や家族の聞き取り、周辺の疫学調査では感染源は不明であった。[岸澤有華、渡部直己（市立砂川病院)、安藤秀二、三好正浩（北海道衛生研究所)、上野 弘（酪農学園大学)、岸本寿男]

(4)Q熱コクシエラと慢性疲労症候群様疾患との関連についての検討

Q熱コクシエラは急性Q熱後症候群を時に起こすが、慢性疲労症候群(CFS)様疾患との関連も指摘する報告がある。平成 14 年 1 月から平成 17 年 8 月までの間に CFS を疑われ名古屋大学医学部附属病院総合診療部を受診した患者を対象に調査した。CFS 疑いの患者 43 名（臨床診断では、CFS12 名、CFS＋精神疾患 5 名、精神疾患 13 名、器質的疾患 3 名、疾病利得群 3 名、その他診断保留 8 名)の血清 *C.burnetii* 抗体の測定と､血液からの遺伝子検出を行ったが、IgM および IgG 抗体価の有意な上昇を認める症例はなく、また *C.burnetii* の DNA が抽出された症例もなかった。引き続き症例数を増やして検討する予定である。[岸本寿男、安藤秀二 、小川基彦 、古屋由美子（神奈川県衛生研究所]、伴 信太郎・西城卓也（名古屋大学）]

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）オウム病家族発生例の検討

2005 年、感染源と考えられる愛玩鳥との接触頻度にかかわらず、同居する家族 4 人が肺炎を呈したオウム病感染事例を経験した。いずれの患者も血清学的にオウム病と診断されたが、感染源と推定される鳥との接触頻度により、症状の重篤度に差が見られた。トリの世話をしていない家族を含め、ほぼ同日に全員が肺炎を発症したオウム病事例は稀である。また、感染源と推定された死亡オカメインコの糞便及び各種臓器より、遺伝子検出・病原体分離が陽性となり、肺から感染性のクラミジアがもっとも多量に検出された。このことから本事例では、排泄物の吸引と合わせて口移しでの給餌なども感染経路として危険性が高かった可能性が推測され、オウム病の発生予防において適切な飼育方法の啓発の重要性が改めて示された。[岸本寿男、安藤秀二、柳　陳堅、海部春樹・飯田國洋・植木信介・江原裕子・島崎裕子(長崎県衛生研究所)、渡邉幸子・安西　仁・武分和歌子（長崎市保健所)、牟田隆也(松原牟田内科小児科)、草場照代（聖フランシスコ病院）]

(2) 動物展示施設におけるオウム病集団発生事例の調査

2005 年 12 月 6 日に神戸の K 動物展示施設におけるオウム病集団発生が探知され、外部専門家として専門家会議(部会)に参加し、発生状況の調査、原因の追究、そして今後の発生防止対策等について検討した。全従業員のうち同意の得られた者については、当室で血清抗体価測定を担当し、実施した micro-IF 法の結果、受診先医療機関での検査を含めて、最終的に 3 名が感染症法に基づくオウム病患者として届出された。今回の患者発生は、飼育鳥の検疫や個体識別を含めた健康管理体制、及び従業員の感染防御策等の不備が原因であると推定された。その後、それらの改善を確認して施設は開園された。なおトリならびにヒトから検出された *C.psittaci* 株については現在遺伝子学的な解析を行っている。[岸本寿男、安藤秀二、柳　陳堅、福士秀人(岐阜大学)、飯島義雄（神戸市環境保健研究所）]

(3) オウム病病原体 *C. psittaci* を特異的に検出する real-time PCR 法の開発

*C. psittaci*のみを特異的に検出する TaqMan MGB probe を用いた real-time PCR 法の開発を行い、特異性と感度の検討を行った。*C. psittaci* 6BC 株をモチーフとし、既知の *C. psittaci* の MOMP における保存領域をターゲットとして設計した。特異性試験では供試菌株は上記の 29 株のクラミジア属菌と、30 株の一般細菌を用いた。試験に用いた *C. psittaci* 株はすべて検出された、一方、ほかのクラミジア属菌は検出されなかった、また、一般細菌もすべて陰性であった。さらに、検出感度は、0.05pg/assay まで検出可能であった。臨床検体からの検出は現在検討中である。[柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、蔡　燕、岸本寿男]

(4) *C. psittaci* 遺伝子検出 one-step PCR 法の特異性、感度の追加検討

以前、蔡らが開発した Cpsi-1 と Cpsi-2 をプライマーとする one-step PCR 法は、他のクラミジアや細菌等についての特異性、感度については検討が残されていた。今回用いたクラミジア属菌 29 株、クラミジア属以外の一般細菌 23 株については、一般細菌は検出されず、クラミジアでは *C. psittaci* のみではなく、*C. abortus*, *C. caviae* および *C. felis* が検出され、また、*C. pneumoniae*, *C. trachomatis* ならび *C. pecorum* は検出されなかった。しかし、これら *C. abortus*, *C. caviae* および *C. felis* は本来鳥由来ではなく、他の哺乳動物が宿主であることから、本プライマーをトリ由来検体やオウム病疑いの患者検体に用いることに特に問題はないと考えられた。検出感度については、属特異の CM1、CM2 と比較したところ約 10 倍高かった。[柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、蔡　燕、岸本寿男]

（5）オウム病クラミジアと orbital MALT リンパ腫との関連について

orbital MALT リンパ腫は、中年女性の外側眼瞼に好発するが、最近、同部位からオウム病クラミジア遺伝子を高率に検出し、その関連性を示唆する報告がなされている。そこで愛媛大学医学部において過去 8 年間に経験された症例を retrospective に検討し、その関与について検討した。orbital MALT リンパ腫症例 17 例の手術標本から抽出された DNA を用いて、クラミジア遺伝子検出を試み、患者血清については、micro-IF 法によってオウム病クラミジアに対する血清抗体を測定した。オウム病クラミジアの遺伝子は検出されず、またオウム病クラミジア特異 IgG、IgA、IgM 抗体を保有する症例はなかった。積極的に関連を示唆する結果は見出せなかったが、さらに症例の追加をして検討する必要があると思われた。[安藤秀二、小川基彦、柳 陳堅、佐藤 梢、岸本寿男、薬師神芳洋(愛媛大学)]

2. 肺炎クラミジアに関する研究

（1）肺炎クラミジア血清診断基準の見直しについて

肺炎クラミジア感染症の血清診断において特に IgM 抗体測定の判定基準については、見直しが求められている。そこで ELISA 法の IgM 抗体の陽性カットオフ値、小児 IgM(+)：ID≧1.10、成人 IgM(+)：ID≧1.60 について再検討した。肺炎クラミジア呼吸器感染症が疑われる患者（肺炎、急性気管支炎、急性上気道炎患者を含む）の血清を用い、抗体測定は micro-IF と ELISA 法の「ヒタザイムＣ．ニューモニエ」によって実施した。肺炎クラミジア感染症と確定診断された症例の血清は、川崎医科大を受診した小児 C.pn(+)n＝106 と成人 C.pn(+)n＝136 で、そのほかの呼吸器感染症例として、M 病院小児科 n＝676、埼玉医大小児科 n＝588、川崎医大小児科 n＝200、成人市中肺炎 n＝440 を対象とした。ELISA 法の IgM カットオフを ID≧1.10 で判定した場合、ID≧1.60 で判定した場合に比べて IgM の陽性率が約 2〜3 倍程度高かった。さらに IgM の持続期間の検討や経過を追った推移の検討を micro-IF との比較をしながら行う予定である。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、沼崎　啓（ウイルス第三部）、尾内一信(川崎医科大学)、山崎 勉(埼玉医科大学)、田中敏博(水戸協同病院)、中浜 力（中浜医院）]

3. その他クラミジアに関する研究

（1）動物由来クラミジア遺伝子を特異的に検出する real-time PCR 法の開発

人獣共通感染症として関与する可能性のある動物由来クラミジア種を網羅的に検出することを目的に、動物由来クラミジアの16S rRNAにおける保存領域をターゲットとして設計し、TaqMan probe 法を用いた multiplex real-time PCR による病原体検出法の開発を行った。特異性試験では一般細菌は検出されず、動物由来クラミジアである *C. psittaci*、*C. abortus*、*C. caviae*、*C. felis* ならびに *C. pecorum* の遺伝子をすべて検出することができた。検出感度は、*C. psittaci* については one-step PCR 法よりやや高感度であった。また糞便からの検出でも本法は 40 個 EB まで検出可能で、one-step PCR 法の 10^3 個 EB より優れていた。さらに、239 検体の鳥糞便臨床サンプルでは本法では4検体で陽性であったが、one-step PCR 法ではすべて陰性であった。以上から、本法の有用性が示された。[柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、蔡　燕、岸本寿男]

Ⅸ. その他の研究

1. 蚊の siRNA に関する研究

これまでに、蚊の JNK は抗アポトーシスとしての機能を有することを報告してきた。蚊の幼虫が脱皮するときには、特に表皮においてアポトーシスが起こっていることが予測されるので、JNK に対する siRNA を合成し、１齢幼虫に暴露して成長を観察した。その結果、JNK に対する siRNA は２齢幼虫への脱皮を阻害する作用や死亡させる作用を有することが明らかとなった。現在、詳細なメカニズムを解明中である。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川　茂、遠藤大二（酪農学園大学)]

2. 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]

レファレンス業務

1. フラビウイルスに関する行政検査。

デングウイルス 7 件、ウエストナイルウイルス 1 件の行政検査が依頼され、これを実施した。[高崎智彦、田島茂、根路銘令子、伊藤美佳子、林 昌宏、倉根一郎]

2. クラミジアならびにリケッチア性関連疾患（輸入例含む）の検査業務

肺炎クラミジア、オウム病クラミジア、性器クラミジア、つつが虫病、日本紅斑熱、輸入リケッチア症、Q 熱

について検査(血清学的、分子生物学的、生物学的検査・実験室診断)を実施している。行政検査、一般検査、研究目的の検査を合わせると、平成 17 年において増加し、年間のべ約1000検体の各種検査を実施した。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦]

3. クラミジアおよびリケッチア標準株、各種培養細胞の培養維持、診断用抗原の作製・分与を行った。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦]

4. 感染症情報還元業務

IASR2005 年 8 月号特集「動物由来感染症」において、関連情報として掲載された「オウム病の家族感染例」のデータ解析。IASR2006 年 2 月号特集「つつが虫病・日本紅斑熱」において、関連情報の構成、原稿依頼のための連絡調整とともに特集記事を準備した。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦]

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 17 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. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定及び依頼検査

平成 17 年度は、8 ロットの日本脳炎ワクチン（北京株）の国家検定（不活化試験及び力価試験）を実施し、8 ロット全てを「合格」と判定した。また、1 ロットの日本脳炎ワクチン（中山株）の依頼検査（不活化試験及び力価試験）を実施し、「適」と判定した。[根路銘令子、高崎智彦、田島 茂、伊藤美佳子、林 昌宏、倉根一郎]

3. 黄熱ワクチンの依頼検査

平成 17 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。[高崎智彦、田島 茂、根路銘令子、伊藤美佳子、林 昌宏、倉根一郎]

4. 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（１７０１、１７０２、１７０３）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]

5. 水痘ワクチンの検定

乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定４ロット、同輸出用ワクチン依頼検査 11 ロット、水痘抗原国家検定１ロットを実施し、全ロットとも合格であった。[井上直樹、原田志津子、野澤直樹、倉根一郎]

研修業務

1. 地方衛生研究所職員に対するクラミジアおよびリケッチアに関する各種診断技術の指導を行った。随時、希望機関の職員を受け入れ、研修を行うとともに、国立保健科学院細菌コースにおいて講義を行った。[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) 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

2) Hombach, J., Solomon, T., Kurane, I., Jacobson, J. and Wood, D.: Report on a WHO consultation on immunological endpoints for evaluation of new Japanese encephalitis vaccines, WHO, Geneva, 2–3 September, 2004. Vaccine. 23(45):5205-5211.2005

3) Chanama, S., Sukprasert, W., Sa-ngasang, A., A-nuegoonpipat, A., Sangkitporn, S., Kurane, I. and Anantapreecha, S.: Detection of Japanese Encephalitis (JE) virus-specific IgM in cerebrospinal fluid and serum samples from JE patients. Japanese Journal of Infectious Diseases 58 (5): 294-296, 2005

4) Sa-ngasang, A., Anantapreecha, S., A-nuegoonpipat, A., Chanama, S., Wibulwattanakij, S., Pattanakul, K., Sawanpanyalert, P. and Kurane, I.: Specific IgM and IgG responses in primary and secondary dengue virus infections determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Epidemiology and Infection 134: 820-825, 2005

5) Mizutani, T., Fukushi, S., Iizuka, D., Inanami, O., Kuwabara, M., Takashima, H., Yanagawa, H., Saijo, M., Kurane, I. and Morikawa, S.: Inhibition of cell proliferation by SARA-CoV infection in Vero E6 cells. FEMS Immunology and Medical Microbiology 46: 236-243, 2006

6) Mizutani, T., Fukushi, S., Saijo, M., Kurane, I. and Morikawa, S.: Regulation of p90RSK phosphorylation by SARS-CoV infection in Vero E6 cells. FEBS Letters 580: 1417-1424, 2006

7) Endoh, D., Mizutani, T., Kirisawa, R., Maki, Y., Saito, H., Kon, Y., Morikawa, S., Hayashi, M.: Species-independent detection of RNA virus by representational difference analysis using non-ribosomal hexanucleotides for reverse transcription. Nucleic Acids Research. 33: e65. 2005.

8) Goto, A., Yoshii, K., Obara, M., Ueki, T., Mizutani, T., Kariwa, H. and Takashima, I.: Role of the N-linked glycans of the prM and E envelope proteins in tick-borne encephalitis virus particle secretion. Vaccine. 23: 3043-3052, 2005.

9) Mizutani, T., Fukushi, S., Saijo, M., Kurane, I. and Morikawa, S.: JNK and PI3K/Akt signaling pathways are required for establishing persistent SARS-CoV-infection in Vero E6 cells. Biochimica et Biophysica Acta. 1741: 4-10, 2005.

10) 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.

11) Saijo, M., Suzutani, T., Morikawa, S., Kurane, I.: Genotypic characterization of the DNA polymerase and sensitivity to antiviral compounds of foscarnet-resistant herpes simplex virus type 1 (HSV-1) derived from a foscarnet-sensitive HSV-1 strain. Antimicrob Agents Chemother. 49(2): 606-11, 2005

12) Saijo, M., Ogino, T., Taguchi, F., Fukushi, S., Mizutani, T., Notomi, T., Kanda, H., Minekawa, H., Matsuyama, S., Hoang T.L., Nguyen T.H.H., 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(2): 181-186, 2005.

13) Saijo, M., Niikura, M., Maeda, A., Kurane, I., Sata, T., Kurata, T., 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: 111-118, 2005.

14) Hatakeyama, S., Moriya, K., Saijo, M., Morisawa, Y., Kurane, I., Koike, K., Kimura, S., and Morikawa, S. : Persisting humoral antiviral immunity among the Japanese population after the discontinuation in 1976 of routine smallpox vaccinations. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 12(4): 520-524, 2005.

15) 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, 66:159-63, 2005.

16) Ohnishi, K., Sakaguchi, M., Kaji, T., Akagawa, K., Taniyama, T., Kasai, 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. Japanese Journal of Infectious Diseases. 58: 88-94, 2005.

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

18) Matsuyama, S., Ujike, M., Morikawa, S., Tashiro, M. and Taguchi, F.: Protease-mediated enhancement of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:12543-12547, 2005.

19) Morikawa, S., Sakiyama, T., Hasegawa, H., Saijo, M., Maeda, A., Kurane, I., Maeno, G., Kimura, J., Hirama, C., Yoshida, T., Asahi-Ozaki, Y., Sata, T., Kurata, T. and Kojima, A.: An Attenuated LC16m8 Smallpox Vaccine: Analysis of Full-Genome Sequence and Induction of Immune Protection. Journal of Virology. 79: 11873-11891, 2005.

20) Tang Q, Zhao XQ, Wang HY, Simayi B, Zhang YZ, Saijo M, Morikawa S, Liang GD, Kurane I. : Molecular epidemiology of Xinjiang hemorrhagic fever viruses. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi. 19(4):312-318, 2005 (in Chinese)

21) Okada, K., Nakae, N., Kuramochi, K., Yin, S-A., Ikeda, M., Takami, S., Hirata, T., Goryo, M., Numakunai, S., Takeshima, S., Takahashi, M., Tajima, S., Konnai, S., Onuma, M. and Aida, Y.: Bovine leukemia virus high Tax molecular clone experimentally induces leukemia/lymphoma in sheep.

Journal of Veterinary Medical Science. 67: 1231-1235, 2005.

22) Nukui, Y., Tajima, S., Kotaki, A., Ito, M., Takasaki, T., Koike, K. and Kurane, I.: Novel dengue virus type 1 from travelers to Yap state, Micronesia. Emerging Infectious Diseases. 12: 343-346, 2006.

23) Tajima, S., Nukui, Y., Ito, M., Takasaki, T. and Kurane, I.: Nineteen nucleotides in the variable region of 3' non-translated region are dispensable for the replication of dengue type 1 virus in vitro. Virus Research. 116: 38-44, 2006.

24) Matsuo, E., Tani, H., Lim, C.K., Komoda, Y., Okamoto, T., Miyamoto, H., Moriishi, K., Yagi, S., Patel, A.H., Miyamura, T., Matsuura, Y.: Characterization of HCV-like particles produced in a human hepatoma cell line by a recombinant baculovirus. Biochem Biophys Res Commun. 340(1): 200-208, 2006

25) Nawa M, Takasaki T, Ito M, Inoue S, Morita K, Kurane I. Immunoglobulin A antibody responses in dengue patients: a useful marker for serodiagnosis of dengue virus infection. Clin. Diag. Lab. Immunol. 12(10) 1235-1237. (2005)

26) Tajima, S. and Aida, Y.: Induction of expression of bovine leukemia virus (BLV) in blood taken from BLV-infected cows without removal of plasma. Microbes and Infection. 7: 1211-1216, 2005.

27) Okada, K., Nakae, N., Kuramochi, K., Yin, S-A., Ikeda, M., Takami, S., Hirata, T., Goryo, M., Numakunai, S., Takeshima, S., Takahashi, M., Tajima, S., Konnai, S., Onuma, M. and Aida, Y.: Bovine leukemia virus high Tax molecular clone experimentally induces leukemia/lymphoma in sheep. Journal of Veterinary Medical Science. 67: 1231-1235, 2005.

28) Ito-Takayama, M., Inoue, K., Shoji, Y., Inoue, S., Iijima, T., Sakai, T., Kurane, I., Morimoto, K. : A highly attenuated rabies virus HEP-Flury strain reverts to virulent by single amino acid substitution to atginine at position 333 in glycoprotein. Virus Research. 119: 208-215, 2006

29) Khawplod, P., Shoji, Y., Ubol, S., Wilde, H., Mitmoonpitak, C., Nishizono, A., Kurane, I., Morimoto, K.: Genetic analysis of dog rabies viruses circulating in Bangkok. Infection, Genetics and Evolution. 6: 235-240, 2006

30) Nakamichi, K., Saiki, M., Sawada, M., Yamamuro, Y., Morimoto, K., Kurane, I.: Double-stranded RNA stimulates chemokine expression in microglia through vacuolar pH-dependent activation of intracellular signaling pathways. Journal of Neurochemistry. 95: 273-283, 2005

31) Nakamichi, K., Saiki M, Sawada, M., Takayama-Ito, M., Yamamuro, Y., Morimoto, K., Kurane, I.: Rabies virus-induced activation of mitogen-activated protein kinase and NF-kappaB signaling pathways regulates expression of CXC and CC chemokine ligands in microglia. Journal of Virology. 79: 11801-11812, 2005

32) Morimoto, K., Shoji, Y., Inoue, S.: Characterization of P gene-deficient rabies virus. The propagation, pathogenicity and immunogenicity. Virus Research. 111: 61-67, 2005

33) Gotoh, E., Tanno, Y.: Simple biodosimetry method for cases of high-dose radiation exposure using the ratio of the longest/shortest length of Giemsa-stained drug-induced prematurely condensed chromosomes (PCC). Int J Radiat Biol. 81(5): 379-385, 2005

34) Nozawa, N., Kawaguchi, Y., Tanaka, M., Kato, A., Kato, A., Kimura, H. and Nishiyama, Y.: Herpes simplex virus type 1 UL51 protein is involved in maturation and egress of virus particles. J Virol. 79:6947-56, 2005

35) Kitamura, R., Sekimoto,T., Ito, S., Harada, S., Yamagata, H., Masai, H., Yoneda, Y., and Yanagi, K. Nuclear import of Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 mediated by NPI-1 (Importin alpha5) is up- and down-regulated by phosphorylation of the nuclear localization signal for which Lys379 and Arg380 are essential. J Virol. 80: 1979-91, 2006.

36) Mochida, A., Gotoh, E., Senpuku, H., Harada, S., Kitamura, R., Takahashi, T. and Yanagi, K. Telomere size and telomerase activity in Epstein-Barr virus (EBV)-positive and EBV-negative Burkitt's lymphoma cell lines. Arch Virol. 150:2139-50, 2005.

37)Yamazaki, T., Inoue, M., 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

38) Setiyono, A., Ogawa, M., Cai, Y., Shiga, S., Kishimoto, T., Kurane,I.: New criteria for immunofluorescence assay for Q fever diagnosis in Japan. J.Clin. Microbiol. 43:5555-5559, 2005

39) 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. Immunol. Med. Microbiol.

43: 21-27, 2005

40) Yamano, H., Yamazaki, T., Sato, K., Shiga, S., Hagiwara, T., Ouchi, K., Kishimoto, T.: In vitro inhibitory effects of Hinokitiolon proliferation of *Chlamydia trachomatis*. J.Antimicrob.Chemother. 49:2519-2521,2005

41) Kishimoto, T., Ogawa, M., Cai, Y., Shiga, S., Tabara, K., Itagaki, A., Nitta, N., Matsui, T., Nakashima, K., Fukushi, H., Matsumoto, A.:Case study : Epidemic outbreak of psittacosis at a bird display facility. In Proceedings of the Third joint auspices of Japan Society for Chlamydia Research and Department of Pathobiology, University of Washington (Edited by Kishimoto T., Yamazaki, T., Kuo, CC.), p.32-35, Life Science Co., Ltd., Tokyo, 2005

42) Yamazaki, T., Itoh, A., Uehara, S., Sasaki, N., Kishimoto, T., Izutsu, H., Kawagoe, K., Mashida, C.: Detection of *Chlamydia penumoniae* by polymerase chain reaction method from sputum of children with respiratory infection. In Proceedings of the Third joint auspices of Japan Society for Chlamydia Research and Department of Pathobiology, University of Washington (Edited by Kishimoto T., Yamazaki, T., Kuo, CC.), p.22-24, Life Science Co., Ltd., Tokyo, 2005

43) Ouchi, K., Kamesaki, S., Yamazaki, T., Ogawa, M., Shiga, S., Kishimoto, T.: Short-term effect of azithromycin on severity of asthma attacks in pediatric patients. In Proceedings of the Third joint auspices of Japan Society for Chlamydia Research and Department of Pathobiology, University of Washington (Edited by Kishimoto T., Yamazaki, T., Kuo, CC.), p.25-27, Life Science Co., Ltd., Tokyo, 2005.

44) Oguchi, S., Nosaka, T., Kishimoto, T., Oushi, K., Sakamaki, T., Kanmatsuse, K.: Infection with *Chlamydia pneumoniae* increases neointimal formation after injury and treatment with clarithromycin prevents it in a murine model. In Proceedings of the Third joint auspices of Japan Society for Chlamydia Research and Department of Pathobiology, University of Washington (Edited by Kishimoto T., Yamazaki, T., Kuo, CC.), p.43-45, Life Science Co., Ltd., Tokyo, 2005

45) Matsumoto, T., Matsumura, K., Anwar, KS., Mollah, AH., Murakami, H., Kobayashi, I., Kawagoe, K., Shiga, S., Kishimoto, T., Nahar, N.,Tateda, K., Yamaguchi, K.: Prevalence of *Chlamydophila pneumoniae* among Bangladeshi children under age 5 years with acute respiratory infection.J Infect Chemother.12:139-144,2005

46) Yamazaki, T., Kishimoto, T., Shiga, S., Sato, K., Hagiwara, T., Inoue, M., Sasaki, N., Ouchi, K., Hara, Y.: Biosynthesized tea polyphenols inactivate *Chlamydia trachomatis* in vitro. Antimicrob. Agents Chemother., 49: 2501-2503, 2005

47) Yamazaki, T., Hagiwara, T., Kishimoto, T., Sasaki, N., Takahashi, S., Ishihara, O., Wangroongsarb, P., Kusum, M., Sirivongrangsan, P.: Distribution of *Chlamydia trachomatis* serovars among female prostitutes and non-prostitutes in Thailand, and non-prostitutes in Japan during the mid-90s. Jpn. J. Infect. Dis. 58: 211-213, 2005

48) Yamazaki, T., Yamaguchi, T., Inoue, M., Ohtake, A., Sasaki, N., Inoue, M., Sato, K., Ouchi, K., Kishimoto, T.: The inhibitory effect of antihyperlipidemic drugs on the growth of *Chlamydia pneumoniae* in vitro. J. Chemother., 18: 107-109, 2006

49) Yamazaki, T., Yamaguchi, T., Sasaki, N., Inoue, M., Sato, K., Kishimoto, T.: The inhibitory effect of disodium cromoglycate on the growth of *Chlamydophila* (*Chlamydia*) *pneumoniae* in vitro. Biol. Pharm. Bull., 29: 799-800, 2006

2．和文発表

1）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．ウイルス　55(1)：63-68，2005

2）根路銘玲子、倉根一郎：日本脳炎ワクチン．日本臨床（増刊　Ⅳ．ワクチンによる免疫療法）　63：647-653，2005

3）倉根一郎：ウエストナイル熱・脳炎　臨床神経学　45(11)：884-886，2005

4）永安聖二、戸梶彰彦、森山ゆり、千屋誠造、小滝　徹、高崎智彦、倉根一郎：日本脳炎流行予測調査に用いた豚血清からの日本脳炎ウイルスの分離と遺伝子解析．高知衛研報　51:29-31，2005

5）倉根一郎：マウス脳由来不活化日本脳炎ワクチンの評価．ウイルス 55(2)：307-312．2005

6）森川　茂：ウイルス性出血熱．Modern Physician 25(5): 508-512 2005

7）西條政幸：天然痘とヒトサル痘．小児科診療 68:2274-2277, 2005

8）西條政幸：ウイルス性出血熱の臨床．日本臨床 63:2161-2166, 2005

9）西條政幸：エボラ出血熱とマールブルグ出血熱．Biophilia 1:51-56, 2005

10）西條政幸：新興・再興ウイルス感染症．小児感染免疫17:225-229, 2005

11）西條政幸：エボラ出血熱、マールブルグ出血熱、ラッサ熱、クリミア・コンゴ出血熱. Virus Report 2:20-26, 2005

12）西條政幸：サビアウイルス．日本臨床63増刊号(7):393-396, 2005
13）西條政幸：今話題の新興・再興ウイルス感染症．地域と住民（市立名寄短期大学道北地域研究所）24:97-106, 2006
14）水谷哲也：SARS コロナウイルスに関する最新の研究　「Medical Science Digest」31(1), 13-18. 2005.　ニューサイエンス社
15）福士秀悦：SARS（重症急性呼吸器症候群）（２）～SARS コロナウイルス～　遺伝 59 巻 5 号；46−49, 2005
16）福士秀悦：SARSコロナウイルス　遺伝子医学−遺伝子診断の進歩と遺伝子治療の展望　日本臨床63巻増刊号12；３366−371，2005
17）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
18）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
19）森川 茂：サル痘、朝倉書店「感染症」2005
20）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
21）牛島廣幸、西條政幸：微生物学．医学芸術社、東京、2005
22）西條政幸：ラッサ熱．P132-133，2005，東京都福祉保険局健康安全感染症対策課、東京
23）西條政幸：ウイルス性出血熱．感染症マニュアル，p134-135，2005，東京都福祉保険局健康安全感染症対策課，東京
24）西條政幸：ウイルス性出血熱．感染症予防必携第2版，p132-135，2005，財団法人日本公衆衛生協会，東京
25）西條政幸：クリミア・コンゴ出血熱．感染症の辞典 p78-79，2005，国立感染症研究所学友会（朝倉書店）東京
26）西條政幸：SARSウイルス、SARSコロナウイルス、西ナイルウイルス、西ナイル脳炎　南山堂医学大辞典 南山堂　東京
27）西條政幸：エボラ出血熱、クリミア・コンゴ出血熱、マールブルグ出血熱、痘瘡・ヒトサル痘、ラッサ熱、黄熱、狂犬病およびリッサウイルス感染症、HFRSとHPS、Bウイルス感染症、ニパウイルス感染症．ネオエスカ p62-67　2005　同文書院　東京
28）西條政幸：ウイルス性出血熱．今日の治療指針2006，p133-134，2006，医学書院　東京
29）小泉加奈子、中島由紀子、松崎真和、小井戸則彦、大曽根康夫、林　昌宏、高崎智彦、倉根一郎、秋月哲史：本邦で初めて確認されたウエストナイル熱の輸入症例　感染症学雑誌　80(1):56-57, 2006
30）鳥居明子、月館幸一、原田勝代、高崎智彦：来日後にデング出血熱を発症した４歳男児例．日本小児科学会雑誌．109(9) 1127-1131 (2005)
31）伊藤美佳子、高崎智彦：広範囲血液・尿化学検査・免疫学的検査－デングウイルス．日本臨床　63(増刊号7)：313-317（2005）
32）根路銘令子、高崎智彦：広範囲血液・尿化学検査・免疫学的検査－日本脳炎ウイルスおよびその他のフラビウイルス．日本臨床　63(増刊号 7)：313-317（2005）
33）田島　茂、高崎智彦：ウエストナイル熱　化学療法の領域 21: 1441-1447, 2005.
34）林　昌宏、倉根一郎：黄熱　Modern Physician 25(5)：527-530，2005
35）林　昌宏、高崎智彦：フラビウイルス脳炎-ウエストナイルウイルスを中心に-　臨床病理　53(8): 721-727, 2005
36）林　昌宏、倉根一郎：ウエストナイルウイルス　日本臨床　63 Suppl 7:321-323, 2005
37）林　昌宏、高崎智彦：ウエストナイル熱/脳炎　遺伝 59(5):37-42, 2005
38）林　昌宏、倉根一郎：デング熱・デング出血熱　化学療法の領域，21(10):1433-1440, 2005
39）林　昌宏、倉根一郎：ウエストナイルウイルスに関する最新の知見と対策　山口獣医学雑誌　32:1-12, 2005
40）高崎智彦：日本の予防接種・海外の予防接種－定期接種対象疾患：日本脳炎ワクチン．臨床と微生物 32(5)：461-465, 2005
41）高崎智彦：特集：動物由来感染症　臨床研究と展望 ウエストナイル熱．日本臨床 63(12)：2127-2132, 2005
42）高崎智彦：Lobby 日本脳炎．からだの科学 245(11) 112, 2005
43）高崎智彦：話題の感染症－ウエストナイルウイルスの生態とその現状について．JAEAT NEWS（日本実験動物技術者協会広報）29;9－10, 2005
44）森本金次郎、伊藤（高山）睦代：狂犬病ワクチン　日本臨床　増刊　臨床免疫（下）－基礎研究の進歩と最新の臨床－　63 巻増刊号 5　654－658　日本臨床社 2005
45）井上直樹、野澤直樹：HCMV のゲノム構造と遺伝子機能　日本臨床　64 巻増刊号 3:377-385，2006
46）野澤直樹、井上直樹：CMV の先天性感染機構　日本臨床　64 巻増刊号 3:446-450, 2006
48）原田志津子：EBV と細胞内シグナル伝達　日本臨

床　64 巻増刊号 3:552-557, 2006
48）岸本寿男、安藤秀二、小川基彦：免疫学的検査　非ウイルス性感染症関連検査　オウム病. 日本臨床 63：247－249，2005
49）岸本寿男、安藤秀二、小川基彦：非定型肺炎の診療最近の話題　クラミジア肺炎　日本胸部臨床 64：787-798，2005
50）岸本寿男、安藤秀二、小川基彦：肺炎クラミジア感染症と動脈硬化　日本医事新報 4254：25-32，2005
51）岸本寿男、安藤秀二、小川基彦：日常診療においてよく見られる肺炎　クラミジア肺炎　日本内科学会雑誌 94：2267-2274，2005
52）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
53）岸本寿男、安藤秀二、小川基彦：オウム病および Q 熱－診断における現状と課題　カレントテラピー24：98-100，2006
54）海部春樹、飯田国洋、植木信介、江原裕子、島崎裕子、渡辺幸子、安西　仁、武部和歌子、牟田隆也、草葉照代、岸本寿男、安藤秀二：家族全員が肺炎を呈したオウム病感染事例－長崎市．病原微生物検出情報 26：211－212，2005
55）寺井志保、及川圭介、菅原和彦、枝　幸基、大浪亜希子、高橋信孝、宮崎敦史、矢島義明、長沼　廣、安藤秀二、岸本寿男：クラミジア直腸炎の１例　胃と腸 40：931-936，2005
56）浜　喜和、坂東憲生、大谷稔男、安藤秀二、岸本寿男、倉根一郎、和田圭司、田中　勝、島　幸宏：日本紅斑熱の 2 例　和歌山医学 56：220-223，　2005

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1) Fukushi, S., Mizutani, T., Saijo, M., Matsuyama, S., Taguchi, F., Kurane, I., and Morikawa, S.　Pseudotyped vesicular stomatitis virus for functional analysis of SARS-CoV spike protein. Xth International Nidovirus Symposium: Toward control of SARS and other Nidovirus diseases.　Colorado Springs, CO.　June 25-30, 2005

2) Mizutani, T., Fukushi, F., Saijo, M., Kurane, I. and Morikawa, S.　Characterization of persistent SARS-CoV-infection in Vero E6 cells. Xth International Nidovirus Symposium: Toward control of SARS and other NIdovirus diseases.　Colorado Springs, CO.　June 25-30, 2005

3) Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Asahi-Ozaki, Y., Sato, Y., Harashima, A., Morikawa, S., Saijo, M., Itamura, S., Saito, T., Odagiri, T., Tashiro, M., Ami, Y., and Sata, T.　Pathological and virological analyses of SARS-CoV infections in experimental animals. Xth International Nidovirus Symposium: Toward control of SARS and other NIdovirus diseases.　Colorado Springs, CO.　June 25-30, 2005

4) Okada, M., Takemoto, Y., Okuno, Y., Hashimoto, S., Fukunaga, Y., Tanaka, T., Kita, Y., Kanamaru, N., Takai, H., Sakaguchi, Y., Furukawa, I., Izumiya, M., Yoshida, S., Matsumoto, M., Kase, T., Peiris, JSM., deMello, DE., Chen, PJ., Yamamoto, N., Yoshinaka, Y., Nomura, T., Ishida, I., Morikawa, S., Tashiro, M. and Sakatani, M.　Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS coronavirus using mouse and scid-pbl/hu mouse models. Xth International Nidovirus Symposium: Toward control of SARS and other NIdovirus diseases.　Colorado Springs, CO.　June 25-30, 2005

5) Ishii, K., Yokota, K., Takemori, T., Hasegawa, H., Mizutani, T., Morikawa, S., Taguchi, F. and Miyamura, T.　Highly attenuated vaccinia virus DIs as a poteitial SARS vaccine. Xth International Nidovirus Symposium: Toward control of SARS and other NIdovirus diseases.　Cheystonne Mountain Resort, Colorado Springs, CO.　June 25-30, 2005

6) Zamoto, A., Taguchi, F., Fukushi, S., Morikawa, S. and Yamada, YK. Identification of ferret ACE2 and its receptor function for SARS-CoV.　Xth International Nidovirus Symposium: Toward control of SARS and other NIdovirus diseases.　Cheystonne Mountain Resort, Colorado Springs, CO.　June 25-30, 2005

7) Saijo, M., Ami, Y., Nagata, N., Hasegawa, H., Fukushi, S., Mizutani, T., Iwata, N., Suzaki, Y., Sata, T., Kurane, I., Morikawa, S. : Highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, protects monkeys from monkeypox. XIIIth International Congress of Virology, 2005 July, San Francisco, CA, USA

8) Saijo, M., Ami, Y., Nagata, N., Hasegawa, H., Fukushi, S., Mizutani, T., Iwata, N., Suzaki, Y., Sata, T., Kurane, I., Morikawa, S. : Protection of non-human primates from monkeypox by highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, that lacks expression of B5R membrane protein. US-Japan Cooperative Medical Science Program 39th Virology Panel Meeting, 2005 July, Pal Alto, CA, USA

9) Yokote, H., Shinmura, Y., Kanehara, T., Ohkuma, K., Oka, T., Funatsu, A., Morikawa, S., Saijo, M., Kurane, I., Kutata, T., Hashizume, S.: Safety and efficacy study of attenuated

smallpox vaccine LC16m8 in animals. ASM Biodefence Research Meeting, February 2006, Washington DC, USA

10) Ito, M., Takasaki, T., Kotaki, A., Tajima, S., Lim, C. K., Nerome, R., and Kurane, I: Dengue Outbreak in East Timor in 2005: Emergence of Dengue Virus Type 3. Thirty-ninth Joint Working Conference on Viral Diseases. The US-Japan Cooperative Medical Science Program at Washington, U.S.A. July 2005

11) Tajima, S., Nerome, R., Takasaki, T. and Kurane, I.: Molecular epidemiology of Japanese encephalitis virus in Japan. Japan-Taiwan symposium on zoonotic diseases. Tokyo September 7-8, 2005.

12) Takasaki, T.: Development and standardization of West Nile virus IgM capture enzyme-lynked immunosorbent assay: Discrimination between West Nile virus and Japanese encephalitis virus infections in Japanese encephalitis-endemic area.2nd Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases. Tokyo September 7-8, 2005

13) Tajima, S., Nukui, Y., Takasaki, T. and Kurane, I: Identification and characterization of deletion in the variable region located in 3' non-translated region of dengue type 1 virus. 2nd Asian regional dengue research network meeting. Singapore. September 28-30, 2005.

14) Lim, C.K., Takasaki, T., Kotaki, A., Nerome, R., Ito, M., Tajima, K., Morita, T., Ishikawa, T., Kurane, I. Mouse Antibody Response to Inactivated West Nile and Inactivated Japanese Encephalitis Vaccine for Immunization against West Nile virus and other Flaviviruses. 7th National Conference on West Nile Virus in the United States. San Francisco, U.S.A. February 23-24, 2006.

15) Matsuura, Y., Komoda, Y., Tani, H., Lim, C.K., Suzuki, K., Matsuo, E., Tsuda, Y., Moriishi, K., Patel, A., Miyamura, T. Human fibroblast growth factor receptor 5 is a novel candidate entry receptor for HCV. 12th International Symposium on Hepatitis C & Related Viruses. Montréal, Canada. October 2-6, 2005.

16) Matsuura, Y., Nakai, K., Moriishi, K., Lim, C.K., Okamoto, T., Suzuki, T., Nunberg, J., Miyamura, T. Multimerization of HCV core protein is required for the interaction with the cytoplasmic region of E1 protein. 12th International Symposium on Hepatitis C & Related Viruses. Montréal, Canada. October 2-6, 2005.

17) Matsuura, Y., Komoda, Y., Yamashita. T., Suzuki, K., Matsuo, E., Hamamoto, I., Tsuda, Y., Lim, C.K., Moriishi, K., Patel, A., Miyamura, T., Tani, H. Cell tropism of pseudotype VSV bearing HCV envelope proteins expressed in different cell lines. 12th International Symposium on Hepatitis C & Related Viruses. Montréal, Canada. October 2-6, 2005.

18) Morimoto, K., Khawplod, P., Wilde, H., Nishizono, A., Kurane I.: A rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) using a recombinant rabies virus expressing GFP. 39th US-Japan Joint Working Conference on Viral Diseases, Palo Alto, California, July 29-30, 2005

19) Nozawa, N., Katano, H., Nakamura, K., Fukui, Y., Yamamoto, Y., Tsutsui, Y., Kurane, I. and Inoue, N.: Construction and application of a recombinant guinea pig cytomegalovirus expressing green fluorescent protein for analyses of the mechanisms of congenital cytomegalovirus infection. 30th International Herpesvirus Workshop. Turku, Finland. July 30-August 5, 2005

20) Fukui, Y., Yamamoto, Y., Yanagi, M., Nozawa, N., Kurane, I. and Inoue, N.: Establishment of a sensitive reporter cell line for human cytomegalovirus. 30th International Herpesvirus Workshop. Turku, Finland. July 30-August 5, 2005

21) Nozawa, N., Katano, H., Nakamura, K., Fukui, Y., Yamamoto, Y., Tsutsui, Y., Kurane, I. and Inoue, N.: Molecular and pathological characterization of guinea pig cytomegalovirus infection. 12th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. Osaka, Japan, October 6-8, 2005

22) Nozawa, N., Suzutani, T., Omori, K., Koyano, S., Fukui, Y., Baba, Y., Ogawa, H., Yamamoto, Y., Yanagi, M., Komura, H., Kurane, I. and Inoue, N.: Development of novel diagnostic assays for human cytomegalovirus (HCMV) infection and their applications. 12th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. Osaka, Japan, October 6-8, 2005

23) Wang, G. Q., Yamamoto, Y., Fukui, Y., Nozawa, N., Takayama, M., Schmid, D. S., Kurane, I. and Inoue, N.: Characterization of VZV promoters and development of reporter cell lines for VZV. 12th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. Osaka, Japan, October 6-8, 2005

24) Harada, S., Kato, M., Hirata, A. and Kurane, I.: Epstein-Barr virus nuclear protein EBNALP is critical for maintaining lymphoblastoid cell line growth. 12th International conference on Immunobioligy and prophylaxis of human herpesvirus infections. Osaka, Japan, October 6-8, 2005

25) Kitamura, R., Sekimoto, T., Ito, S., Harada, S., Yamagata,

H., Masai, H., Yoneda, Y. and Yanagi, K.: Ser-phosphorylation of the nuclear localization signal sequence of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 regulates nuclear import efficiency by modulating its affinity to NPI-1 (importin alpha5). 12th International conference on Immunobioligy and prophylaxis of human herpesvirus infections. Osaka, Japan, October 6-8, 2005

26) Kishimoto, T., Ando, S., Ogawa, M.: Laboratory diagnosis and surveillance of Q fever in Japan. Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases. Tokyo, Japan. September 7-8, 2005

27) Ando, S., Ogawa, M., Kishimoto, T.: Laboratory diagnosis and surveillance of scrub typhus in Japan. Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases. Tokyo, Japan. September 7-8, 2005

28) Takagi, H., Tomita, Y., Shinohara, K., Ando, S., Sugiyama, K.: Safety method for genome isolation of B. anthracis spores using decontamination by chemical disinfectants. 48th Annual Biological Safety Conference. Vancouver, Canada. October 23-26, 2005

29) Takano, A., Kishimoto, T., Ando, S., Sato, K., Arakawa, K., Ogawa, M., Nogami, S., Kawabata, H., Fujita, H.: Prevalence of Borrelia, Ehrlichia and Rickettsia in ticks (Acari:Ixodidae), Japan. The 1st Scientific Meeting of the Asian Zoo and Wildlife Medicine. Bangkok, Thai. October 28-30, 2005

30) Yamazaki, T., Kishimoto, T., Takemura, H., Ogawa, M., Ando, S., Sato, K., Inoue, M.: Intracellular permeability and inhibitory effect of telithromycin in clinical isolates of *Chlamydophila pneumoniae* in Japan. 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents & Chemotherapy ICAAC. Washington DC, U.S.A. December 16-19, 2005

2．国内学会

1）倉根一郎：新型日本脳炎ワクチンの開発状況．日本小児神経学会関東地方会　東京都　2005 年 9 月 17 日

2）西條政幸、網　康至、永田典代、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(続報)第53回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2005年11月

3）西條政幸（シンポジスト）：第14回国際医療協力シンポジウム・国際協力医学研究振興財団　東京　2005年11月

4）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コロナウイルス感染細胞におけるリン酸化Aktの重要性．第53回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2005年11月

5）福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川　茂：VSV シュードタイプを用いた SARS-CoV 感染の解析　第５３回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2005 年 11 月

6）福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、森川　茂：SARS-CoV スパイクタンパク質と ACE2 の相互作用の VSV シュードタイプを用いた解析　第 28 回日本分子生物学会年会　福岡　2005 年 12 月

7）長野佑基、佐藤朝光、水谷哲也、江下優樹、宮田健、鹿志毛信広、見明史雄：Aedes 属に対する mitogen-activated protein kinase family阻害剤の致死効果．　第57回日本衛生動物学会大会　札幌市　2005年6月1- 3日

8）長野佑基、佐藤朝光、水谷哲也、江下優樹、宮田健、鹿志毛信広、見明史雄：Aedes 属に対する mitogen-activated protein kinase family阻害剤の致死効果　第22回日本薬学会九州支部大会　福岡市　2005年12月10-11日

9）遠藤大二、水谷　哲也、桐沢力雄、斎藤秀俊、牧与志之、森川　茂、昆　泰寛、林　正信：遺伝子配列上のオリゴマー配列パターン解析を利用した新興ウイルス検出技術．　第 140 回日本獣医学会　鹿児島市　2005 年 9 月 29 日-10 月 2 日

10）桑山　勝、高崎智彦、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：小児髄膜炎患者からの日本脳炎ウイルス遺伝子の検出.第 79 回日本感染症学会　名古屋市　2005 年 4 月

11）朝日博子、泉山信司、高崎智彦、遠藤卓郎：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．第 74 回日本寄生虫学会大会　米子市　2005 年 4 月 8-9 日

12）星野啓太、伊澤晴彦、佐々木年則、津田良夫、比嘉由紀子、高崎智彦、小滝　徹、小林睦生、矢野和彦、澤邉京子：本邦生息蚊類が保有するウイルスの検出およびその性状解析．第 40 回日本脳炎ウイルス生態学研究会　箱根　2005 年 5 月

13）高崎智彦、根路銘令子、桑山　勝、内田陽三、西浦哲雄、松田俊二、倉根一郎：倉橋島におけるウイルス関連血球貪食症候群（virus associated hemophagocytic syndrome: VAHS)症例における日本脳炎抗体．第 40 回日本脳炎ウイルス生態学研究会　箱根　2005 年 5 月

14）江下優樹、上田泰史、水田英生、多森直樹、東原絢

子、安西三郎、Hamady Dieng、高崎智彦、内田幸憲、高島郁夫、倉根一郎：ウエストナイルウイルスに対するイナトミシオカの感受性．第 40 回日本脳炎ウイルス生態学研究会　箱根　2005 年 5 月

15）高崎智彦、林　昌宏、沢辺京子、岸　昇、桑山　勝、倉根一郎：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　第 40 回日本脳炎ウイルス生態学研究会　箱根　2005 年 5 月 26-27 日

16）西川由紀、武井秀信、長田陽介、小林和郎、徳永　毅、湊　志仁、椎貝達夫、竹内　章、 高崎智彦：肝障害を合併したデング熱の一例．第 527 回日本内科学会関東地方会例会　東京　2005 年 6 月

17）高崎智彦、倉根一郎：無血清培地を用いた日本脳炎ワクチンの製造法に関する研究．第 9 回日本ワクチン学会　大阪　2005 年 10 月

18）佐藤　弘、多屋馨子、新井　智、高崎智彦、倉根一郎：ヒトおよびブタにおける全国の日本脳炎抗体保有状況（感染症流行予測調査事業より）．第 9 回日本ワクチン学会　大阪　2005 年 10 月

19）細川隆史、中島秀人、佐藤智彦、藤村智恵子、石田志門、古玉大介、杉野正一、木村文治、花房俊昭、高崎智彦：髄液から日本脳炎ウイルスが検出された無菌性髄膜炎の 1 例．第 10 回日本神経感染症学会　東京　2005 年 10 月

20）伊藤美佳子、高崎智彦、小滝　徹、田島　茂、根路銘令子、林　昌宏、倉根一郎：東ティモールにおけるデング熱/出血熱流行に関する系統学的および血清学的解析　第５３回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

21）田島　茂、高崎智彦、倉根一郎：デング１型ウイルス 3’ 非翻訳領域内 variable 領域の機能解析　第５３回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

22）石川知弘、田島　茂、根路銘令子、桑山　勝、高崎智彦、倉根一郎、小西英二：最近の日本脳炎ウイルス分離株に見られる 3 ’-非翻訳領域の欠失が引き起こす培養細胞におけるウイルス増殖抑制．第 53 回日本ウイルス学会　横浜　2005 年 11 月

23）林　昌宏、高崎智彦、根路銘令子、伊藤美佳子、田島　茂、森田公一、石川豊数、倉根一郎：ウエストナイル不活化ワクチンの日本脳炎血清型群ウイルスに対する交差反応の検討　第 53 回日本ウイルス学会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

24）菰田泰正、谷　英樹、林　昌宏、鈴木健介、松尾栄子、津田祥美、森石恆司、宮村達男、松浦善治：ヒト線維芽細胞増殖因子受容体 5 は HCV シュードタイプ VSV の侵入受容体である　第 53 回日本ウイルス学会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

25）谷　英樹、菰田泰正、山下哲生、鈴木健介、松尾栄子、浜本いつき、津田祥美、林　昌宏、森石恆司、考藤達哉、林　紀夫、宮村達男、松浦善治：HCV エンベロープ蛋白質を被ったシュードタイプ VSV の感染機構　第 53 回日本ウイルス学会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

26）松崎真和、中島由紀子、小泉加奈子、野崎博之、小井戸則彦、大曽根康夫、一條眞琴、秋月哲史、高崎智彦、倉根一郎：本邦で初めて確認されたウエストナイル熱の一例．第 532 回日本内科学会関東地方会例会　東京　2005 年 12 月

27）根路銘令子：Molecular characterization of recent Japanese encephalitis virus swine isolates in Japan, belong to genotype I.　第 12 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会　東京　2006 年 1 月 20 日

28）高崎智彦：ウエストナイル熱・脳炎とその鑑別すべき疾患（特別講演）．第 234 回日本小児科学会東海地方会　名古屋　2006 年 2 月 12 日

29）濱野正敬、林　昌宏、高木弘隆、澤邊京子、桑山　勝、岸　昇、高崎智彦、倉根一郎：広島県内の野生イノシシにおける日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況，第 141 回日本獣医学会　2006 年 3 月 19-21 日

30）齊木めぐみ、澤田　誠、森本金次郎、山室　裕、倉根一郎、中道一生：Induction of chemokine expression in microglia through recognition of TLR3 ligand.　第 28 回日本神経科学大会　横浜 2005 年 7 月

31）中道一生、齊木めぐみ、澤田　誠、森本金次郎、山室　裕、倉根一郎：Chemokine response of microglia against neurotropic virus infection via activation of signal-transducing molecules.　第 28 回日本神経科学大会　横浜　2005 年 7 月

32）野沢直樹、片野晴隆、中村幸之助、福井良子、山本由美子、小村仁美、筒井祥博、倉根一郎、井上直樹：モルモットサイトメガロウイルス感染動物モデルを利用するための分子生物学的方法の構築　第 20 回ヘルペスウイルス研究会　愛知　2005 年 6 月 23-24 日

33）福井良子、山本由美子、柳　舞美、野澤直樹、倉根一郎、井上直樹：ヒトサイトメガロウイルス力価の迅速測定用レポーター細胞の樹立　第 20 回ヘルペスウイルス研究会　愛知　2005 年 6 月 23-24 日

34）野沢直樹、片野晴隆、筒井祥博、倉根一郎、井上直樹：モルモットサイトメガロウイルス感染動物モデルを

利用するための分子生物学的方法の構築と緑色蛍光蛋白質を発現する組換えウイルスの作製　第 53 回日本ウイルス学会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

35）井上直樹、野澤直樹、倉根一郎：ヒトサイトメガロウイルス（HCMV）及び水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の力価の迅速測定用レポーター細胞の樹立　第 53 回日本ウイルス学会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

36）野澤直樹、古谷野伸、片野晴隆、福井良子、山本由美子、中村幸之助、小村広美、筒井祥博、倉根一郎、井上直樹：先天性 CMV 感染による感覚器障害の実態把握及びモルモット感染モデル 第９回日本神経ウイルス研究会　福島　2005 年 6 月 9-11 日

37）原田志津子, 加藤美緒、平田顕恵：ＥＢウイルス潜伏感染核蛋白 EBNA-LP の機能解析：第２回 EB ウイルス研究会　大阪　2005 年 7 月

38）原田志津子：ＥＢウイルス核蛋白 EBNA-LP のリンパ芽球細胞増殖における機能。第 53 回日本ウイルス学会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

39）北村　亮、関元利博、伊藤さゆり、原田志津子、米田悦啓、柳　壹夫：EBV 核抗原１の核内移行には角輸送因子 NPI-1(importin alpha5)が認識する核局在シグナルの N 端 Lys-Arg が必須で Ser リン酸化が輸送速度を制御する。第 53 回日本ウイルス学会　横浜　2005 年 11 月 20-22 日

40）Shizuko Harada, Mio Kato, Tetsuro Arai, Akie Hirata: Epstein-Barr virus nuclear protein EBNALP is critical for maintaining lymphoblastoid cell line growth.　第 28 回日本分子生物学会年会　福岡　2005 年 12 月

41）Ryo Kitamura, Toshihiro Sekimoto, Sayuri Ito, Shizuko Harada, Hideo Yamagata, Hisao Masai,　Yoshihiro Yoneda, and Kazuo Yanagi：Nuclear import of Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 mediated by NPI-1 (importin alpha5) is up- and down-regulated by phosphorylation of the nuclear localization signal for which Lys379 and Arg380 are essential. 第 28 回日本分子生物学会年会　福岡　2005 年 12 月

42）村尾 航、瀬野祐子、上原慎也、門田晃一、狩山玲子、松本 明、公文裕巳、柳 陳堅, 蔡 燕、安藤秀二、小川基彦、岸本寿男、福士秀人：男性尿道炎患者より分離したクラミジアの性状解析.第 79 回日本感染症学会総会　名古屋　2005 年 4 月 13－15 日

43）中川善文、岸原康浩、鍋島茂樹、関口直孝、樋口野比斗、林　純、岸本寿男、安藤秀二：両側頚部に組織球性壊死性リンパ節炎を呈した*Chlamydia psittaci*感染症の一例　第 79 回日本感染症学会　名古屋　2005 年 4 月 13－15 日

44）岸本寿男:性器クラミジア感染症の現状.ランチョンセミナー　STD―クラミジア結膜炎の現状･診断･治療―.第 42 回日本眼感染症学会　横浜　2005 年 7 月 8-10 日

45）高野 愛、鶴見みや古、仲村 昇、佐藤文男、高橋 守、岸本寿男、安藤秀二、野上貞雄、川端寛樹、藤田博己：*Carios*属から見出された*Rickettsia*　第 13 回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー　静岡県下田市　2005 年 9 月 22－24 日

46）柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、蔡　燕、岸本寿男、福士秀人：Real-time PCR 法による動物由来クラミジア遺伝子検出法の開発　第 54 回日本感染症学会東日本地方会総会　東京都　2005 年 10 月 27－28 日

47）安藤秀二、小川基彦、重松美加、岸本寿男、山本徳栄：国内のリケッチア感染症の現状(2005 年)第 23 回日本クラミジア研究会・第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29－30 日

48）山本徳栄、近真理奈、山口正則、小川雅也、前野直弘、東　久、深井正之、板屋民子、斉藤利和、木村　弘、安藤秀二、小川基彦、岸本寿男：埼玉県内のイヌ，ネコにおける*Coxiella*属および*Rickettsia*属に対する血清抗体価　第 23 回日本クラミジア研究会・第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29－30 日

49）安藤秀二、高野　愛、鶴見みや古、仲村　昇、佐藤文男、高橋　守、岸本寿男、野上貞雄、川端寛樹、藤田博己：*Carios*属ダニの病原体ベクターとしてのリスク評価　第 23 回日本クラミジア研究会・第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29－30 日

50）西城卓也、堀江典克、胡　暁晨、伴信太郎、安藤秀二、古屋由美子、小川基彦、岸本寿男：慢性疲労を訴える患者における Q 熱リケッチア保菌の可能性に関する検討　第 23 回日本クラミジア研究会・第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29－30 日

51）安藤秀二、荒川香南子、小川基彦、柳　陳堅、佐藤梢、藤田　修、堀田明豊、宇田晶彦、棚林　清、岸本寿男：鶏卵からの Q 熱コクシエラ検出に関する研究(第 2 法)　第 23 回日本クラミジア研究会･第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29－30 日

52）岸澤有華、安藤秀二、渡部直己、三好正浩、上野弘志、岸本寿男：非常に高い抗体価を示し国内感染が示唆された急性 Q 熱症例　第 23 回日本クラミジア研究会･第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29－30 日

53）岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、沼崎　啓、尾内一信、山崎　勉、田中敏博、中浜　力：肺炎クラミジア血

清診断基準の見直しについて　第 23 回日本クラミジア研究会･第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29 - 30 日

54) 柳　陳堅、安藤秀二、小川基彦、蔡　燕、岸本寿男、福士秀人：Real-time PCR 法による動物由来クラミジア遺伝子検出法の開発　第 23 回日本クラミジア研究会･第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29 - 30 日

55）海部春樹、飯田國洋、植木信介、江原裕子、島崎裕子、渡邉幸子、安西　仁、武分和歌子、牟田隆也、草場照代、岸本寿男、安藤秀二：家族 4 名全員が肺炎を呈したオウム病感染事例　第 23 回日本クラミジア研究会・第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会　東京都　2005 年 10 月 29 - 30 日

56）平野由紀、柴原浩章、大塚勝次、安藤秀二、小川基彦、岸本寿男、鈴木光明：マウスを用いたクラミジア・トラコマティスによる卵管性不妊症モデルの作製　第 20 回日本生殖免疫学会　大阪　2005 年 12 月 2 - 3 日

57）安藤秀二、小川基彦、重松美加、山下和予、岸本寿男:日本のリケッチア感染症の現状　平成 17 年度希少感染症診断技術研修会　東京都　2006 年 2 月 16 - 17 日

58）安藤秀二、小川基彦、重松美加、岸本寿男：衛生微生物技術協議会リケッチア症小委員会調査票について　平成 17 年度希少感染症診断技術研修会　東京都　2006 年 2 月 16 - 17 日

59）安藤秀二：微生物検査室における管理について　平成 17 年度臨床衛生検査研修会　富山市　2006 年 2 月 24 日

60）安藤秀二：Q 熱コクシエラ症の現状と課題　人獣共通感染症診断法開発研究会研究集会　岐阜市　2006 年 3 月 3 日

61）岸本寿男：オウム病の現状と課題　人獣共通感染症診断法開発研究会研究集会　岐阜市　2006 年 3 月 3 日

62) 安藤秀二、小原真弓、渡辺護、堂高一彦、名越雅高：富山県における人と動物の共通感染症対策－地方自治体と国、大学との連携　平成 17 年度日本獣医師会・第 141 回日本獣医学会連携大会合同シンポジウム　つくば市　2006 年 3 月 19 日

63）遠藤雅子、尾内一信、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 79 回日本感染症学会総会、名古屋、2005 年 4 月 14-15 日

64)高橋　俊、佐藤　梢、岸本寿男、萩原敏且、山崎　勉、橋北義一、舘　良美、板橋　明、奥脇義行：埼玉医科大学病院より検出された *Chlamydia trachomatis* 血清型の疫学. 第 79 回日本感染症学会総会、名古屋、2005 年 4 月 14-15 日

65）高橋　俊、山崎　勉、佐藤　梢、岸本寿男、高橋幸子、石原　理、井上美由紀、佐々木望、橋北義一、舘　良美、岡　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 23 回日本産婦人科感染症研究会学術講演会、東京、2005 年 5 月 28 日

66）柴原浩章、平野由紀、島田和彦、大塚勝次、高橋敬一、山崎　勉、岸本寿男、鈴木光明:クラミジア heat shock protein 60 (cHSP60)抗体のクラミジア・トラコマティス感染特異性の検討. 第 20 回日本生殖免疫学会、大阪、2005 年 12 月 2-3 日

67)高橋　俊、橋北義一、板橋　明、山崎　勉、佐藤　梢、岸本寿男：コバスアンプリコア STD-1 による *Chlamydia trachomatis* の検出および血清型別に関する検討. 第 17 回日本臨床微生物学会、横浜、2006 年 1 月 28-29 日

ウイルス第一部

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、経口生ポリオワクチンを検定、検査対象としている。

第１室の最重要課題は経口生ポリオワクチンの検査、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ポリオワクチン導入に向けて、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。わが国では生ワクチンとして用いられているセービン株を原材料とした全く新しい不活化ポリオワクチンが検討されている。

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。また全国地研との連携が確立し、感染研は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。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。わが国でのウイルス下痢症の散発例では重要な役割を果たしている。

E 型肝炎ウイルスの研究が大いに進んだ。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。イノシシ、マングースにおいては抗体保有率が高く、これらがリザーバーのひとつではないかと考えられるデータも得られた。

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。課題はまだナイジェリア、北インドなど地球上の一部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 HCV の研究は着実に進んでいる。培養系での HCV 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A型及び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 10 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）鄭　小凡（中国・浙江省血液センター）＜日中笹川医学研究者制度＞　平成 17 年 4 月 1 日～18 年 3 月 31 日、ヒトの血液型とウイルス感染の分子基盤について。

（２）呉　芳姿（台湾・疾病予防センター）＜台湾疾病予防センターフェロー＞　平成 17 年 9 月 12 日～17 年 10 月 14 日、下痢症ウイルスの同定と診断。

（３）林 思鳳（台湾・疾病予防センター）＜台湾疾病予防センターフェロー＞　平成 17 年 10 月 1 日～17 年 10 月 14 日、E 型肝炎ウイルスの同定と診断。

（４）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～17 年 6 月 3 日、ポリオウイルス分子学診断技術研修

（５）張　勇（中国・中国疾病予防センター）＜WHO フェロー＞　平成 17 年 3 月 22 日～17 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

（６）田　炳均（中国・雲南省疾病予防控制センター）＜笹川フェロー＞ 平成 17 年 4 月 8 日～18 年 3 月 31 日、エンテロウイルス分子学診断技術研修

（７）Nguyen Thi Thanh Thao（Pasteur Institute, Viet Nam）＜JSPS フェロー＞　平成 17 年 10 月 4 日～17 年 10 月 31 日、エンテロウイルス感染症の血清疫学および分子疫学に関する研究

（８）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～17 年 10 月 31 日、C 型肝炎ウイルスの増殖機構に関する研究

人事面では、Grant S. Hansman が平成 17 年 6 月 1 日に第１室研究員として採用された。宮村達男部長は平成 18 年 3 月をもってウイルス第二部長を退職、4 月から所長に昇任した。後任部長は東京都立神経研の脇田隆字副参事研究員が就任する。

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た染谷雄一主任研究官が平成 17 年 12 月帰国、職務

に復帰した。片山和彦主任研究官は平成 17 年 6 月より米国ベイラー大学に出張し、ノロウイルスの分子生物学の研究を行なっている。鈴木亮介研究員はフラビウイルスの感染増殖機構の研究の為、平成 17 年 10 月より米国テキサス大学ガルベストン校に出張している。下池貴志主任研究官は平成 17 年 5 月より HCV の翻訳開始機構を構造解析する為、米国スタンフォード大学に出張している。

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 は血液型抗原を認識して結合する。しかし、すべてのウイルス株が同じ血液型抗原を認識するわけではなく、その結合パターンは株により様々である。近年、遺伝学的に近縁の株は共通の血液型抗原を認識することが示唆された。しかし、同じジェノグループに属する株に共通性が存在するかは明らかになっていない。そこで、NoV 14 株の VLPs を用い、Carbohydrate-VLP binding assay により H, A, B, Le^a, Le^b 型抗原との結合を検討した。その結果、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 A 型抗原に結合しやすく、GII では B 型抗原に結合しやすいことが明らかとなった。さらに詳細な解析を行うことにより、血液型抗原上のウイルス結合部位を明らかにしたい。

［白土東子、小川智子、鎌田公仁夫（デンカ生研）、武田直和］

（２）昆虫細胞発現系を用いた NoV 粒子形成の試み

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 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、NoV の蛋白質合成が認められ、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。さらに構造蛋白質発現バキュロウイルスを同時に感染させ、形成される粒子に生じる変化を調べたところ、比重 1.32, 1.36, 1.4 g/cm^3 付近にウイルス様粒子が確認された。現在、これらの粒子の特徴を調べている。

［片山和彦、グラント・ハンスマン、岡智一郎、宮下佳奈、小川智子、武田直和、宮村達男、永田典代、田中恵子（感染病理部）］

（３）昆虫細胞及び哺乳類細胞を用いた NoV 粒子形成機構の解析

NoV U201 株の VLPs を発現するために作製した組換えバキュロウイルスにクローニングされた 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)領域に 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。昆虫細胞 (Tn5) では、天然型もクローン型もともに VLP を発現するが、哺乳類培養細胞では、天然型のみ VLPs を発現することが明らかとなった。点突然変異を導入し、両発現系においてどの部分のアミノ酸配列変化が VLP 形成に影響を及ぼすかを調べたところ、バキュロウイルス発現系はいずれの変異も容認し、VLP を産出した。

［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（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 (N 末端より 404 番目)の変異が VLP の産生能を決定していることを見いだした。キャプシド蛋白質の立体構造予測解析の結果、この残基は VLP の外周部の突起を支える支柱に位置すると予想された。点突然変異を導入したアミノ酸置換実験の結果、アミノ酸がアルギニンの場合、VLP 作出能力が著しく低下す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 ORF2 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、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（感染病理部）］

（５）NoV 複製機構の研究

NoV には培養細胞を用いた増殖系や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ヒト培養細胞内に導入した。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たところ、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。しかし、この系では 3A-VPg 間の切断効率が悪く、構造蛋白質の発現を検出できなかった。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ることを試みたが、切断効率に変化は認められなかった。現在、ワクチニアウイルスの影響を排除するため、インビトロで合成した RNA を直接細胞に導入する方法および、EF-1α プロモーターによる NoV ゲノムの発現を行い、感染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、小川智子、宮村達男、武田直和］

（６）ノロウイルス 3C 様プロテアーゼの立体構造解析

ノロウイルス Chiba 407 株由来の 3C 様プロテアーゼを大腸菌で大量発現、精製の後、結晶化し、Ｘ線結晶構造解析によりその 3 次元立体構造を解明した。全体構造はキモトリプシンに類似し、そのスーパーファミリーの一員であることを示している。先に部位特異変異導入解析で示唆された His30 と Cys139 に加えて Glu54 が活性中心を形成していることが明らかにされた。また、同じく部位特異変異導入解析で示された重要残基のほとんどが活性中心の周辺に位置し、全体構造の維持に関与していることが示された。さらに、基質ペプチドを活性中心付近に置いたモデルから、プロテアーゼの基質特異性に関わる情報が得られた。

［染谷雄一、武田直和、宮村達男、中村健太郎（東工大）、熊坂崇（東工大）、田中信夫（東工大）］

（７）ノロウイルス 3C 様プロテアーゼの生化学的性状

精製したノロウイルス Chiba 407 株由来の 3C 様プロテアーゼによる 3C/3D 間の切断部位を含むタンパク質の切断反応を in vitro で行い、SDS-PAGE にて切断断片を分離し、3C 様プロテアーゼの生化学的性状について解析した。その結果、プロテアーゼ活性の至適 pH は 8.6、至適温度は 37℃であった。高濃度（100 mM）の Na^+あるいは K^+は反応を阻害した。また、Mg^{2+}及び Ca^{2+}は反応に影響なかったが、Zn^{2+}あるいは Hg^{2+}は反応を著しく阻害した。いくつかの SH 基阻害剤も反応を阻害し、プロテアーゼ活性に Cys 残基が関わっていることと一致する。

［染谷雄一、武田直和、宮村達男］

（８）ノロウイルス非構造タンパク質の細胞内局在

ノロウイルス非構造タンパク質を動物細胞内で発現させたとき、その中のＮ末端領域がゴルジ体に分布し、タンパク質の細胞内送達に関与することがすでに報告されている。Chiba 407 株由来の 6 種の非構造タンパク質（N 末端領域, 2C, 3A, 3B VPg, 3C 様プロテアーゼ, 3D RNA ポリメラーゼ）を動物細胞で発現させたところ、2C が細胞質内に小胞状に分布した。その一部はゴルジ体のマーカータンパク質と共存した。さらに、Ｎ末端領域と 2C を同時に発現させると、それらの一部は同じ小胞に分布した。Ｎ末端領域と同様に 2C もまたタンパク質の細胞内送達に関与することが示唆される。

［染谷雄一、武田直和、宮村達男］

（９）Genetic diversity of noroviruses in Taiwan between November 2004 and March 2005.

Noroviruses are a major health burden and are responsible for the majority of outbreaks of gastroenteritis in the world. Human noroviruses can be genetically divided into two main genogroups (GI and GII) and subdivided into many genotypes. Stool specimens collected from 12 outbreaks of gastroenteritis in Taiwan were screened for viral agents, between the 23rd of November 2004 and 9th of March 2005. Noroviruses were detected in all outbreaks. We detected six different norovirus genotypes GI/11, GI/14, GII/3, GII/4, GII/6, and GII/18. Noroviruses belonging to the GII/4 were dominant, 49 of 60 (82%) sequences, and were detected in 10 of 12 outbreaks. Furthermore, the norovirus GII/4 strains were detected throughout Taiwan, demonstrating their widespread distribution. We also found that three outbreaks had noroviruses from multiple genotypes. Our results have shown for the first time that noroviruses are an important cause of gastroenteritis in Taiwan.

［Wu FT, Oka T, Katayama K, Ogawa S, Wu HS, Donald Jiang DS, Miyamura T, Takeda N, Hansman GS］

（１０）紫外線照射によるノロウイルス不活化の検討-3

昨年と同様、患者便材料から高度に濃縮したノロウイルスを用いて紫外線照射による不活化実験を行い Real time PCR 法で検討した。Primer & Probe は、GI : COG1F/R, Ring G1-TP (a) & TP (b) , GII: CoG2F/R , Ring 2-TP , 定量のために NVG1 あるいは NVG2 (10*6) を希釈し標準として用いた。高濃度のノロウイルス検体は未処理で 10^9 copies/ml であったが、紫外線を 1000mJ/cm^2 照射するこ

とで 3log10 低下させることが出来た。今回の検体は高度に濃縮したノロウイルスを使用したが、紫外線照射により不活化が可能であった。一方、河川水、海水他に検出されるノロウイスルは年平均で 80 copies/ml 程度と低いために、以前検討したアストロウイルス感染実験からの結果をもとに紫外線照射量は 50mJ/cm^2 で良いと考える。
［宇田川悦子］

２．サポウイルス（SaV）に関する研究

（１）Deletion analysis of the sapovirus VP1 gene for the assembly of virus-like particles.

Human sapovirus (SaV) strains are agents of gastroenteritis. They cannot be grown in cell culture. Constructs containing SaV N- and C-terminal-deleted recombinant capsid proteins (rVP1) were expressed in a baculovirus expression system to allow us to better understand the sequence requirements for the formation of virus-like particles (VLPs). Only proteins derived from N-terminal-deleted rVP1 constructs that began 49 nucleotides downstream assembled into VLPs, which included both small and native-size VLPs. Our results were similar to those reported in a rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV) N- and C-terminal-deleted rVP1 expression study but were distinct from those reported in a norovirus N- and C-terminal-deleted rVP1 expression study, suggesting that SaV and RHDV may have similar expression requirements.
［Hansman GS, Matsubara N, Oka T, Ogawa S, Natori K, Takeda N, Katayama K］

（２）Characterization of polyclonal antibodies raised against sapovirus genogroup five virus-like particles.

Sapovirus (SaV), a member of the family *Caliciviridae*, is an etiological agent of gastroenteritis. SaV strains were recently divided into five genogroups (GI to GV). We characterized novel polyclonal antibodies raised against SaV GV virus-like particles (VLPs) by Western blot analysis, and both antibody and antigen enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs). Our results have indicated SaV GI and GV VLPs were antigenically distinct by Western blotting and ELISAs. These reagents may be useful for genogroup specific detection of SaV.
［Hansman GS, Natori K, Ushijima H, Katayama K, Takeda N］

（３）Development of an antigen ELISA to detect sapovirus in clinical stool specimens.

Human sapovirus (SaV) strains are etiological agents of mild and/ or acute gastroenteritis in children and adults. We describe the development of a novel antigen enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) detection system that was based on hyperimmune rabbit and guinea pig antisera raised against SaV genogroup I (GI) virus-like particles. The ELISA had 100% specificity, and sensitivities of 60% and 25% when compared to single-round PCR and nested PCR, respectively. Our results have shown the ELISA was useful in detecting SaV GI antigens in clinical stool specimens collected two days after the onset of illness.
［Hansman GS, Guntapong R, Pongsuwanna Y, Natori K, Katayama K, Takeda N］

（４）Genetic diversity of Sapovirus in children, Australia.

Sapovirus was detected in 7 of 95 stool specimens from children with gastroenteritis of unknown etiology in Sydney, Australia, between August 2001 and August 2002, and between February 2004 and August 2004 using reverse transcriptase-PCR. Sequence analysis of the N-terminal capsid region revealed the presence of all human sapovirus genogroups.
［Hansman GS, Takeda N, Katayama K, Tu ET, McIver CJ, Rawlinson WD, White PA］

（５）サポウイルス粒子形成メカニズムの解析

サポウイルスの構造タンパク質は ORF1 上にそのほかの非構造タンパク質とともにコードされている。これまでに構造タンパク質をコードする遺伝子領域を昆虫細胞で発現させることで、virus-like particles (VLPs)の発現に成功しているが、ORF1 のポリプロテインから自己のプロテアーゼによって切断された構造タンパク質が VLPs を形成することができるのか検討した例はない。サポウイルスの粒子形成メカニズムを検討するため、昆虫細胞で効率的に VLP を形成することが可能な GI Mc114 株について新たに全長 cDNA clone を作製し、site-directed mutagenesis によって、プロテアーゼ、ポリメラーゼモチーフに変異を導入したコンストラクトをそれぞれ作製した。現在、この cDNA clone を鋳型に昆虫細胞用のコンストラクトを作製し、発現産物の解析を行っている。
［岡智一郎、Hansman S. Grant、小川智子、宮下佳奈、片山和彦、山本真民、武田直和］

（６）サポウイルス核酸検出系の構築

サポウイルスはヒト、およびブタの急性感染性胃腸炎

のウイルスで５つの genogroup (GI-GV)に分類される。このうちヒトから分離されるのは GI, GII, GIV, GV である。ヒト由来のサポウイルス核酸検出系を確立する目的で、TaqMan リアルタイム PCR 系の構築を試行した。スタンダード plasmid を用いた検討によりサポウイルス GI, GII, GIV, GV 株を１ウェルで検出可能であることを確認し、さらに現在、糞便サンプルを用いた反応性、特異性の確認を行っている。

［岡智一郎、片山和彦、影山　努 (ウイルス３部)、小川智子、Hansman S. Grant、武田直和］

（７）部位特異的変異導入法を用いたサポウイルス 3C-like プロテアーゼの活性部位の同定

SaV Mc10 株のプロテアーゼの活性発現に必要な領域の検索、および活性発現に重要なアミノ酸を同定するため、7 株の SaV　ORF1 のアミノ酸配列のアライメントおよび他のカリシウイルス (RHDV およびノロウイルス) のプロテアーゼの活性発現に重要とされるアミノ酸を考慮して、SaV Mc10 株のゲノム全長の cDNA clone を鋳型として、11 箇所のアミノ酸 (H, E, もしくは D)を site-directed mutagenesis 法によって A に置換した clone を作製した。これらを鋳型に in vitro coupling transcription/translation system を用いて ORF1 全長領域を発現させ、発現産物の泳動パターンを解析した。その結果、SaV プロテアーゼの活性発現に重要なアミノ酸として、すでに明らかにしている C^{1171} に加え、新たに H^{1086}, E^{1107}, H^{1186} を同定した。

［山本真民、 岡智一郎、小川智子、片山和彦、Hansman S. Grant、武田直和］

（８）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、血液型抗原との結合についても報告がない。そこで、SaV GI 1 株、GV 1 株の VLPs を用い、Saliva-VLP binding assay, Carbohydrate-VLP binding assay により血液型抗原との結合を検討した。その結果、どちらの株も血液型抗原には結合しなかった。カリシウイルス科 *Lagovirus* 属のウサギ出血病ウイルスは血液型抗原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 株も血液型抗原を認識する。血液型抗原が、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、Grant S. Hansman、小川智子、武田直和］

３．ネコカリシウイルスに関する研究

（１）部位特異的変異導入法を用いたネコカリシウイルス 3C-like プロテアーゼの活性部位の同定

ヒト由来のノロウイルス、サポウイルスは培養細胞での増殖系がないが、同じカリシウイルスに属するネコカリシウイルスは細胞での増殖が可能である。そのため、ネコカリシウイルスはカリシウイルス複製機構の解析、ウイルスの機能性タンパク質の活性検討、ウイルス増殖制御のための薬剤スクリーニングなどに有用性が期待される。CRFK 細胞で増殖させた FCV-F4 株から RNA を抽出し、新たに full-length cDNA クローンを作成した。現在、FCV-F4 株のプロテアーゼ活性の発現に重要な領域、およびアミノ酸残基を検討している。

［岡智一郎、山本真民、片山和彦、宮下佳奈、小川智子、高木弘隆（バイオセーフティー）、Hansman S. Grant、遠矢幸伸（東大院獣医）、武田直和］

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。2005 年度は、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 28 種類、プール抗血清 EP95 を 13 セット、コクサッキーA 群同定用 CF 腹水 1 セット、ポリオウイルス標準抗血清 5 セット、標準細胞株 5 株を配布した。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株であった。

（２）ポリオ実験室診断技術研修会(JICA)の開催

第 15 回ポリオ実験室診断技術研修会を開催した。研修期間は 2006 年 1 月 24 日～2 月 18 日 、研修参加者は、バングラディシュ、コートジボアール、ケニア、ミャンマー、パキスタン、フィリピン、トルコから各 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。本年度はカンボジア 265 検体およびラオス 107 検体の 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。カンボジアの AFP 症例 2 名から分離されたポリオウイルスが 3 型 VDPV と同定された。また、ナイジェリアからシンガポールに渡航した AFP 患者から 1 型野生株ポリオウイルスが分離された。他のポリオウイルス分離株は、すべてワクチン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) 2005 年 7 月 15 日－8 月 17 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(WHO/CCDC 主催)に講師として参加した。

［西村順裕、清水博之］

カ) 2005 年 8 月 30－9 月 1 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］

キ) 2006 年 3 月 7 日－3 月 11 日、カンボジアにおいて、3 型ワクチン由来ポリオウイルスに対するサーベイランスについての現地調査を実施した。

［西村順裕、清水博之、上野久美(感染症情報センター)］

（４）環境ウイルスサーベイランス手法に関するワークショップ開催

富山県衛生研究所、国立国際医療センターとの共催にて、2006 年 3 月 21-25 日に技術研究会を富山県にて開催した。参加者は中国から 2 名（CCDC,北京市 CDC）が参加した。

［吉田　弘、帖佐　徹（IMCJ)、岩井雅恵、松浦久美子、滝澤剛則（富山県衛生研究所)］

（５）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］

２．西太平洋地域の 2004 年のウイルス分離状況

2005 年にラオスおよびカンボジアから送付された AFP 症例由来の 372 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。10 株のポリオウイルスが分離され、野生株ポリオウイルスは検出されなかった。125 検体から非ポリオエンテロウイルスが分離された。カンボジアの AFP 患者 2 例より分離された 3 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、3 型 VDPV と同定されたため、追加サーベイランスを実施したが、2006 年 2 月以降、3 型 VDPV は分離されなかった。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）カンボジアにて分離された 3 型ワクチン由来ポリオウイルスの解析

カンボジアの野生株分離報告は 1997 年が最後でこれ以降 WPRO 領域はポリオフリーとなっている。2005 年 11 月に急性弛緩性麻痺(AFP)を呈した 1 歳児より、3 型ワクチン由来ポリオウイルス(circulating VDPV (cVDPV))を分離した。さらに 2006 年 1 月には別の地域の AFP 患者からも 3 型 cVDPV を分離した。ポリオウイルスと同定された全ての分離株について、VP1 遺伝子シークエンス、PCR-RFLP, mAb により型内鑑別を行った。cVDPV については更にゲノム全領域についてダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定した。カンボジア全土での 2005 年 OPV 接種率は 82%と比較的高いが、接種率の低い地域も存在していた。そのような地域で潜在的な OPV 感染が持続した結果、病原性を回復した cVDPV が出現し、AFP を起こしたものと推測される。

［西村順裕、有田峰太郎、吉田　弘、＊遠田耕平、＊小島和暢、宮村達男、清水博之、脇田隆字（＊WHO)］

（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 AFP を呈したラオスのワクチン未接種 1 歳児より 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。
［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）］

（３）シンガポールの AFP 患者から分離された 1 型野生株ポリオウイルスの解析

ナイジェリアからシンガポールに渡航した AFP 患者から、2006 年 5 月に 1 型野生株ポリオウイルスが分離された。至急分離ウイルスを感染研に送付し塩基配列解析を行ったところ、現在ナイジェリア北部で伝播している 1 型野生株ポリオウイルスと高い相同性を有することが明らかとなった。患者周辺のサーベイランスでは、AFP 症例および野生株ポリオウイルスの伝播は認められなかったが、ポリオフリーの地域においても野生株ポリオウイルス伝播のリスクがあることが再確認された。
［西村順裕、清水博之、脇田隆字、小島和暢（WHO）、Olen Kew (CDC)］

（４）ポリオウイルスレプリコンを用いたポリオ様麻痺マウスモデルの解析

ポリオ様麻痺のマウスモデルを確立することを目的として、ポリオウイルス（PV）のレプリコンを trans encapsidation させた疑似粒子を用いて、PVR 発現トランスジェニックマウスの脊髄内で一過性に複製させることを試みた。その結果、PV 疑似粒子を脊髄内接種したマウスは、投与した疑似粒子の量に依存して、軽度な麻痺から重篤な弛緩性麻痺を示した。PV レプリコンの示すルシフェラーゼ活性および病理解析により、マウスにおける重篤なポリオ様麻痺は、腰髄内の運動神経細胞の 1.4%が破壊されることにより生じうることが示された。
［有田峰太郎、脇田隆字、清水博之、永田典代（感染病理部）、佐多徹太郎（感染病理部）］

（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(TgPVR21)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比較検討するために、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。接種後 2～3 日後のウイルス排泄は 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。
［清水博之、西村順裕、宮村達男、永田典代（感染病理部）］

（６）経鼻接種モデルによるポリオウイルスワクチンの有効性評価

ポリオウイルスワクチンの in vivo における有効性評価モデルとして、ポリオレセプター発現トランスジェニックマウス(TgPVR21)への経鼻接種によるポリオウイルス感染防御系の評価を行った。Sabin 株由来不活化ポリオウイルスワクチンによる皮下免疫後、ポリオウイルス 1 型強毒株を経鼻接種し、神経病原性の発現および血中中和抗体価を測定した。生死および麻痺の発現による比較では、免疫群では有意な発症予防効果が認められ、本モデルはワクチンの有効性評価に応用可能であることが示された。
［永田典代(感染病理部)、西村順裕、宮村達男、清水博之］

（７）中国貴州省で分離された 1 型 VDPV の病原性の解析

2004 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、ワクチン接種後 1 年程度伝播した 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 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。
［Zhang Yong、Xu Wenbo (中国 CDC)、西村順裕、清水博之、宮村達男］

（８）静岡県におけるポリオウイルス 1 型ワクチン株の家族内伝播

2005 年 5 月 30 日、9 ヶ月児がポリオ予防接種を受け、便の処理を行った父親が発熱および全身倦怠感の臨床症状で発病した。ウイルス分離、ウイルス同定および PCR－RFLP 法を用いたポリオウイルスの型内株鑑別を試み

たところ、9 ヶ月児の糞便および父親の咽頭拭い液からウイルスが分離され、ウイルス同定検査の結果、ポリオウイルスⅠ型であることが確認された。分離されたポリオウイルスは、PCR－RFLP 法により Sabin 1 株と同定された。本事例は、乳幼児がポリオワクチン接種を受け、5 日後に父親が感染したケースと思われ、ポリオワクチン接種後は十分な注意が必要と思われる。

［杉枝正明（静岡県環境衛生科学研究所)、吉田　弘、清水博之］

（９）不活化ポリオワクチンの免疫原性試験に関する研究

不活化ポリオワクチンの免疫原性試験は, 検体をラットに筋肉内注射し、血清中に誘導される中和抗体価を測定する方法で行なわれる。しかし、試験ごとのバラツキに関するデータはない。低温凍結では長期にわたり極めて性状が安定である弱毒ポリオ株が試験のキャリブレーターに使えるかを検討した。

［白土東子、李　天成、小川智子、小西恭子、岡智一郎、片山和彦、染谷雄一、宇田川悦子、武田直和、堀内善信（細菌第二部)、須崎百合子、網　康至（動物管理室)］

（１０）不活化ポリオワクチンプロフィシェンシー試験

現行の経口生ポリオワクチンに用いられているセービン株を不活化して不活化ポリオワクチン sIPV が開発されている。sIPV および現行の DTP と混合して作製した DTP- sIPV について、ラット免疫原性試験に関してプロフィシェンシー試験を行なった。各機関の習熟度を評価し、同時に sIPV 参照品の評価を行うことが目的である。

［白土東子、李　天成、小川智子、小西恭子、岡智一郎、片山和彦、染谷雄一、宇田川悦子、武田直和、堀内善信（細菌第二部)、須崎百合子、網　康至（動物管理室)］

４．エンテロウイルスに関する研究

（１）中国雲南省で急性弛緩性麻痺例から分離された非ポリオエンテロウイルス

AFP サーベイランスのもと中国雲南省で分離された未解析の 1997-2000 年及び 2004 年の 5 年間で利用可能な 210 株の NPV について同定及び分子系統学的に解析を行った。210 株の内 HEV-A, B, C 群に属する分離株は各 5, 158, 32 株であった。また HEV-A, B, C 群には各々5, 34, 5 血清型が含まれていた。なお B 群に属する判別不能株は 2 株、C 群に属する判別不能株は 5 株だった。なお D 群に属するウイルスは分離されなかった。エンテロウイルス以外にアデノウイルス 12 株が分離され、3 株は同定不能株であった。雲南省では AFP サーベイランス下ではでは B 群の分離が最も多く、しかも 34 血清型以上存在していることが明らかになった。また比較的ポリオウイルスと系統的に近い C 群も多様性に富んで存在していた。更に日本では報告のない血清型（EV81,83,96 など）も見られる。臨床像の詳細な検討及び検出法の設定など今後の課題である。

［吉田　弘、田　炳均、清水博之、宮村達男］

（２）エンテロウイルス７１結合レセプターの探索

当室にてエンテロウイルス７１粒子に特異的なモノクローナル抗体が作製された。そのモノクローナル抗体を用いて，エンテロウイルス７１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）抗エンテロウイルス７１抗体を介して、エンテロウイルス７１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、様々な cDNA ライブラリーを用いてクローニングを試みている。

［西村順裕，清水博之、宮村達男］

（３）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

バキュロウイルス系を用いてエンテロウイルス７１キャプシド蛋白質と 3CD プロテアーゼを大量発現し、ウイルス様粒子を作製した。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，清水博之、宮村達男］

（４)エンテロウイルス 71 弱毒株の抗原性に関する解析

エンテロウイルス 71(EV71)の弱毒株である S1-3’株の抗原性を解析した。S1-3’株をカニクイザルに静脈内接種し、接種後 4 日目から 66 日目まで血液を採取し、得られたサル血清中の EV71 分離株（genogroup A, B1, B2 および C2）に対する中和活性を測定した。その結果、S1-3’株の感染で誘導されるサルの血清は、genogroup A に対して最も強い中和活性を示し、genogroup B4 および C2 に対しては弱い中和活性を示した（genogroup A に対する中和活性の 3～25%)。今後、カニクイザルに中和抗体を誘導するために有効な S1-3’株の接種経路および力価を検討する予定である。

［有田峰太郎、永田典代（感染病理部)、網　康志、須崎百合子（動物管理室)、岩崎琢也（長崎大学)、佐多徹太郎、清水博之］

（５）エンテロウイルス 71 のマウス感染モデルの解析

ヒトにおける EV71 の病原性を反映する感染動物モデルの確立を目的として、これまでに NOD/SCID マウスへの EV71 の感染系を確立し、NOD/SCID マウスにアダプトした EV71 変異株を分離した。今回は、分離された EV71 変異株の解析を行った。その結果、NOD/SCID マウスへの感染に必要とされる変異は VP1 内の 1 アミノ酸残基であること、またレプリコンを用いた解析から、この変異は培養細胞における脱殻の効率を低下させることが示された。今後、NOD/SCID マウスにおける EV71 感染について、さらに解析を進める予定である。

［有田峰太郎、網　康志(動物管理室)、清水博之］

（６）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。日本では従来、genogroup C3 を除く、ほぼすべての genogroup の EV71 が分離されているが、比較的多く分離される遺伝子型は genogroup B4 および C2 であった。当初中国で認められた genogroup C4 は、2002 年以降、中国、日本および台湾で多く分離されている。

［清水博之、宮村達男、Chen Li (中国 CDC)、Napa Onnimala、Yaowapa Pongsuwanna(NIH、Thailand)］

（７）ベトナムで分離された 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患者の多発が報告されており、ベトナムにおいても小児を中心とした原因不明の急性脳炎の流行が報告されている。主として、ベトナム南部において、手足口病および急性脳炎を発症した小児から分離されたエンテロウイルスの同定を行い、13 症例に由来する 18 株の EV71 を検出した。これらの EV71 の分子系統解析を行ったところ、多くの分離株は genogroup C に属するベトナム固有の新たな subgenogroup である C5 に属することが明らかとなった。

［Nguyen Thi Thanh Thao、 Phan Van Tu (Pasteur Institute、Viet Nam)、西村順裕、清水博之、宮村達男］

（８）ベトナムにおける EV71 血清疫学調査

手足口病等エンテロウイルス感染症の疾患サーベイランスおよび実験室診断システムが確立されていないベトナムでは、手足口病流行および EV71 感染の実態がこれまで明らかでなかった。ベトナム南部地域において、手足口病患者や健常児から採取した血清検体を用いて EV71 血清疫学に関する予備的調査を実施した。4 才以上の年齢群における EV71 中和抗体陽性率は 50%強であり、他のアジア地域における、これまでの報告と同様の結果であった。ベトナムにおいても、EV71 感染は、一般的なエンテロウイルス感染症のひとつであることが示唆された。

［Nguyen Thi Thanh Thao、 Phan Van Tu (Pasteur Institute、Viet Nam)、西村順裕、清水博之、宮村達男］

（９)エンテロウイルス 90 の遺伝子および血清疫学的解析

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 HEV-A に属する、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 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 EV90 の伝播が示唆された。しかし、ベトナムで採取された血清を用いた血清疫学調査において、EV90 中和抗体保有率は 1%程度であり、少なくともこの地域では一般的なエンテロウイルス感染症ではないことが示唆された。

［Nguyen Thi Thanh Thao、 Phan Van Tu (Pasteur Institute、Viet Nam)、Peter van den Broek (Primagen Holding)、清水博之、宮村達男］

５．ポリオウイルスのバイオセーフティ及びバイオセキュリィティシステムに関する調査研究

（１）日本におけるポリオウイルス野生株保有調査

WHO で進めている GAP-I に基づいた予備的調査において、野生株ポリオウイルスは、31 施設で保管されていた。一方、厚生労働省による、生物テロで使用される恐れがある病原微生物の保有及び現状況調査で判明した野生株ポリオウイルス保有施設は 25 であった。更に、1990～2005 年 3 月までにわが国におけるポリオウイルスについての関連論文は、約 350 編あることがわかった。また、

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 (WHO global action plan (GAP) for laboratory containment of wild polioviruses (IInd ed.))の全編の日本語訳を行い、雑誌「ウイルス」に掲載することにより、ポリオウイルス実験室封じ込めの重要性について周知を図った。

［宮村達男、清水博之、吉田　弘、小松俊彦(バイオメディカルサイエンス研究会)］

（２）ポリオウイルス野生株保有に関するアンケート調査

「病原微生物の取扱におけるバイオセーフティの強化及びバイオセキュリティシステムの構築に関する研究」研究班による、地方衛生研究所へのアンケート調査おける追加調査項目として、ポリオウイルス実験室封じ込めについてのアンケートを作成し、各地方衛生研究所宛に送付した。アンケート内容についての問い合わせが、数カ所の各地方衛生研究所担当者から寄せられ、電話や電子メール等により個別に回答した。今後、調査結果についてのとりまとめを実施する。

［清水博之、吉田　弘、宮村達男、安藤秀二（ウイルス第一部)］

（３）病原体管理システムについての調査

日常的にウイルス検査を行っている実験室における、バイオセキュリティシステムの強化のため、世界的なレベルで病原体管理の必要性が求められているポリオウイルス野生株管理について、現実的かつ導入可能な病原体管理システムについて調査検討を行った。

［清水博之、宮村達男、杉山和良（バイオセーフティ管理室)］

III. 肝炎ウイルスに関する研究

１．A 型肝炎ウイルス（HAV）に関する研究

（１）LAMP 法による HAV の迅速診断法の確立

RT-LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification)法を利用してA型肝炎の迅速診断法を確立した。HAV の５‘非翻訳領域の塩基配列を元にプライマーを作成し、感染価約 10^8/mL の 3B 型、1B 型、1A 型の HAV から RNA を調製した。RT-LAMP kit（栄研化学）を用いて 62.5 度で 45-60 分間反応を行い、比濁法によるリアルタイム検出を行った。感染価の測定法とほぼ同じ鋭敏な感度で各々の遺伝子型の HAV を検出した。迅速簡便なことから、臨床検体や医薬品のバリデーションへの適用が期待できる。

［米山徹夫、清原知子、戸塚敦子、佐藤知子、太田嘉則（栄研化学)］

（２）A型肝炎の血清疫学調査

日本全国から集められた血清２４３０検体（血清バンク供与）について抗 HAV 抗体検査を行い、年令別、男女別、地域別の抗体保有率を調査した。全体の抗体保有率は１２．２％で男女別、地域別の差は認められなかった。抗体保有率は年齢とともに上昇するが、５０歳以下では１．６８％であり、ほとんどの人が HAV に感受性であることが明らかになった。

［清原知子，佐藤知子，戸塚敦子，下池貴志，米山徹夫］

（３）抗 HAV 抗体固相化磁気ビーズによる HAV の回収と LAMP 法の検討

抗 HAV 抗体を固相化した磁気ビーズで HAV を回収し、イムノフォーカス法と LAMP 法で定量した。二つの定量法の相関、検出限界を検討中である。

［清原知子、戸塚敦子、米山徹夫］

（４）Polybrene による HAV の感染増強作用の検討

いくつかのウイルスでは Polybrene を添加することで細胞への感染効率が上昇することが報告されている。接種用HAV溶液中、もしくは接種後の培養液中にPolybreneを添加し、増殖した HAV 量を無添加の場合と比較した。HAV の増殖は Polybrene の存在に影響されなかった。

［清原知子、米山徹夫］

（５）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

これまでに無血清培地 VP-SFM で A 型肝炎ワクチン作製用細胞 GL37 細胞, およびこの細胞で A 型肝炎ウイルス（HAV）が増殖することを見いだした。今年度は無血清培地 VP-SFM 及び OptiPro SFM での HAV の増殖性をウイルス接種濃度、FBS の濃度、培地の pH を変え、ワクチン製造用の 10%FBS 入り MEM 培地と比較した。その結果、VP-SFM, OptiPro SFM（OptiPro SFM は Vp-SFM よりは優れたウイルス増殖性を示した）では少量のウイルスからの増殖時や感染初期において、ウイルスの増殖が血清無添加の MEM よりも悪い傾向を示した。細胞の増殖に伴う培地の pH 低下を抑制するため重曹を添加したが、無血清培地でのウイルス増殖には効果はなかった。無血清培地を MEM で希釈して使用した場合も、ウイルスの増殖は MEM を超えなかった。今後、無血清培地に加える添加物の検討、無血清培地で HAV の増殖の良い

細胞の樹立、無血清培地馴化細胞でよく増殖する HAV の分離などが課題である。
［戸塚敦子、下池貴志、田代眞人（ウイルス第三部)、宮村達男］

（６）安全な血液製剤を確保するための A 型肝炎ウイルス除去・不活化法の研究
重要性が認識されつつも対策が取られていなかったウイルスのひとつ、HAV に対する各種除去・不活化法の効果を研究した。HAV 感染価(FFU/ml)はイムノフォーカス法にて測定した。結果は、Solvent/Detergent 処理では、HAV KRM238 株は不活化されなかった。25%Albumin 中 60 度 10 時間加熱では、株間で不活化効果に差があり、感染価が KRM238 株(3B 型)と TKM005 株(1B 型)では約 $3\log_{10}$, KRM003C 株(3B 型)と KRM031 株(1A 型)では約 $5\log_{10}$ 低減した。血液製剤のバリデーションにおける試験ウイルス株の選定には注意を要することが示唆された。
［嶋崎典子(北里環境科学センター)、戸塚敦子、清原知子、米山徹夫、岡田義昭（血液安全性研究部)］

２．B 型肝炎ウイルス（HBV）に関する研究
（１）ヒト肝細胞癌症例における HBV DNA の MLL4 遺伝子への組み込み
HBV 持続感染者では染色体へのウイルス DNA 特に HBX 遺伝子領域の組み込みが高頻度に観察される。Cyclin A, hTERT の場合のように HBV DNA が組み込まれた近傍の細胞遺伝子が活性化される場合もあることが報告されている。西郷らは最近、B 型肝癌患者の肝組織において HBX 遺伝子が proto-oncogene の MLL4 遺伝子に組み込まれ、HBx-MLL4 融合蛋白が発現することを見出した。本研究では、肝癌組織及び非癌部からゲノム DNA を調製しサザンブロット法によって組み込み様式の解析を行った。
［鈴木哲朗、勝二郁夫、*西郷健一、宮村達男（*国立がんセンター東病院)］

３．C 型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究
（１）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。両蛋白質は、NS5A のプロリンが豊富な領域と Amphiphysin 2 の SH3 ドメインで相互作用することが報告されている。この相互作用の生物学的意義について解析を行っている。
［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)］

（２）HCV コア蛋白と結合する宿主因子の検索
HCV コア蛋白質の新規機能を解明する目的で、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い、質量分析法で同定し、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を進めている。
［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（首都大学東京)、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)］

（３）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および分解が促進され、E6AP（dn）との共発現では、ユビキチン化および分解が抑制された。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（首都大学東京)］

（４）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)］

（５）E6AP 発現による HCV 複製系への影響
コア蛋白の分解機構を調節している E6AP が HCV 複製

系にどのような影響を及ぼしているかについて検討した。その結果、感染 7 日目では E6AP の発現による細胞内 HCV-RNA 量の変化は見られなかった。しかしながら、細胞内コアタンパク量及び培養上清中への HCV 粒子産生量は E6AP を発現した場合ではコントロールと比べ、約 1/2 に減少していた。これらの結果は E6AP によるコア蛋白の分解が HCV 粒子形成に影響を及ぼしていることが示唆された。現在 E6AP のウイルス粒子形成過程における分子機能について詳細な検討を行っている。

［村上恭子、白倉雅之、福田浩一郎、下地　徹、阿部克俊、鈴木亮介、鈴木哲朗、勝二郁夫、宮村達男］

（６）HCV コア蛋白及び E6AP の細胞内局在の検討

HCV コア蛋白は核、脂肪滴、ミトコンドリア、ER に局在する。そこで、HCV 感染細胞及び HCV コア蛋白発現 Huh7 細胞を用いて E6AP と HCV コア蛋白との共局在について検討した。E6AP 発現細胞ではコア蛋白が分解されており、局在の検討が困難であった。そこで、E6AP の不活性型変異体を用いて検討したところ、E6AP 及び HCV コア蛋白は perimuclear に共局在することが分かった。

［村上恭子、白倉雅之、下地　徹、福田浩一郎、阿部克俊、鈴木亮介、鈴木哲朗、勝二郁夫、宮村達男］

（７）HCV コア蛋白のユビキチン化部位の解析

HCV NIHJ1 株のコアタンパク質は７カ所の Lys 残基を有する。ユビキチン化される Lys 残基の部位を site directed mutagenesis 法により一カ所だけ残した mutant core を作製し、ユビキチン化される Lys 残基の位置を解析している。

［勝二郁夫、下地　徹、福田浩一郎、阿部克俊、村上恭子、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男］

（８）HCV コア蛋白のユビキチン化機構の解析

ユビキチンがポリユビキチン鎖を形成する際に K48 が分解のシグナルとして、K63 が局在化のシグナルとして機能することが知られている。また、近年、K29 が分解のシグナルとして利用されることが報告されている。E6AP が HCV コアのポリユビキチン化する際にユビキチン内のどの Lys 残基を介してポリユビキチン鎖を形成するか明らかでない。そこで、ユビキチン内のどの Lys 残基がポリユビキチン鎖形成に重要であるかを解析している。

［勝二郁夫、下地　徹、福田浩一郎、阿部克俊、村上恭子、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男］

（９）HCV genotype と E6AP 依存性コア蛋白分解

HCV コア蛋白は各 genotype 間で高度に保存されている。HCV コアと E6AP の相互作用部位をマッピングしたところ HCV コアの aa 58-71 が相互作用に重要であることが分かった。この領域は各 genotype 間で高度に保存されている。そこで、E6AP 依存性のコア蛋白分解をすべての genotype のコアについて検討した。他の genotype のコアでも E6AP 依存性に分解されることから、E6AP 依存性 HCV コア蛋白分解は genotype によらない共通の機構であり、HCV の life cycle に重要であることが示唆された。

［福田浩一郎、勝二郁夫、下地　徹、阿部克俊、村上恭子、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男、水本清久（北里大薬学部）］

（１０）HCV core-E6AP による宿主因子のユビキチン依存性分解

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、分解を促す。同様な機構で HCV core-E6AP 複合体が E3 ユビキチンリガーゼとして機能する可能性が考えられる。そこで、HCV コア蛋白と結合する蛋白として MEF-tag 精製法及び質量分析法により同定された宿主蛋白を標的蛋白として HCV core-E6AP による分解制御の可能性を検討し、候補因子が得られた。

［阿部克俊、下地　徹、白倉雅之、村上恭子、福田浩一郎、勝二郁夫、宮村達男、深澤征義（細胞化学部）、小池和彦（東大感染症内科）］

（１１）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。この蛋白は主に核内に存在する RNA 結合蛋白であり、スプライシング等への関与が報告されている。現在、バキュロウイルス発現系を用いて発現し、アフィニティー精製した蛋白によりコア蛋白との結合を詳細に解析している。

［阿部克俊、村上恭子、高橋由利絵、下地　徹、福田浩一郎、勝二郁夫、小池和彦（東大感染症内科）、宮村達男］

（１２）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進めている。
［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）］

（１３）HCV 粒子複製系の効率化

HCV RNA レプリコン細胞(RCYM1 細胞)の三次元培養系で HCV 様粒子が産生され、細胞外へ分泌されることを見いだした。ウイルス産生効率を向上させるために、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、IFN 等によりレプリコンを除去した cured Huh7 細胞等を用いて genotype 1b および gentype2a 型のダイシストロニック HCV-RNA を維持した細胞株を樹立した。現在、これらの細胞を三次元培養し HCV 粒子産生効率を比較検討している。
［村上恭子、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男］

（１４）HCV-IRES IIId 領域に結合する宿主因子の影響

HCV 5’非翻訳領域内の 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ことが報告されている。翻訳抑制の機構として IIId 領域に結合する宿主因子とコア蛋白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、いくつかの宿主因子が同定された。また、免疫沈降法-イムノブロット法により Huh7 細胞及び 293T 細胞内で HCV コア蛋白と結合することを確認した。現在これらの因子による翻訳制御への影響、粒子形成等を検討している。
［村上恭子、福田浩一郎、下池貴志、高橋由利絵、松田麻未、鈴木哲朗、勝二郁夫、宮村達男］

（１５）血球系細胞での HCV 複製系の検討

HCV は主に肝細胞で増殖すると考えられているが、肝細胞外、特に血球系細胞での複製を示唆する報告が多くなされている。そこで血球系細胞での HCV 複製の可能性を検討するため、様々な血球系株化細胞を用いた HCV 複製系、および HCV 粒子産生系の樹立を試みている。HCV 感染による肝外病変としてクリオグロブリン血症等が報告されており、樹立した血球系細胞での HCV 複製系を用いて病原性発現の機構を解析する予定である。
［村上恭子、勝二郁夫、宮村達男］

（１６）Pol I システムを用いた感染性 HCV 産生系の確立

RNA polymerase I プロモーター/ターミネーター（Pol I システム）はリボゾーム RNA の発現調節を担っており、転写に伴って 5’ cap 構造、3’ poly A tail が付加されない。Pol I システム支配下で HCV JFH1 クローン全長遺伝子を Huh7 細胞で一過性発現させたところ、細胞内で HCV ゲノム RNA の合成及びウイルス蛋白の発現が確認され、その培養上清中には導入後 3-10 日目に HCV コア蛋白の分泌が認められた。この培養上清を Huh7.5.1 細胞に添加することにより HCV の伝搬が観察されることから、プラスミド導入細胞は感染性 HCV を産生することが示された。またその感染性は CD-81 抗体で抑制された。
［鈴木亮介、政木隆博、松田麻未、*松浦善治、**脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*大阪大学微研、**都神経研）］

（１７）感染性 HCV の持続的産生細胞株の樹立と抗 HCV 薬評価への応用

HCV 感染性粒子を恒常的に産生する細胞株を樹立するため、ゼオシン耐性遺伝子を持つ Pol I 発現ベクターを作製し、Huh7 細胞または Huh7.5.1 細胞へ導入した。ゼオシン耐性細胞を選択し、更に培養上清へのコア蛋白分泌を ELISA 法でスクリーニングし HCV 高産生細胞株を樹立した。得られた細胞株が安定的に（少なくとも３ヶ月以上）感染性ウイルスを産生することを確認した。この細胞株が抗 HCV 薬のスクリーニング系として有用であることを示した。
［鈴木亮介、政木隆博、松田麻未、*脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研）］

（１８）構造蛋白質のキメラ・変異体を用いた HCV 粒子形成機構に関する研究

HCV JFH-1 株の全長 HCV cDNA を培養細胞に導入することにより、感染性ウイルスの培養上清中への放出を検出した。エンベロープ蛋白 E1/E2 の欠損及び p7 領域の点変異は細胞内での HCV ゲノム複製には影響を及ぼさなかったが、細胞外へ放出されるコア蛋白量を減少させた。遺伝子型 1a (H77c)及び 1b (NIH-J1)の構造領域と JFH-1 の非構造領域とのキメラ HCV ではウイルス粒子の分泌量が減少した一方で、遺伝子型 2a 同士のキメラ（J6/JFH-1）では分泌量が上昇した。この実験系はウイルス複製や粒子形成の研究のみならず、抗ウイルス薬の開発や予防的、治療的ワクチンの開発に有用である。
［政木隆博、鈴木亮介、松田麻未、*脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研）］

（１９）HCV レプリコンを持つ細胞での HCV 構造蛋白のウイルスベクターによる発現と粒子形成

HCV レプリコンを持つ細胞に HCV 構造蛋白を供給することで、レプリコン RNA をパッケージングした粒子を形成できる可能性があると考えられる。HCV レプリコン細胞株 (5-15) に、HCV の構造蛋白領域 (JFH1 株) 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、蔗糖密度勾配で構造蛋白、HCV レプリコン RNA は同一の画分に存在した。この画分をヘパリンカラムにかけたところ、カラム結合画分にコアとレプリコン RNA が存在し、0.5M NaCl で溶出された。このことから、コア, E1/E2, HCV RNA が何らかの構造体を形成している可能性が強く示唆された。

［張　斌、石井孝司、鈴木亮介、*脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研）］

（２０）HCV レプリコンを持つ細胞での HCV 構造蛋白の恒常的発現と粒子形成

HCV レプリコン細胞株（5-15, IH4-1）に HCV の構造蛋白領域を発現するプラスミドを導入し、薬剤選択によって、構造蛋白及びレプリコン RNA を恒常的に発現する細胞株を選択した。１週間培養後の上清を分画して調べたところ、蔗糖密度勾配で構造蛋白、HCV レプリコン RNA は組み換えワクチニアウイルスを用いた上記の報告と同様に同一の画分に存在した。また、この画分はヘパリンカラムによる部分精製が可能であった。

［石井孝司、張　斌、鈴木亮介、*脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研）］

（２１）HCV 粒子作成におけるコア蛋白塩基性アミノ酸クラスターの役割

これまでに、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ている。現在、各塩基性アミノ酸クラスターに変異を入れたコア蛋白と HCV RNA の結合能の解析を行うとともに、これらのコア変異が感染性クローン（JFH1 株）からの HCV 産生へ及ぼす影響を解析している。

［松田麻未、坂本真一郎、鈴木亮介、*脇田隆字、**松浦善治、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研、**大阪大学微研）］

（２２）HCV 粒子形成における NS5A 蛋白の役割

HCV NS5A 蛋白の C 末端領域に GFP 等を挿入させてもウイルス RNA 複製に影響を与えないことが知られている。我々は、 NS5A 領域の C 末端側の部分欠損またはセリン残基の点変異によって、RNA 複製は維持されるものの粒子形成が抑制されることを見出した。これは NS5A の C 末端側が粒子形成に重要な役割を担うとする新しい知見である。NS5A 蛋白がゲノム RNA のパッケージングに関与する可能性を考え、NS5A とコア蛋白の相互作用の解析を行っている。

［政木隆博、鈴木亮介、松田麻未、*脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研）］

（２３）脂質が HCV 粒子形成または HCV 感染性に与える影響

一般にエンベロープウイルスでは、脂質あるいは脂質代謝がウイルスの粒子形成や感染性に重要な役割を果たしていることが知られている。さらに最近では、多くのウイルスが脂質ラフトを介して膜構造から発芽してくることも報告されている。我々は HCV JFH-1 の感染増殖系を用いて、HCV 粒子形成や感染性に脂質、特に脂質ラフトが果たす役割について解析している。

［相崎英樹、*脇田隆字、**マイケル・ライ、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研、**南カルフォルニア大学）］

（２４）HCV 遺伝子型 1b の感染性分子クローンの構築

チンパンジーで感染性を示した感染性クローン H77（遺伝子型 1a）から作製したレプリコン RNA は長期培養中にその塩基配列に数カ所に適応性変異が認められており、それらの変異を導入した全長の HCV cDNA から合成した RNA からは、培養細胞系で HCV 粒子が産生されることが報告されている。そこで、我々はこれらの適応性変異を日本人で最も多い遺伝子型 1b 株へ導入することにより、培養細胞での効率の良い HCV 粒子産生系の構築を目指している。

［相崎英樹、*脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研）］

（２５）温度感受性ゲル TGP 三次元培養細胞の HCV 粒子産生系による抗 HCV 薬の評価

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有用であることをインターフェロン、リバビリンをモデルとして示した。新たな抗ウイルス薬を探索するため、サブゲノミック　レプリコン RNA の複製阻害作用を有する海洋生物（海綿）由来新規化合物の HCV 粒子産生阻害作用の評価を行っている。

［鈴木哲朗、村上恭子、スス・ムェー、勝二郁夫、*小林淳一、宮村達男（*北海道大学）］

（２６）プロテオーム解析による HCV 複製調節因子の検索（１）

HCV ゲノム複製に必要な宿主因子を同定し、複製メカニズムを明らかにするため、HCV レプリコン細胞（遺伝子型 1b）と Huh7 細胞から界面活性剤不溶性画分を、ウイルス複製活性を維持したまま粗精製し、蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動法により各蛋白の量的比較を行った。約 1500 個の蛋白が検出され、2 倍以上蛋白量が増加している 60 個の蛋白は、Heat shock protein, Chaperone, Receptor signaling complex, Ubiquitin proteasome system protein などに分類された。

［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）］

（２７）プロテオーム解析による HCV 複製調節因子の検索（２）

HCV 複製複合体画分（レプリコン細胞の界面活性剤不溶性画分）で増加の認められた上記の蛋白群のうち、特に再現性が高いもの 10 種類について、その siRNA をレプリコン細胞内に導入し、ウイルス複製に与える影響を調べた。Hsc70, Cathepsin D, Creatine kinase, Glucose regulated protein, Glutathione S transferas, Hsp70, Tumor rejection antigen gp96, Hydroxymethylglutaryl CoA synthase, Valosin containg protein で遺伝子ノックダウンによって HCV RNA 複製が 50%以上低下した。

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

（２８）プロテオーム解析による HCV 複製調節因子の検索（３）

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全長のレプリコン細胞からそれぞれ複製複合体を含む膜分画を分離し、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、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］

（２９）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 の subunit である CCT5 および Hsc70 を同定した。レプリコン細胞では細胞内で新規に合成される HCVRNA や NS 蛋白は CCT5 と共局在した。さらに、免疫沈降法により、CCT5 は NS5B 蛋白と特異的に結合することを見い出した。CCT のすべてのサブユニットの強制発現により HCV 複製は亢進したが、CCT5 のみの強制発現や siRNA による CCT5 の発現抑制では HCV 複製は低下した。さらに、無細胞複製活性系において CCT5 や Hsc70 の抗体は複製活性を抑制した。

［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］

（３０）HCV の複製および翻訳に対する Pin1 の影響

Peptidyl-prolyl isomerase である Pin1 はリン酸化蛋白に結合し、その蛋白を異性化させる。細胞周期や癌化に重要な役割を担う事が報告されている。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ところ、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。NS5A 蛋白に Pin1 結合モチーフが存在するため、GST pull-down 法により相互作用を解析したが、Pin1-NS5A 結合は認められなかった。

［鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男］

（３１）HCV NS5A 蛋白のリン酸化がウイルス RNA 複製における役割

NS5A 蛋白 ISDR 領域の N 末端側に存在する高リン酸化部位を点変異させた HCV RNA レプリコンを用いた解析から、この領域のセリン残基のリン酸化が HCV 複製に影響することを見いだしている。NS5A 変異によって、その結合蛋白であり複製複合体形成に関与する VAP との相互作用が変化し HCV 複製が低下する可能性を考え、各変異体と VAP との結合を解析したが、これまでのところリン酸部位の変異による VAP 結合能の変化は観察されていない。

［相崎英樹、坂本真一郎、根岸英雄、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）］

（３２）ユビキチン非依存的な HCV コア蛋白分解機構

HCV コア蛋白はポリユビキチン化依存的に分解されるとともに、ユビキチン非依存的に分解される機構も存在することを示してきた。siRNA によるノックダウンまた強制発現実験、さらに変異コア蛋白を用いた相互作用解析から、ユビキチン非依存的なコア蛋白分解には、プロテアソーム活性化因子 PA28γ との結合が重要であることが示された。一般に、ユビキチン非依存的蛋白分解機構は不明な点が多い。その分子機構にプロテアソーム活性化因子が介在しうることが明らかとなった。

［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）］

（３３）HCV NS2 結合宿主因子の探索

HCV NS2 蛋白は前駆体蛋白のプロセシングに関与しているがその機能について不明な点が多い。NS2 蛋白と宿主細胞との相互作用を明らかにするため、Flag-tag 付加 NS2 蛋白発現細胞を用いて結合因子を探索した。NS2-宿主因子複合体を調製し、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。これらの蛋白と NS2 との相互作用は免疫沈降—ウエスタンブロッティングで確認した。ANT2/3 の生理活性への NS2 蛋白の影響を検討中である。

［鈴木亮介、松田麻未、鈴木哲朗、宮村達男］

（３４）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 又は 2a の fullgenomic RNA 発現細胞と非発現細胞で蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動法により比較プロテオーム解析を行った。両ゲノム RNA の複製に伴い発現量が減少する細胞蛋白は、Membrane-type 1 matrix metalloproteinase cytoplasmic tail binding protein-1 (MTCBP1), Keratin 19 であり、発現量が亢進する蛋白は Vimentin であった。

［松田麻未、*脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*都神経研）］

（３５）HCV NS3/4A および 5A 発現トランスジェニックマウスの作製

我々はコア、エンベロープ発現トランスジェニックマウスを作製し、それぞれの HCV 蛋白の病原性を解析した（Proc Natl Acad Sci U S A. 1997, Nat Med. 1998）。次に、全ての非構造蛋白を発現する NS2-5B 発現トランスジェニックマウスを作製したものの、蛋白発現が弱いこともあり、明らかな病態も示さなかった。そこで、NS3/4A および 5A 蛋白をそれぞれ発現するトランスジェニックマウスを作製し、HCV 蛋白の生体に与える影響を調べることにした。HBV のプロモーター／エンハンサー支配下に各 HCV 遺伝子を発現するベクターを作製した。

［相崎英樹、*小池和彦、鈴木哲朗、宮村達男（*東京大学）］

（３６）HCV NS5A 蛋白による染色体の不安定化誘導

HCV 全蛋白または非構造蛋白領域を発現するヒト肝癌細胞株では非発現細胞に比べ、細胞あたりの染色体数の増加が観察された。個々の非構造蛋白の発現により、この染色体不安定化が NS5A 蛋白によって誘発されることが明らかとなった。また、この染色体不安定化が細胞の分裂周期異常と関連することが示された。

［鈴木哲朗、*Chang-Woo Lee、宮村達男（*Sungkyunkwan Univ.）］

（３７）ヒト B 細胞株を用いた HCV 病原性機構の解析：コア蛋白による B 細胞表面抗原発現調節

HCV 感染が 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 細胞株及び一過性のコア蛋白発現系を使って 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。102 種類の表面抗原のうち、接着分子で CD2 の主要リガンドである CD48 抗原の発現低下が最も顕著であった。更に、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が明らかとなった。コア蛋白による CD48 遺伝子発現調節に関わる CD48 プロモーター領域、転写因子の解析を行っている。

［町田早苗、鈴木亮介、小俣和彦、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男］

（３８）C 型肝炎治療薬に対する耐性ウイルスの解析

現在、C 型肝炎に対する標準的な治療法は、インターフェンロン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 (Con1)及び 2a (JFH1)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、JFH1 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た。この耐性細胞から調製した total RNA を naïve な細胞へ導入したところ、同様にリバビリン耐性を獲得した。更にこの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、村上恭子、*脇田隆字、**小池和彦、鈴

木哲朗、宮村達男（*都神経研、**東京大学)］

（３９）HCV RNA 結合ペプチドの探索と評価

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と評価を行った。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。これまでに HCV 3’非翻訳領域 RNA に対して特異的に陽性を示す 4 配列を得た。HCV レプリコンを安定発現する細胞株内でこのうち 1 配列を強制発現させたところ、ウイルス増殖の抑制を示唆する結果が得られた。

［鎌田麻利江、石井孝司、*原田和雄、**脇田隆字、鈴木哲朗、宮村達男（*東京学芸大学、**都神経研)］

（４０）HCV コア抗原パネルの作製及びコア抗原検出試薬の評価

体外診断薬としてＣ型肝炎の診断に利用されているコア抗原検出試薬の性能点検に供するため、種々の HCV 遺伝子型由来コア抗原の組み換え蛋白を調製する。遺伝子型 1a, 1b, 2a, 2b, 3a 各々のコア蛋白を FLAG タグとの融合蛋白の形で哺乳動物細胞で発現させ、抗 FLAG 抗体によるウエスタンブロット法により発現レベルを標準化した。今後、HCV 遺伝子型の違いによって抗原検出試薬の感度に差が生じるかを検討する。

［鈴木亮介、近藤円香、*水落利明、鈴木哲朗、宮村達男（*血液・安全性研究部)］

（４１）歯科診療における院内感染対策ガイドラインの作成

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。歯科における院内感染対策ガイドラインの作成に向けて、患者-患者間、医療従事者-患者間の感染リスクをシステマティックに評価するため、コクランライブラリーを利用して網羅的な情報収集を行った。また、ガイドラインの作成にあたり、関連する病原微生物についての概説を担当するため、関連情報の収集を行うとともに肝炎ウイルスについて概説作成を行った。

［鈴木哲朗、*佐藤田鶴子、宮村達男（*日本歯科大学）］

（４２）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 (IIId) 領域に 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。今回ゲルシフトアッセイを用いて、コア蛋白質は IIId と 40S リボソームサブユニットとの結合を阻害することを示唆する結果を得た。IIId 領域は 40S リボソームサブユニット(40S)が結合し、翻訳の開始に重要な領域であり、コア蛋白質は IIId 領域と 40S との相互作用を阻害することにより、HCV 5’UTR による翻訳開始を阻害すると考えられる。

［下池貴志、鈴木哲朗、鈴木亮介、村上恭子、松浦善治（阪大微研)、宮村達男］

４．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 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、ウイルス様粒子（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。また、G4 の VLP に対する単クローンを作成中である。

［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 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た。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種々のクローンを発現し、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を確認した。

［李　天成、武田直和、宮村達男］

（３）大きなサイズをもつ G1, G3 および G4 VLP の作製およびウイルス遺伝子との結合

G3 HEV の ORF2 全長を発現することによって、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。クリオ電顕で三次構造を解析した結果、この大きな粒子はこれまで作製した小さい粒子と異なる三次構造を示した。また、この粒子の中には約 2kbp 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と同時に、G1 および G4 の大きな粒子の作成を検討している。

［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、リザーバー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 10 株の G4 HEV 遺伝子を検出し、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 法で増幅した。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。大きな VLP ウイルス様粒子形成は見られていないが、小さいウイルス様粒子を作製した。この粒子をマウスに免疫して単クローンを作成し、抗原性の相違を比較している。

［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と HEV 遺伝子の検出

HEV のリザーバーを同定する目的で、沖縄島の野生マングース 199 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。組換えウイルス様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、44 匹（22.1%）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）シカの E 型肝炎ウイルス抗体保有状況と HEV 遺伝子の検出

日本全国で捕獲したシカ 976 頭の血清を用い、血清抗体および HEV 遺伝子の保有状況を調べた。組換えウイルス様粒子をマイクロプレートに固相化し、酵素標識抗シカ IgG を二次抗体とした ELISA 法を確立した。抗体の特異性をウエスタン法で確認した。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、25 頭（2.56%）が IgG 抗体陽性であったが、いずれも、低い抗体価を示した。88 検体のシカ糞便および 212 検体血清では HEV 遺伝子が増幅されていない。これらはシカが HEV のリザーバーである可能性が低いことを示唆する。

［李　天成、宮村達男 武田直和、松浦友紀子、高島郁夫、有川二郎（北海道大学)、恒光　裕（動物衛生研究所)］

（７）野生動物の HEV 感染状況調査

イノシシ、野ウサギ、サル、猫、犬の HEV 感染状況を知る目的で、血清から HEV RNA 検出および HEV-IgG 抗体保有調査を行った。野ウサギの血清 31 検体からは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 IgG 抗体陽性であった。サル、猫、犬などからも抗体が検出された。この抗体と HEV 感染との関連を明らかにする調査が進行中である。

［李　天成、武田直和、宮村達男、棚林　清、山田章雄（獣医科学部)］

（８）免疫不全症モデルマウス（TSN KO）における E 型肝炎ウイルスの感受性

Translin 遺伝子を欠損した免疫不全症モデルマウス（TSN KO）では、末梢血リンパの著しい減少が幼年期に観察され、コロナウイルス感染に対する抵抗性が有意に低下していることが明らかになっている。また、生後 10 ヶ月を経た TSN KO が骨髄不全症を発症する。E 型肝炎ウイルスを TSN KO マウスに接種し、各組織におけるウイルスの増殖と感染性について検討している。

［李　天成、武田直和、宮村達男、葛西正孝（免疫部）］

（９）RFB 三次元培養システムを利用した HEV 感染増殖系作製の試み

RFB を利用した Huh7 細胞の三次元培養系が、HEV の感染増殖実験系として有用であるかを検討した。RFB 培養細胞に HEV 感染サルの糞便材料を感染させた後、経時的に培養上清を回収し RT-PCR により HEV RNA の検出を行った。その結果、感染後７日目までは培養上清中から HEV RNA が検出されたが、８日目以降は検出限界

以下となった。
［吉崎佐矢香、石井孝司、李　天成、村上恭子、武田直和、鈴木哲朗、宮村達男］

５．GB ウイルス（GBV）に関する研究
（１）タマリンを用いた慢性肝炎モデル作製の試み：FK506 投薬による GBV-B 感染への影響
昨年度に確立した GBV-B 感染によるタマリン急性肝炎モデルを用いて、慢性肝炎モデルを検討した。タマリンに免疫抑制剤 FK506 を投与し、GBV-B 感染が持続するかどうか検討したが、ウイルス接種前後に関わらず、FK506 投薬により血中ウイルス量および動態（viremia 期間）は影響されなかった。現在、ウイルス接種前からの投与及び投与量の増加を検討中。
［石井孝司、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、宮村達男、*飯島沙幸、*木村展之、*明里宏文、**森　健一、**槙　昇（*医薬基盤研、**先端生命科学研）］

（２）GBV-B 慢性感染マーモセットモデルの確立
マーモセットへの GBV-B 接種時に、ある特定の配列を持つ siRNA を同時に投与したところ、GBV-B の生体内での増殖が大きく遅延し、その後ウイルスは排除されず慢性感染に移行した。GBV-B での慢性感染モデルは本邦で初の例であり、慢性感染を惹起するメカニズムについて詳細に解析を行っている。感染後 1 年時のウイルスゲノムをクローニングして配列を決定したところ、元のゲノムと比較して 10 ヶ所程度のアミノ酸変異を伴う変異が見出された。この変異の意義についても検討中。
［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 p23 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、E6AP の新規機能を解析中である。
［勝二郁夫、下地　徹、宮村達男；市村　徹（首都大学東京）］

（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 Ca^{2+}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。siRNA で E6AP の発現を抑制したところ annexin A1 の分解が阻害された。さらに、内在性 annexin A1 がユビキチン化されることが示された。以上のことから、annexin A1 は E6AP のユビキチン化の基質である可能性が示された。
［下地　徹、勝二郁夫、松田麻未、村上恭子、宮村達男］

２．ヒトポリオーマウイルス BK に関する研究
（１）ヒトポリオーマウイルス BK の VP1C 末端領域と DNA との結合および粒子形成に及ぼす影響
ヒトポリオーマウイルス BK の構造タンパク VP1 に関し、C 末端のプラスチャージアミノ酸残基をアラニンに置換し、（R281A, R285A, K288A, R290A, R292A, K293A, R294A および K297A）、それぞれ組換えバキュロウイルスを作製した。昆虫細胞に感染させ、粒子形成および DNA との結合に対する影響を検討した。その結果は Arg292, Arg294 および Lys297 は DNA との結合および粒子の形成に重要であることが明らかになった。
［李　天成、武田直和、宮村達男、柯　昌文（中国広東省 CDC）、Nilsson J.、Cheng HR（カロリンスカ研究所）］

V.　SARS コロナウイルス（SARS-CoV）に関する研究
（１）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 構造蛋白の Spike protein である S を発現する組換え DIs を接種されたマウス群では、SARS-CoV を経鼻接種した場合に感染から完全に防御された。いずれの場合も肺洗浄液中の IgA 濃度は上昇しておらず、IgG 濃度が上昇しており、防御の主体は肺に滲出した IgG であることが強く示唆された。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、**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）

VI. その他の研究

（１）バイオテロ等健康危機発生時の電子顕微鏡的ウイルス検査の精度管理・１

厚生労働科学研究の一環として、今井俊介奈良県保健環境研究センターを主任研究者、小倉肇岡山県環境保健センター所長を分担研究者とする「バイオテロ等健康危機発生時の電子顕微鏡的ウイルス検査の精度管理」が発足した。小倉肇岡山県環境保健センター所長の要請で各地の地方衛生研究所が参加している。本年度は、ノロウイルス VLP をウイルス第二部から分与を受け、各地方衛生研究所へ電子顕微鏡観察用標準品としてそのまま、ホルマリン不活化済み、陰性コントロール〔蒸留水〕の３種類を準備し、ブラインド番号を付けて各地へ送付した。各衛研では、この３種類のサンプルを電子顕微鏡で観察し報告する。研究班は結果を集計して評価検討する。

［宇田川悦子、小倉　肇（岡山県環境保健センター)］

（２）超遠心器を使用した電顕観察用ウイルスサンプルの作成

通常使用している電顕サンプル作成法では、高度に濃縮した材料を使用するとウイルス粒子の濃縮は出来るが、他方検体中の夾雑物も濃縮されてしまい観察が困難となることがしばしば起こる。そこで、通常検査法の提要に指示されて作成したサンプルを支持膜張ﾘｸﾞﾘｯﾄﾞと一緒に 100, 000xg 15 分 4℃で超遠心することにより特異的なウイルス粒子の濃縮が可能となっている（Air fuge 超遠心機使用時)。しかし、現在ではこの超遠心機は廃盤となっている。そこで、日立ハイテクノロジーズとの共同研究で現在使用可能な日立超遠心機に使用可能なアダプターの試作を行なっている。

［宇田川悦子、森田正隆（日立ハイテクノロジーズ)］

（３）昆虫細胞におけるノダウイルスの潜伏感染

昆虫細胞 Tn5 は組換えバキュロウイルス発現システムでよく利用される細胞である。組換えバキュロウイルスに感染した昆虫細胞からノダウイルス(Nodavirus)を分離した。正常の Tn5 細胞からもノダウイルスの全遺伝子を増幅できたことからこの細胞にはノダウイルスが潜伏感染していることが推測された。

［李　天成、武田直和、宮村達男］

（４）ヒトライノウイルス（HRV）に関する研究

ア）HRV に関する臨床研究および HRV RNA 定量法の開発

感冒の原因である呼吸器ウイルス感染症、特に頻度が高い HRV は、慢性呼吸器疾患患者において、しばしば急性増悪の契機になると考えられている。そこで気管支喘息および慢性閉塞性肺疾患患者における急性増悪時の 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、目標 200 例中 62 例を登録し、2 例の HRV による急性増悪を確認した。RT-PCR 法では、患者喀痰より定性検査が可能であり、現在、Real-Time RT-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。さらに定量限界をあげるため、新たな primer & probe の set を試行中である。

［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)］

イ）HRV RNA 複製細胞の樹立と複製メカニズムの解析

HRV の構造蛋白遺伝子を Luciferase 遺伝子に置き換えた HRV レプリコンの高複製株（△P1Luc cre）を用いて HRV RNA 複製細胞系の構築を行っている。レプリコン RNA を Huh7 に導入した後、Luciferase 活性にてその複製活性を評価する。現在、細胞の培養温度などの HRV RNA 複製の至適条件の検討を行っている。さらに、日本で多い遺伝子型の HRV の RNA を用いて同様にレプリコン及びその複製細胞系の作製を目指す。

［井上　寧、沼田尊功、*佐藤哲夫、相崎英樹、鈴木哲朗、宮村達男（*東京慈恵会医科大学)］

（５）温度感応性高分子 TGP を用いて三次元培養したヒト肝癌細胞の形態学的解析

TGP で三次元培養し、スフェロイドを形成した Huh7 細胞、HepG2 細胞の微細構造を調べるため、透過型および走査型電子顕微鏡による観察を行った。細胞表面では単層培養に比べ、微絨毛の発達が見られた。また、細胞間でも微絨毛の発達が見られ、さらにデスモゾーム様またタイトジャンクション様の構造及び微小胆管様構造の形成も観察された。これらの結果からヒト肝癌細胞を三次元培養化することにより生体肝組織に近い特徴を示すことが示された。

［吉崎佐矢香、村上恭子、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男］

（６）TGP 三次元培養肝細胞における FABP1 発現誘導の分子機構

プロテオーム解析の結果、TGP 三次元培養肝細胞では単層培養系に比べ脂肪酸輸送に関わる fatty acid binding protein (FABP) 1 の発現上昇が認められた。この時、FABP1 mRNA レベルも上昇していたため、FABP の転写活性調

節に関わる転写因子 PPARα 及びγの遺伝子発現を定量 RT-PCR 法で測定し、TGP 培養での両因子の発現亢進、特に肝細胞で主に発現する PPARα の顕著な発現変化（HepG2 細胞では単層培養の 10 倍以上)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］

（７）TGP 三次元培養ヒト肝癌細胞における脂肪酸の取り込み

前項のように、TGP で三次元培養化したヒト肝癌細胞（HepG2 及び Huh7）では、単層培養系に比べ FABP 1 の発現上昇が認められる。そこで TGP 培養系と単層培養系では細胞内への脂肪酸取り込み能に違いがあるかを Huh7 細胞を使って検討を行っている。脂肪酸にはパルミチン酸を用い、取り込みの経時的変化の測定を試みている。現在、培養条件を詳細検討中である。
［吉崎佐矢香、*深澤征義、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男（*細胞化学部)］

（８）TGP 三次元培養におけるチトクローム P450 の発現と機能解析

TGP 三次元培養肝細胞を用いて肝臓分化機能の発現を解析している。本年度は、肝臓での薬物代謝において最も重要な役割を果たしているチトクローム P450 CYP3A4 について解析を行なった。Huh7 細胞を TGP 培養すると単層培養と比較して CYP3A4 の薬物代謝活性が顕著に増加した。この時、CYP3A4 の遺伝子発現が亢進し、また PXR, RXR α等 CYP3A4 発現調節に関わる転写因子群の発現の亢進も認められた。肝由来細胞株では形態変化に伴って、種々の転写因子の発現が変動し肝臓分化機能の発現誘導に繋がる可能性が示唆された。
［柴田佳美、相崎英樹、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)］

（９）TGP 三次元培養細胞を用いたチトクローム P450 活性測定系の薬剤評価への応用

通常の単層培養細胞系では、デキサメサゾン等で誘導する場合を除き内在性のチトクローム P450 CYP3A4 の活性は極めて低レベルであり測定が難しい。前項のように、TGP 培養の場合、誘導剤未処理の状態でも CYP3A4 活性の検出が可能である。そこで Huh7 細胞の TGP 培養系が、薬剤の CYP3A4 活性へ及ぼす影響の評価法として有用であるかをエリスロマイシンをモデルとし検討した。その結果、エリスロマイシンの濃度依存的に CYP3A4 活性は阻害され、IC50 は約 0.1 mM であった。高い CYP3A4 活性を有する本培養系は薬剤の副作用評価系として有用であることが示された。
［吉崎佐矢香、柴田佳美、相崎英樹、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男］

（１０）ATRA によるアルブミンの発現調節

All-trans retinoic acid (ATRA)によるアルブミン遺伝子の発現調節には転写開始点上流の nt -367/-167 領域が重要であることを見出した。この領域への liver-enriched transcriptional inhibitory protein (LIP)の結合能が ATRA により上昇することを EMSA で確認した。LIP は ATRA に反応して早期に発現が亢進する唯一の C/EBPβアイソフォームであり、ATRA によるアルブミンの発現調節において中心的な役割を担うものと考えられた。さらに、LIP は他のアイソフォームの転写活性化作用に対して競合阻害的に働き、アルブミンの遺伝子発現を負に制御することが強制発現系で分かった。レチノイン酸によるアルブミンの発現調節機構において、C/EBPβ の dominant-negative isoform, LIP の働きが重要であることが初めて示された。
［政木隆博、鈴木哲朗、*松浦知和、**岡崎　勲、**渡辺哲、宮村達男（*東京慈恵会医科大学、**東海大学］

（１１）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り、HCV コア蛋白によって発現が誘導されることを見出しているが、ICAD の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、ICAD の転写調節には転写開始点の上流 nt -145～-90 領域が重要であることを見出した。更に、この領域に転写因子 Myc が結合すること、c-Myc または N-Myc の強制発現により ICAD の発現が亢進し siRNA により低下することを明らかにした。
［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)］

＜別＞　検査業務
第１室：
行政検査
　E 型肝炎確認検査　　1 件、4 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17年度は6件(計29検体)の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、すべてポリオウイルスワクチン株と同定された。

第３室、第４室：

行政検査：C 型肝炎ウイルスの遺伝子解析検査　２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）　６件

組換沈降Ｂ型肝炎ワクチン（huGK-14 細胞由来）　４件

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1） Li TC, Saito M, Ogura G, Ishibashi O, Miyamura T, Takeda N: Serologic evidence for hepatitis E virus infection in mongoose. Am J Trop Med Hyg 74: 932-936, 2006.

2） Oka T, Hansman GS, Katayama K, Ogawa S, Nagata N, Miyamura T, Takeda N: Expression of sapovirus virus-like particles in mammalian cells. Arch Virol 151: 399-404, 2006.

3） Wu FT, Oka T, Katayama K, Wu HS, Donald Jiang DS, Miyamura T, Takeda N, Hansman GS: Genetic diversity of noroviruses in Taiwan between November 2004 and March 2005. Arch Virol 151: 1319-1327, 2006.

4） Katayama K, Hansman GS, Oka T, Ogawa S, Takeda N: Investigation of norovirus replication in a human cell line. Arch Virol 151: 1291-1308, 2006.

5） Hansman GS, Takeda N, Katayama K, Tu ET, McIver CJ, Rawlinson WD, White PA: Genetic diversity of Sapovirus in children, Australia. Emerg Infect Dis 12: 141-143, 2006.

6） Hansman GS, Natori K, Shirato-Horikoshi H, Ogawa S, Oka T, Katayama K, Tanaka T, Miyoshi T, Sakae K, Kobayashi S, Shinohara M, Uchida K, Sakurai N, Shinozaki K, Okada M, Seto Y, Kamata K, Nagata N, Tanaka K, Miyamura T, Takeda N: Genetic and antigenic diversity among noroviruses. J Gen Virol 87: 909-919, 2006.

7） Hansman GS, Guntapong R, Pongsuwanna Y, Natori K, Katayama K, Takeda N: Development of an antigen ELISA to detect sapovirus in clinical stool specimens. Arch Virol 151: 551-561, 2006.

8） Abe K, Li TC, Ding X, Win KM, Shrestha PK, Quang VX, Ngoc TT, Taltavull TC, Smirnov AV, Uchaikin VF, Luengrojanakul P, Gu H, El-Zayadi AR, Prince AM, Kikuchi K, Masaki N, Inui A, Sata T, Takeda N: International collaborative survey on epidemiology of hepatitis E virus in 11 countries. Southeast Asian J Trop Med Public Health 37: 90-95, 2006.

9） 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.

10） Oka T, Katayama K, Ogawa S, Hansman GS, Kageyama T, Miyamura T, Takeda N: Cleavage activity of the sapovirus 3C-like protease in Escherichia coli. Arch Virol 150: 2539-2548, 2005.

11） 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 and substrate binding site integrity. J Virol 79: 13685-13693, 2005.

12） Li TC, Takeda N, Miyamura T, Matsuura Y, Wang JC, Engvall H, Hammar L, Xing L, Cheng RH: Essential elements of the capsid protein for self-assembly into empty virus-like particles of hepatitis E virus. J Virol 79: 1299-3006, 2005.

13） Li TC, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Etoh Y, Shinohara Y, Kurata Y, Ishida M, Sakamoto S, Takeda N, Miyamura T: Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. Emerg Infect Dis 11: 1958-1960, 2005.

14） Kamata K, Shinozaki K, Okada M, Seto Y, Kobayashi S, Sakae K, Oseto M, Natori K, Shirato-Horikoshi H, Katayama K, Tanaka T, Takeda N, Taniguchi K: Expression and antigenicity of virus-like particles of norovirus and their application for detection of noroviruses in stool samples. J Med Virol 76: 129-136, 2005.

15） Hansman GS, Takeda N, Oka T, Oseto M, Hedlund KO, Katayama K: Intergenogroup recombination in sapoviruses. Emerg Infect Dis 11: 1916-1920, 2005.

16） Hansman GS, Natori K, Ushijima H, Katayama K, Takeda N: Characterization of polyclonal antibodies

raised against sapovirus genogroup five virus-like particles. Arch Virol 150: 1433-1437, 2005.

17) Hansman GS, Matsubara N, Oka T, Ogawa S, Natori K, Takeda N, Katayama K: Deletion analysis of the sapovirus VP1 gene for the assembly of virus-like particles. Arch Virol 150: 2529-2538, 2005.

18) Okada M, Tanaka T, Oseto M, Takeda N, Shinozaki K: Genetic analysis of noroviruses associated with fatalities in healthcare facilities. Arch Virol 151: 1635-1641, 2006.

19) Tsugawa T, Numata-Kinoshita K, Honma S, Nakata S, Tatsumi M, Sakai Y, Natori K, Takeda N, Kobayashi S, Tsutsumi H: Virological, serological, and clinical features of an outbreak of acute gastroenteritis due to recombinant genogroup II norovirus in an infant home. J Clin Microbiol 44: 177-182, 2006.

20) Someya S, Takeda N, Miyamura T: Characterization of the norovirus 3C-like protease. Arch Virol 110: 91-96, 2005.

21) Hansman GS, Oka T, Katayama K, Takeda N.: Enhancement of sapovirus recombinant capsid protein expression in insect cells. FEBS lett 580: 4047-50, 2006.

22) 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.

23) 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 the viral polymerase coding region. J Virol 79: 12650-12657, 2005.

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

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

26) 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. Epidemiol Infect 133: 1131-1142, 2005.

27) 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 O, Yang JY.: Intratypic recombination among lineages of type 1 vaccine-derived poliovirus emerging during chronic infection of an immunodeficient patient. J Virol 79: 12623-12634, 2005.

28) Hamamoto I, Nishimura Y, Okamoto T, Aizaki H, Liu M, Mori Y, Abe T, Suzuki T, Lai MM, Miyamura T, Moriishi K, Matsuura Y.: Human VAP-B is involved in hepatitis C virus replication through interaction with NS5A and NS5B. J Virol 79: 13473-13482, 2005.

29) Ishikura Y, Kato H, Hashimoto T, Nishimura Y, Iwata H.: Production and characterization of monoclonal antibodies against porcine interleukin-4. J Vet Med Sci 67: 503-508, 2005.

30) Iwai M, Nakayama T, Matsuura K, Hasegawa S, Ando S, Obara M, Nagai Y, Yoshida H, Horie H.: Assessment of efficacy of a live oral poliovirus vaccine for virulent Sabin-like poliovirus 1 strains in Japan. Acta Virol 50: 139-143, 2006.

31) Iwai M, Yoshida H, Matsuura K, Fujimoto T, Shimizu H, Takizawa T, Nagai Y.: Molecular epidemiology of Echovirus type 11 and 13 as determined with environmental surveillance in Toyama Prefecture, 2002-2003. Appl Environ Microbiol (in press).

32) Sugieda M, Adachi S, Inayoshi M, Masuda T, Tsubota M, Mano H, Iwama M, Murakami Y, Yoshida H, Shimizu H.: Intrafamilial transmission of a Sabin 1-related poliovirus in Shizuoka Prefecture, Japan, Jpn J Infect Dis (in press).

33) Arita M, Nagata N, Shimizu H, Sata T, Miyamura T, Quantitative analysis of poliomyelitis-like paralysis in mice induced by poliovirus replicon. J Gen Virol (in press).

34) Polyak SJ, Klein KC, Shoji I, Miyamura T, Lingappa JR.: Assemble and interact: pleiotropic functions of the HCV core protein hepatitis C viruses. Genomes Mol Biol (Seng-Lai Tan ed.) Horizon Scientific Press, Norwich, UK, 89-119, 2006.

35） Suzuki R, Sakamoto S, Tsutsumi T, Rikimaru A, Shimoike 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.

36） 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: 1087-1093, 2005.

37） Suzuki T, Omata K, Satoh T, Miyasaka T, Arai C, Maeda M, Matsuno T, Miyamura T.: Quantitative detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in saliva and gingival crevicular fluid of HCV-infected patients. J Clin Microbiol 43: 4413-4417, 2005.

38） Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Tsutsumi T, Shinzawa S, Makuuchi M, Kokudo N, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, Moriya K, Koike K.: Hepatitis C virus core protein exerts an inhibitory effect on suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1 gene expression. J Hepatol 43: 757-763, 2005.

39） Masumi A, Aizaki H, Suzuki T, DuHadaway JB, 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.

40） Shimoike T, Koyama C, Murakami K, Suzuki R, Matsuura Y, Miyamura T, Suzuki T.: Down-regulation of the internal ribosome entry site (IRES)-mediated translation of the hepatitis C virus: critical role of binding of the stem-loop IIId domain of IRES and the viral core protein. Virology 345: 434-445, 2006.

41） Saito M, Matsuura T, Masaki T, Maehashi H, Shimuzu K, Hataba Y, Iwahori T, Suzuki T, Braet F.: Reconstruction of liver organoid using a bioreactor. World J Gastroenterol 12: 1881-1888, 2006.

42） Baek KH, Park HY, Kang CM, Kim SJ, Jeong SJ, Hong EK, Park JW, Sung YC, Suzuki T, Kim CM, Lee CW.: Overexpression of hepatitis C virus NS5A protein induces chromosome instability via mitotic cell cycle dysregulation. J Mol Biol 359: 22-34, 2006.

43） Masaki T, Matsuura T, Ohkawa K, Miyamura T, Okazaki I, Watanabe T, Suzuki T.: All-trans retinoic acid down-regulates human albumin gene expression through the induction of C/EBPbeta-LIP. Biochem J 397: 345-353, 2006.

44） Murakami K, Ishii K, Ishihara Y, Yoshizaki S, Tanaka K, Gotoh Y, Aizaki H, Kohara M, Yoshioka H, Mori Y, Manabe N, Shoji I, Sata T, Bartenschlager R, Matsuura Y, Miyamura T, Suzuki T.: Production of infectious hepatitis C virus particles in three-dimensional cultures of the cell line carrying the genome-length dicistronic viral RNA of genotype 1b. Virology 351: 381-392, 2006.

45） Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Mizutani T, Morikawa S, Suzuki T, Taguchi F, Tashiro M, Takemori T, Miyamura T,: Tsunetsugu-Yokota Y. Induction of protective immunity against severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection using highly attenuated recombinant vaccinia virus DIs. Virology 351: 368-380, 2006.

46） Aizaki H, Choi KS, Liu M, Li YJ, Lai MM.: Polypyrimidine-tract-binding protein is a component of the HCV RNA replication complex and necessary for RNA synthesis. J Biomed Sci 469-480, 2006.

47） Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Natsume T, Suzuki T, Shoji I, Aizaki H, Miyamura T, Nishijima M.: Proteomic profiling of lipid droplet proteins in hepatoma cell lines expressing hepatitis C virus core protein. J Biochem 139: 921-930, 2006.

2. 和文発表

1） 田中智之, 三好龍也, 内野清子, 武田直和: ノロウイルス. 治療学 40: 197-200, 2005.

2） 李　天成, 武田直和: E 型肝炎. 日本臨床 63: 2221-2227, 2005.

3） 田中智之, 三好龍也, 内野清子, 北元憲利, 鎌田公仁夫, 榮　賢司, 大瀬戸光明, 武田直和: ノロウイルス感染症の診断. 病原微生物検出情報 26：334-335, 2005.

4） 江藤良樹, 石橋哲也, 世良暢之, 千々和勝己, 倉田賢生, 篠原裕治, 李　天成, 武田直和, 宮村達男: 野生イノシシ肉からの E 型肝炎ウイルス（HEV）感染事例. 病原微生物検出情報 26: 265-266, 2005.

5） 李　天成: E 型肝炎検査法. 病原微生物検出情報 26: 263-264, 2005.

6） 李　天成, 武田直和,宮村達男: E 型肝炎ウイルス研究の現状と課題. 食品衛生研究 55: 7-13, 2005.

7） 李　天成, 武田直和, 宮村達男: E 型肝炎の新しい側面. 医薬ジャーナル 2005.
8） 李　天成, 武田直和: E 型肝炎. 遺伝 59: 59-62, 2005.
9） 武田直和: E 型肝炎. BioScan 4: 8, 2005.
10） 武田直和: ノロウイルス. Clinical Engineering 16: 598, 2005.
11） 武田直和: ウイルス性胃腸炎. 感染症マニュアル 山崎修道（監修）, 小早川隆俊（編）スパイラル出版. 189-192, 2005.
12） 白土（堀越）東子. 誰もが感染の危機！！ノロウイルス. 「食と健康」,49: 53-57,社会法人 日本食品衛生協会, 2005.
13） 白土（堀越）東子, 李　天成, 米山徹夫, 武田直和. 食品産業従事者のためのウイルス基礎知識. 「ジャパンフードサイエンス」,45: 28-37,日本食品出版株式会社, 2006.
14） 白土（堀越）東子.ノロウイルス: 感染様式と食中毒. 「遺伝別冊：食の安全科学」, 19: 34-39,株式会社エヌ・ティー・エス, 2006.
15） 片山和彦: ノロウイルス感染症, Medical Practice 22: 863-865, 2005.
16） 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.
17） 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 35, 2005.
18） 宮村達男: B型肝炎. Progress in Medicine, ライフ・サイエンス 25: 265-266, 2005.
19） 高尾信一, 吉田智子, 豊嶋千俊, 吉田　弘, 清水博之　2003～2005 年シーズンに分離された EP95 にて同定困難なエンテロウイルス, 病原微生物検出情報 26: 238, 2005.
20） 若月紀代子, 岩切　章, 高尾信一, 濱野雅子, 藤本嗣人, 山崎謙治, 岩井雅恵, 宗村徹也, 嶋　貴子, 篠原美千代, 渡邊香奈子, 吉田　弘, 清水博之　エンテロウイルスの遺伝子解析に関する諸問題, 病原微生物検出情報 26: 237-238, 2005.
21） 清水博之: ヒトエンテロウイルスの分類と命名法. 臨床とウイルス 33: 211-219, 2005.
22） 岩井雅恵, 松浦久美子, 長谷川澄代, 小原真弓, 堀元栄詞, 永井美之, 田中有易知, 吉田　弘, 清水博之: ポリオ流行予測調査感染源調査においてワクチン由来ポリオウイルスが検出された一例について. 富山県衛生研究所年報 28: 80-84, 2005.
23） 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.
24） 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.
25） 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.
26） 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.
27） 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.
28） 清水博之、武田直和: ポリオワクチン. 化学療法の領域 22, 45-50, 2006.
29） 杉枝正明, 足立　聡, 稲吉　恵, 三輪好伸, 増田高志, 坪田皆利, 真野穂積, 岩間真人, 村上吉男, 吉田　弘, 清水博之: ポリオワクチン株ウイルスの家族内感染-静岡県. 病原微生物検出情報 27: 104, 2006.
30） 永森静志, 小田裕昭, 宮崎正博, 秋山一郎, 細川正清, 千葉　寛, 相崎英樹, 村上恭子, 鈴木哲朗: 「バイオ人工肝-実用化のための基本的な条件」肝胆膵 第 51 巻第 1 号 p107-120, 2005.
31） 清原知子, 米山徹夫：A型肝炎の疫学 —感染症と公衆衛生環境–. 獣医疫学雑誌. 9: 57-59, 2005.
32） 米山徹夫, 宮村達男: トラベラーズワクチンの現状と課題, A 型肝炎・B型肝炎, Progress in Medicine: ライフ・サイエンス, 26: 43-48, 2006.
33） 米山徹夫: 問題となるウイルスの種類と生物学的特徴. 水道の病原微生物対策（金子光美編著）, 丸善, 183-194, 2006.

II. 学 会 発 表

I. 国際学会

1） Toshiyuki Goto, Hajime Ogura, Mitsuaki Oseto, Naomi Sakon and Etsuko T. Utagawa. Electron Microscopic Diagnosis in Japan. Microscopy Conference, DAVOS, Swithzerland, 28 August - 2 September, 2005.
2） 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.
3） 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.

4） Shimizu H, Surveillance, Epidemiology and Laboratory Diagnosis for Enterovirus InfectionsEmerging and Re-emerging Infectious Disease Symposium, Taipei, June, 2005.

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

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

7） Shimizu H, Detection of vaccine-derived polioviruses in the Western Pacific Region 2004 - 2005 The 11th Informal Consultation on the Global Polio Laboratory Network, Atlanta, USA, 30 August - 1 September, 2005.

8） Shimizu H. Surveillance, Epidemiology and Genetic Analysis of Vaccine-derived Polioviruses, International Symposium on Emerging and Re-emerging Enteric Viral Diseases, Dec. 2005, Seoul, Korea.

9） Shirakura M, Shoji I, Ichimura T, Suzuki R, Suzuki T, Fukuda K, Shimoji T, Murakami K, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, and Miyamura T. Identification of E6AP as an E3 ubiquitin ligase for HCV core protein.12th International Symposium on Hepatitis C virus and related viruses., Montreal, Canada, October 2-6, 2005.

10） Murakami K, Ishihara Y, Ishii K, Yoshizaki S, AizakiH, Tanaka K, Kohara M, Shoji I, Sata T, Bartenschlager R, Miyamura T and Suzuki T；Thermoreversible gelation polymer-based three-dimensional culture system to produce HCV particles from cells harboring the genome-length viral RNA. ibid.

11） Fukasawa M, Sato S, Osawa T, Yamakawa Y, Suzuki T, Shoji I, Suzuki R, Aizaki H, Miyamura T, and Nishijima M. Interaction of DEAD box protein 1 with hepatitis C virus core protein. ibid.

12） Inoue Y, Aizaki H, Matsuda M, Murakami K, Miyamura T, Suzuki T；Possible involvement of molecular chaperones; T-complex polypeptide 1 ring complex and heat shock cognate protein 70, in the HCV RNA replication. ibid.

13） Suzuki T, Moriishi K, Shirakura M, Shoji I, Matsuura Y, Miyamura T, and Suzuki R. Coordinated Regulation of degradation of the hepatitis C virus core protein through ubiquitylation and interaction with PA28gamma. bid.

14） Matsuura Y, Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, Suzuki T, Koike K, Miyamura T.: Involvement of PA28gamma in the development of insulin resistance in the HCV core gene transgenic mice. ibid.

15） Matsuura Y, Hamamoto I, Nishimura Y, Okamoto T, Aizaki H, Liu M, Mori Y, Abe T, Suzuki T, Lai M, Miyamura T.: Human VAP-B is involved in HCV replication through interaction with NS5A and NS5B. ibid.

16） Ishii K, Iijima S, Kimura N, Iwata N, Yagi S, Yamaguchi K, Maki N, Yoshizaki S, Machida S, Suzuki T, Sata T, Miyamura T, Akari H.: GBV-B is a pleiotropic virus in vivo. ibid.

17） Miyashi H, Moriya K, Shizawa S, Fujie H, Todoroki T, Tsutsumi T, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Suzuki T, Miyamura T, Koike K.: Alteration in fatty acid enzyme activities induced by HCV core protein: analysis using hepG2 cells. ibid.

18） Matsuura Y, Nakai K, Moriishi K, Lim CK, Okamoto T, Suzuki T, Nunberg J, Miyamura T.: Multimerization of HCV core protein is required for the interaction with the cytoplasmic region of E1 protein. ibid.

19） Dagan S, Ben-Porath J, Aviel S, Stame D, Mishori E, Cohen N, Tzionas I, Zauberman A, Nagamori S, Miyamura T, Eren R.: A cell culture system for studying HCV infection and replication and for evaluating potential anti viral agents. ibid.

20） Matsuura Y, Komada Y, Tani H, Lim CK, Suzuki K, Matsuo E, Tsuda Y, Moriishi K, Moriya K, Patel AH, Miyamura T.: Human fibroblast growth factor receptor 5 is a novel candidate entry receptor for HCV. ibid.

21） Matsuura Y, Komada Y, Yamashita T, Suzuki K, Matsuo E, Hamamoto I, Tsuda Y, Lim CK, Moriishi K, Patel AH, Miyamura T, Tani H.: Cell tropism of pseudotype VSV bearing HCV envelope proteins expressed in different cell lines. ibid.

22） Rapicetta M, Ruggieri a, Franco M, Gatto I, Harada T, Miyamura T, Kumar A.: Double-stranded RNA stimulation of human liver progenitor cells leads to complete inhibition of HCV replication through secreted component(s). ibid.

23） 下池貴志: C 型肝炎ウイルス, コア蛋白質による自身の翻訳抑制機構, LSJ セミナー, スタンフォード大学, カリフォルニア USA, 2005 年 12 月.
24） 宇田川悦子. ウイルス性下痢症と電子顕微鏡. 江陵大学, 韓国江原道, 2005 年 5 月 26 日.

2. 国内学会

1） 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.
2） 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, 2005年7月8日.
3） 宮村達男: ポリオ根絶への途. 衛生微生物技術協議会第26回研究会, 教育講演, 2005年7月8日.
4） 武田直和: ノロウイルスによる急性胃腸炎とわが国のE型肝炎について. 平成17年度第１回食品衛生監視委員等研修会, 宇都宮市, 2005年7月22日.
5） 久保田弘道, 堀越伸幸, 加瀬昌二, 宇田川悦子, 北村　清: 漁業集落排水処施設におけるノロウイルス対策について. 第18回日本沿岸域学会研究討論会, 金沢市, 2005年7月.
6） 高井　聡, 名取克郎, Hansman GS, 岡智一郎, 濱野國勝, 宮村達男, 武田直和, 片山和彦: ノロウイルス様中空粒子の形成に影響を与えるアミノ酸残基の解析.第53回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2005年11月.
7） 李　天成, 宮村達男, 武田直和: E 型肝炎ウイルス中空粒子形成に必須な領域の同定. 同上.
8） 李　天成,斉藤美加, 小倉　剛, 宮村達男, 武田直和: 沖縄に生息するマングースのE型肝炎ウイルス抗体保有状況. 同上.
9） 本郷美那子, 李　天成, 栄　賢司, 伊藤　雅, 宮村達男, 武田直和: イノシシおよびヒト由来 Genotype 4 HEV の構造蛋白の発現及び抗原性の解析. 同上.
10） 岡智一郎, 山本真民, 片山和彦, Hansman GS, 小川智子, 宮村達男, 武田直和: サポウイルス ORF1 の切断点の解析. 同上.
11） 岡智一郎, Hansman GS, 片山和彦, 小川智子, 永田典代, 宮村達男, 武田直和: 哺乳動物細胞を用いたサポウイルス様中空粒子の発現. 同上.
12） 山本真民, 岡智一郎, 小川智子, 片山和彦, Hansman GS, 濱野國勝, 宮村達男, 武田直和: サポウイルスプロテアーゼの性状解析. 同上.
13） 宮下佳奈, 濱野國勝, Hansman GS, 片山和彦, 岡智一郎, 宮村達男, 武田直和: ノロウイルス粒子形成に必須なアミノ酸残基の同定. 同上.
14） 勢戸祥介, 宇田川悦子, 大瀬戸光明, 斎藤幸一, 岩崎達行: 紫外線照射によるノロウイルス・アストロウイルス不活化の検討. 同上.
15） Hansman GS, Shirato H, Ogawa S, Natori K, Oka T, Katayama K, Miyamura T, Takeda N: Cross-reactivity among 26 different genogroup I and genogroup II norovirus virus-like particles. 同上.
16） Hansman GS, Natori K, Oka T, Katayama K, Takeda N: Formation of sapovirus small virus-like particles. 同上.
17） 有田峰太郎, 清水博之, 永田典代, 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 温度感受性弱毒株の神経毒性および抗原性に関する研究. 同上.
18） 西村順裕, 有田峰太郎, 吉田　弘, 小島和暢, 清水博之, 宮村達男: ラオス AFP 症例より分離された 2 型ワクチン由来ポリオウイルス. 同上.
19） 岡本　徹, 西村順裕, 市村　徹, 鈴木哲朗, 宮村達男, 森石恆司, 松浦善治: C 型肝炎ウイルス NS5A と相互作用する新しい宿主因子の同定. 同上.
20） 浜本いつき, 岡本　徹, 相崎英樹, 西村順裕, 森嘉生, 阿部隆之, 鈴木哲朗, 宮村達男, 森石恆司, 松浦善治: C 型肝炎ウイルスの複製における宿主因子 VAP-B の機能. 同上.
21） 村上恭子, 石井孝司, 吉崎佐矢香, 相崎英樹, 田中恵子, 小原道法, 勝二郁夫, 佐多徹太郎, 宮村達男, 鈴木哲朗: 三次元肝細胞培養システムによる C 型肝炎ウイルス（HCV）粒子形成とその応用. 同上.
22） 下地　徹, 勝二郁夫, 椙山裕一, 松田麻未, 村上恭子, 宮村達男: HPV16E6-associated protein(E6AP)の新規結合因子の同定と機能解析. 同上.
23） 井上　寧, 相崎英樹, 松田麻未, 白倉雅之, 村上恭子, 勝二郁夫, 松浦善治, 宮村達男, 鈴木哲朗: HCV-RNA 複製における T-complex polypeptide 1 ring complex 及び heat shock cognate protein 70 の役割. 同上.
24） 白倉雅之, 勝二郁夫, 市村　徹, 鈴木亮介, 鈴木哲朗, 福田浩一郎, 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: C 型肝炎ウイルス core 蛋白の E6AP 依存性分解. 同上.
25） 清原知子，佐藤知子，戸塚敦子，下池貴志，米山徹夫，宮村達男: 日本におけるA型肝炎の血清疫学調査. 同上.
26） 岡智一郎, 片山和彦, Hansman GS, 武田直和: ノロ

ウイルス, サポウイルスに関する新知見. 第 17 回ウイルス性下痢症研究会, 東京, 2005 年 11 月.

27) 望月雅美, 大内敦夫, 川上和夫, 石田卓夫, 李　天成, 武田直和, 恒光　裕, 池田秀利: 犬と猫におけるE型肝炎ウイルス疫学調査. In 第 140 回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2005 年 9 月.

28) 恒光　裕, 賢 勝, 川嶌健司, 神山麻理子, 小野寺利幸, 庄司智太郎, 池田秀利, 宮崎綾子, 吉井雅晃, 李　天成, 武田直和: ノトバイオート豚でのE型肝炎ウイルスの実験感染. 第 140 回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2005 年 9 月.

29) 尹益哲, 小川洋介, 加藤健太郎, 遠矢幸伸, 片山和彦, 武田直和, 山下修一, 明石博臣: ブタ腸管由来カリシウイルスの遺伝子検索と性状解析. 同上.

30) 宮崎綾子, 加藤花名子, 吉井雅晃, 天成 李, 武田直和, 恒光　裕, 池田秀利: イノシシにおける E 型肝炎ウイルス抗体保有状況. 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, 2005 年 5 月 23 日.

32) 久保田弘道, 堀越伸幸, 加瀬昌二, 宇田川悦子, 北村　清: 漁業集落排水処理施設におけるノロウイルス対策について．第 18 回日本沿岸域学会研究討論会, 金沢, 2005 年 7 月.

33) 久保田弘道, 伊藤敏朗, 宇田川悦子: 漁業集落排水処理施設におけるノロウイルス対策について. 全国漁港漁場整備技術研究会, 指宿, 2005 年 10 月.

34) 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, 2005 年 4 月.

35) 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.

36) 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.

37) 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.

38) 清水博之: カニクイザル感染モデルによるエンテロウイルス 71 神経病原性の解析. サルを用いた感染症研究の現状と今後, 京都, 2005 年 9 月.

39) 清水博之: ポリオ(小児麻痺)根絶の現状と今後. 科学技術週間　市民公開講座, 東京, 2006 年 4 月.

40) 吉田　弘, 田　炳均, 清水博之, 宮村達男: 中国雲南省で急性弛緩性麻痺例から分離された非ポリオエンテロウイルス. 第 47 回日本臨床ウイルス学会, 東京, 2006 年 6 月.

41) 吉田　弘, 有田峰太郎, 西村順裕, 清水博之: ワクチン由来ポリオウイルスの分子疫学. 第 27 回衛生微生物技術協議会, シンポジウム III, 札幌, 2006 年 6 月.

42) 村上恭子, 石原陽介, 後藤康文, 石井孝司, 吉崎佐矢香, 相崎英樹, 田中恵子, 小原道法, 勝二郁夫, 真鍋　昇, 佐多徹太郎, 宮村達男, 鈴木哲朗: 三次元肝細胞培養システムによる C 型肝炎ウイルス産生系の樹立と組織学的解析. 第 28 回日本分子生物学会年会, 2005 年 12 月.

43) 下地　徹, 勝二郁夫, 椙山裕一, 松田麻未, 村上恭子, 宮村達男: AnnexinA1 の E6AP 依存性分解. 同上.

44) 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: C 型肝炎ウイルス core 蛋白の E6AP 依存性分解. 同上.

3．ウ イ ル ス 第 三 部

部 長　田 代 眞 人

概　要

当部は村山庁舎に配置され、第１室（インフルエンザ）、第２室（風疹）、第３室（麻疹）、第４室（ムンプス）、第５室（インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン）で構成される。業務は、ワクチン製剤の品質管理及び関連する研究、当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファランス業務及び国際協力である。

人事異動では、平成 17 年４月１日付けで影山努（第１室）、白戸憲也（第５室）の各研究員が採用され、西藤岳彦主任研究官（第１室）が（独行法）農業・生物系特定産業技術研究機構動物衛生研究所へ出向となった。同年５月１日付けで染谷健二（第３室）研究員が採用された。一方、平成 18 年１月 31 日付けで加藤宏幸（第２室）主任研究官が辞職し、同年３月 31 日付けで海野幸子第２室長が定年退職、宮嶋直子主任研究官（第５室）が辞職した。

当部は、インフルエンザ、風疹、麻しん、おたふくかぜの各ワクチン、γ-グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務、インターフェロン製剤については収去検査を担当し、生物学的製剤 GMP 査察にも協力している。品質管理体制に関しては、科学の進歩に応じて生物学的製剤基準の改定を行った。また GMP を中心とする新たな品質管理体制と国際的に通用する近代的な品質管理への転換を図るため、必要な改善を行った。新３号棟に検定・検査用の専用実験室を確保し、また作業手順、作業記録、構造設備等については、WHO 新基準に準拠した国際的対応可能な体制に改めた。またワクチン製造株のシードロット体制の整備導入を検討した。本年度は、麻疹・風疹混合ワクチンの導入のための特別審査を行った。ワクチン製剤の安全性と有効性の確保と National Control Laboratory としての責任を果たすために、部内外で開かれた検討を行い、限られた施設、人員、予算の中で、実施品目、項目の必要性、優先順位を明確にして、基本方針の意思統一を図っている。

研究活動では、インフルエンザでは、流行動向調査事業等を地衛研と協力して進め、流行ウイルスの抗原・遺伝子解析と流行予測を行い、ワクチン製造株を選定した。また抗原解析及びワクチン品質管理用の各種標準品を製造・配布した。更に H5N1 型高病原性鳥インフルエンザの流行に対応して、新型インフルエンザ対策準備対応計画の策定および新型候補ワクチン、診断方法の緊急開発を行った。麻疹および風疹では、WHO の世界麻疹特別研究室、西太平洋地域レファランス研究室に指定され、拡大予防接種計画に応じて、地衛研等及び諸外国、WHO と連携して分離ウイルスの遺伝子型同定と分子疫学解析を行った。ムンプス髄膜炎モデルとしてマーモセット、ラットへの脳内接種方法を確立し、ワクチンの安全性評価を進めた。SARS ウイルスの細胞侵入機構を解明し、抗ウイルス剤の開発等への道を開いた。またヒトコロナウイルスと川崎病との関連性を検討した。センダイウイルスについてリバース・ジェネティクスを用いた研究を進め、P/V/C 蛋白の病原性発現への意義付けと、様々なウイルス分離用のインターフェロン抵抗性細胞株の開発を進めた。

国際協力では、WHO インフルエンザ協力センターとして世界各国から送付された分離ウイルスの解析及び候補ワクチンの効果予測を行い、WHO インフルエンザワクチン推奨株を決定した。H5N1 型の流行に対しては、WHO-H5N1 レファラアンス研究室にも指定され、世界各地のウイルス診断、分離と解析、各地への技術支援、研修、診断方法の改良を行った。また WHO 世界インフルエンザ計画に参画して WHO および我が国の大流行準備対応計画の策定と実施を推進した。

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 年から東アジアの家禽や野鳥で始まった A/H5N1 型高病原性鳥インフルエンザの大流行は、中近東、欧州、アフリカへと波及した。東アジア、中近東ではヒトへも感染し 100 名以上の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。当室は、WHO-H5N1 レファレンス診断ラボに指定されていることから、ベトナム、ラオスな

どの東南アジア諸国から H5 ウイルス感染が疑われる患者の検体を受け入れ、培養細胞を使ったウイルス分離、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、プロトタイプワクチン株の選定や抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスの資料として活用された。[今井正樹、二宮愛、影山努、望月菊、板村繁之、河野直子、小渕正次、斉藤利憲、福家優、小田切孝人、田代眞人]

2. 新型インフルエンザ迅速診断キットの開発

高病原性鳥インフルエンザウイルス A/H5N1 の赤血球凝集素(HA)を標的とした迅速診断キット(イムノクロマト法)試作品について、様々なインフルエンザウイルス A/H5N1 流行株を用いて、その検出感度および特異性について検討を行った。その結果、最近ヨーロッパ周辺に拡大している株と同系統のトルコ株、ベトナムに拡大しているベトナム株、鶏から分離された中国株および山口株に対しては、現在市販されているヒトインフルエンザ流行株(A/H1 型、A/H3 型および B 型)に対する迅速診断キットとほぼ同等の検出感度を有していた。しかし、現在インドネシアで流行しているインドネシア株や 2003 年に分離された香港株に対しては検出感度が低く、全ての H5 亜型鳥インフルエンザウイルス流行株を高感度かつ特異的に検出するためには、キットに用いる抗体を含めさらなる改良が必要であることが示された。[影山努、今井正樹、田代眞人、小田切孝人]

3. 新型インフルエンザ遺伝子診断法の開発

高病原性鳥インフルエンザウイルス A/H5N1 は、1997 年に香港で流行して以来、中国、ロシア、中東、アフリカ、ヨーロッパ諸国へと現在は流行地域が拡大している。この間にも、A/H5N1 流行株は抗原的にも遺伝的にも異なる数グループに分岐し、従来のプライマーを用いた遺伝子診断法では検出できない株も出現してきた。そこで、様々なインフルエンザウイルス A/H5N1 流行株に対し、新たに幅広く高感度に検出できるプライマーの設計および検査法の開発を行った。RT-PCR 法では、現在、我々が感染研 HP に掲載している RT-PCR 検査法(第 2 版)を大幅に改訂し、2004 年のベトナム株、2005～2006 年にかけて流行したインドネシア株、トルコ株など遺伝的に異なるグループに入る株でも高感度に検出できる検査系の構築に成功した。また、RT-PCR と同じプライマーを採用した SYBR Green I 法を用いた Real-time RT-PCR 検出系も同時に構築した。[影山努、今井正樹、二宮愛、望月菊、田代眞人、小田切孝人]

4. 高病原性鳥インフルエンザウイルスの性状解析

ベトナムのホーチミン市パスツール研究所から感染診断検査依頼を受けた検体から、2 株の A/H5N1 ウイルスが分離された。この分離株の性状解析を行った結果、抗原性は 2004 年のベトナム分離株で WHO が推奨するプロトタイプワクチン株(A/Vietnam/1194/2004)と類似しており、また、遺伝子解析により Z 型に分類される事が明らかになった。このことから、2005 年のベトナムの H5N1 ウイルスの流行株は 2004 年と較べて大きく変わっていない事が示唆された。[影山努、今井正樹、二宮愛、望月菊、田代眞人、小田切孝人]

5. 新型インフルエンザワクチン株の開発

A/H5N1 型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、2005 年にベトナム患者から分離された A/Vietnam/JPHN30321/2005（H5N1）株とインドネシア患者から分離された A/Indonesia/6/2005（H5N1）株を弱毒化した。作製した組換えウイルスの病原性を調べるために、H5 ウイルスの弱毒化の指標であるトリプシン依存性試験を行った。その結果、２つの組換えウイルスはトリプシンが存在する条件下でしか増殖できない弱毒化ウイルスであることが確認された。[今井正樹、二宮愛、影山努、望月菊、小田切孝人、田代眞人]

6. 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

2004 年に、ベトナムでヒトから分離された鳥由来の強毒株 A/Vietnam/JP1203/2004 (H5N1)をもとに作製したワクチン株 rgVNJP1203/04 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、ワクチンの元株である強毒株 A/Vietnam/JP1203/2004 を感染させ、感染防御効果を調べた。その結果、今回新たに作製したワクチン株 rgVNJP1203/04 は、やや免疫原性が低いものの強毒ウイルスでの攻撃に対する免疫応答を誘導できること、また、アジュバントの使用でより効果的に感染防御能を誘導でき

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]

7. 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

新型インフルエンザの発生に備えて免疫原性の高いワクチン開発は緊急の課題であり、昨年度より早期の認可を目指してワクチン製造所と協力してアジュバントを添加した不活化全粒子ワクチンの開発を進めてきた。本年度は、ワクチンの力価測定方法や、臨床試験におけるワクチン効果の評価のための中和抗体や HI 抗体の測定法の標準化を実施した。抗体価測定の標準化に必要なウイルス抗原や陽性対照血清などの作製を行い、方法の標準化について検討した。また、ワクチンの薬効試験として強毒株によるマウスのチャレンジ試験を実施した。本年度はさらに、前臨床試験によってワクチン製剤の安全性が確認されたために、第 1 相臨床試験が実施された。 [板村繁之、河野直子、二宮愛、細菌製剤協会、小田切孝人、田代眞人]

8. 茨城県、埼玉県におけるトリインフルエンザ(A/H5N2)発生に伴う血清疫学調査

2005 年 6 月を初発として茨城県、埼玉県の養鶏場において弱毒型のトリインフルエンザ A/H5N2 ウイルスの流行が見られた。これに伴うヒトへの感染の有無を確認することを目的として、鶏へのウイルス感染が確認された養鶏場の従業員や防疫従事者総数 399 名の血清中の中和抗体価の測定を実施した。対照群 31 名の血清抗体価を測定した結果、97%が中和抗体価 10 以下であり、40 を超える例がないことから 40 以上を陽性と判断した。この基準に従うと、養鶏場従業員等 365 名中 88 名が、また防疫従事者 34 名中 5 名が陽性と判断された。流行したウイルスが弱毒株であったために養鶏場での感染が明らかになった時期には既に流行してからある程度の期間が経過していたと考えられる例が多かった。そのため採血については基本的に 1ヶ月程度の間隔で 2 回実施しているが、第 1 回採血時に既に陽性と判断された例が多かった。有意に抗体価の上昇した者は養鶏場従業員等で 23 名、防疫従事者では無かった。防疫従事者については作業開始前に第 1 回採血を実施しているので、少なくとも防疫作業による感染はなかったと考えられる。一方、今回の調査で養鶏場の従業員等で弱毒型のトリインフルエンザ A/H5N2 ウイルスによるヒトへの感染の可能性が示唆された。 [板村繁之、河野直子、中島一敏*、安井良則*、茨城県保健福祉部、岡部信彦*、小田切孝人、田代眞人：*感染症情報センター]

9. 新型インフルエンザワクチン製造株作製用細胞株の開発

人への使用を目的とするワクチン株をリバースジェネティクス（RG）法で作製するためには、GMP 施設でバンキングされ高度に安全性が検証されたワクチン製造用細胞株が必要である。前年度において、我々は American Type Culture Collection より入手した LLC-MK2 細胞がトランスフェクションに対する感受性が高く RG 法に適していることを報告した。本年度は、GMP 製造施設において LLC-MK2 細胞からマスターセルバンク及びワーキングセルバンクを構築し、これらセルバンクについて安全性試験、特性試験を実施した。その結果、本細胞は安全性が高く、人用ワクチン製造用細胞株として使用できることが示された。[今井正樹、城野洋一郎*、牧角啓一*、田代眞人、小田切孝人：*化学及血清療法研究所]

10. 新型インフルエンザワクチン株製造のための GMP 施設の建設準備に係わる調査

2007 年度完成予定のワクチン株製造施設の基本設計に必要な情報を収集するために、新型インフルエンザワクチン株製造のための工程、品質管理方法について海外調査報告や文献について調査・検討を実施した。また、ワクチン株の製造に必要となる施設、設備についての規格や実験室のレイアウト等について検討を行って、ワクチン株製造施設の基本的な規格、仕様を提示した。[板村繁之、篠原克明*、網　康至**、今井正樹、二宮愛、小田切孝人、田代眞人：*バイオセーフティ管理室、**動物管理室]

11. 新型インフルエンザ対策行動計画策定への参画

H5N1-高病原性鳥インフルエンザに起因した新型インフルエンザによる世界的大流行(パンデミック）が起こる可能性が高くなったことから、WHO はそれぞれの国における新型インフルエンザ対策行動計画の策定とその実施を勧告している。先進諸外国においては、既に行動計画の策定およびその更新が適宜行われているが、わが国ではまだ策定されていなかった。しかし、世界的に高病原性鳥インフルエンザの流行が拡大するにつれて、わが国政府としても新型インフルエンザ対策に本腰を入れざるを得なくなり、厚労省結核感染症課を事務局とした新型インフルエンザ専門家会議が組織された。本会議では WHO が分類した各パンデミックフェーズをさらに「海外で発生している場合」、「国内でも発生した場合」に細分し、それぞれに応じた行動計画の目次案を策定し、平成 17 年 11 月に地方自治体へ提示した。感染研ウイルス第 3 部第 1 室からは 2 名が専門委員としてその立案、議論に参画した。[小田切孝人、田

代眞人]

12．インフルエンザウイルス遺伝子の大量解析に関するNITEとの共同研究

インフルエンザウイルスの遺伝子解析は、次シーズンのインフルエンザ流行予測とワクチン株選定にとって重要な役割を占めている。また、ノイラミニダーゼ阻害剤等の抗インフルエンザ薬の使用頻度の増大に伴い、薬剤耐性ウイルスの出現が問題となってきた。このことから、多数の株についての継続的な遺伝子解析、耐性株のモニタリングや耐性マーカーの同定などが重要になってきた。そこで本年度より、大量の遺伝子解析技術と設備、および実績を持っている独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)との共同研究により、インフルエンザウイルス500株以上について、HA遺伝子、NA遺伝子、M遺伝子等の遺伝子解析を継続的に行う事とした。本年度は2004/2005シーズンに分離されたA /H1型81株、A/H3型306株、B亜型252株のNA遺伝子について解析を行った。その結果、これまでに報告されているようなオセルタミビル耐性に変異した遺伝子を持つウイルス株は見つからなかった。[影山努、小渕正次、今井正樹、堀川博司*、細山哲*、矢代勲*、藤田信之*、小田切孝人: *独立行政法人製品評価技術基盤機構]

13．わが国に飛来する野鳥における鳥インフルエンザウイルスの生態調査

2003年末から東アジア諸国の家禽で発生したH5N1-高病原性鳥インフルエンザの流行は、その後、中国、中近東、アフリカ、ヨーロッパへと拡大し、ヒトへの感染例および死亡例も増え続けている。この感染拡大経路は渡り鳥の飛行ルートとよく相関していることから、海外からの感染者の入国に加えて、渡り鳥や野鳥によってもH5N1-高病原性鳥インフルエンザウイルスがわが国に持ち込まれる可能性がある。従って、飛来する渡り鳥・野鳥がもつウイルスの実態調査を行なうネットワークを構築し、H5N1-高病原性鳥インフルエンザウイルスを水際で捉える広域な監視体制を確立することが必要である。そこで、本年度は北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、鳥取大学農学部、動物衛生研究所および感染研ウイルス3部第1室からなるコア研究チームを組織し、それぞれがもつ共同研究グループを取り込んだ鳥インフルエンザウイルス生態調査ネットワークの構築を行った。また、各メンバー機関が持つ検体採取地の特定、採取時期の検討、および解析手法などを検討し、次年度に向けた準備を行った。[小田切孝人、今井正樹、喜田宏*、迫田義博*、伊藤壽啓**、塚本健司***：*北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、**鳥取大学農学部、***動物衛生研究所]

14．B型インフルエンザウイルスBM2蛋白質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。我々は前年度において、BM2はウイルスの感染性粒子への成熟にとって必須な蛋白質であることを報告している。今年度は、BM2の感染性ウイルス粒子形成に関わる領域を明らかにするために、細胞質領域に変異を導入したウイルスを作製し、その性状を解析した。その結果、BM2の細胞質領域をC末端側から6アミノ酸を欠損させると、ウイルスの増殖が著しく抑制されることがわかった。また、この領域の欠損はM1と膜との親和性を低下させ、その結果、M1と複合体を形成するヌクレオカプシド複合体（vRNP）のウイルス粒子への取り込みが阻害されることがわかった。[今井正樹、二宮愛、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パネル血清の作製と評価（続）

診断薬の性能を調べるための標準パネル血清を整備するために、感染或いはワクチン接種後長期経過した血清が収集された。B型肝炎等の感染の有無を検査し、安全性を調べた88検体の風疹パネル血清候補の抗体価をHI法、EIA法により評価した。3検体が抗体陰性で、11検体がHI抗体陽性だがEIA-IgG抗体陰性となり、74検体が両者陽性であった。ワクチン接種群42検体の平均HI抗体価は$2^{5.4}$となり、罹患歴のある22検体の$2^{6.1}$に比べ低かった。1.2倍希釈で測定したHI抗体価とEIAによって得られた国際単位(IU)は、良く相関し、次式で両者の関係を表すことが出来、両抗体価の変換が相互に可能であると考えられた。これらパネル血清はEIAキットのHIとの相関性を調べるために有用と思われた。[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．風疹ウイルス遺伝子診断技術改良の検討

RT-PCRを用いた風疹ウイルス遺伝子の検出法は極めて有用であるが、検体の処理方法、使用する試薬、プライマー等によって感度の差が生じる場合が多い。異なる条件下での検査による検出感度の差が結果の一貫性と臨床応用に課題を残している。試薬、プライマーによる感度差を調べるとともに、4ヶ所の検査施設において同一条件下で試験を実施し、感度の比較を行った。その結果、当研究室を含む4施設の全てで3倍以内の感度差が得られた。本プロ

トコールを用いて安定した試験を行うことができる可能性が示された。[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 細胞に風しんワクチンを接種し、得られたウイルスを同じ条件下で 5 代継代した。1 代から 5 代まで 10^7 PFU/ml 以上の高いウイルス収量が維持された。5 代継代を繰り返したウイルスの３つの構成蛋白をコードする遺伝子の塩基配列は元のワクチンウイルスと同じだった。又、このウイルスの RK13 細胞での増殖は元のワクチンウイルスと同様に 39℃で著しく抑制され、ワクチンのマーカーである増殖性における温度感受性も保持していた。無血清培地 DM201 に馴化させた Vero を用いた無血清培養によるワクチン製造の可能性が示された。[海野幸子、大槻紀之、加藤宏幸、門澤和恵、大良勇治]

4． ワクチン製造株の品質管理に関する研究

各製造所によってシードロットの設定案が示され、それらの現行の製造における位置とこれまでのワクチン製造の変遷を知ることになった。製造承認株からこれまでのワクチンよりも継代をすすめて製造される新しいシードを用いるワクチン製造計画の問題点をシードロットシステムの原則に照らして考察した。これまで市場に出たことのない継代数のワクチンが製造される場合は市販後調査による有効性と安全性の確認が必要と思われた。また、シードロットシステムにおいて国際的な調和をはかり、且つ試験を合理的に実施するために品質管理方法の一部を変更する必要があった。[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

臨床材料からの麻疹ウイルス野生株の分離効率を 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 細胞を用いて現行のワクチン株と野生株の一部について Vero/hSLAM 継代にともなう H 遺伝子領域の変異について検討したが、5 代までの継代では変異は認められなかった。また中和抗体測定などの血清診断への応用も可能であった。Vero/hSLAM 細胞では風疹ウイルスの増殖効率が RK13 より良好なことを報告したが、今後は麻疹・風疹混合(MR)ワクチンの力価試験等への応用も検討している。[齋藤義弘*、菅井敏行、染谷健二、沼崎啓、田代眞人：*慈恵医科大学小児科]

2．牛由来成分を使用しない新たなワクチン製造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、その過程において牛胎児血清やその他の動物由来成分が使用されている。より安全で有効性のワクチンの開発、導入のために動物由来成分の排除の可能性について検討した。鶏有精卵より胚を取り出しブタ膵由来の trypsin を使用せずにを単離することは可能であった。しかし、現在使用可能な無血清培地を用いて麻疹ワクチンウイルスを増やした場合の増殖量は従来法の約 1/10 であった。ウシ血清などを使用せずに十分なウイルス量を収集するためには新たなウイルス培養法の確立のみならず、新規ワクチン株の導入に関しても検討が必要なものと判断された。[齋藤義弘*、沼崎啓、田代眞人：*慈恵医科大学小児科]

3．麻しんワクチンの製造株の品質管理におけるシードロットシステム導入に関する研究

麻しんワクチンの有効性と安全性の確保の目的で製造過程におけるシードロットシステムの導入は不可欠である。生物学的製剤基準のもとで、本システムを導入するためには、製造過程におい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製造承認株から５代目以内で弱毒確認試験に合格したウイルスと同等であることを証明する必要があるものと判断された。[齋藤義弘*、菅井敏行、染谷健二、沼崎啓、田代眞人：*慈恵医科大学小児科]

4． 麻疹ワクチン接種後の免疫記憶と SVF に関する研究

近年、小学校高学年、中学生以降の年長者における麻疹の集団発生の報告が認められる。幼児期のワクチン接種によって麻疹の免疫をいったんは獲得しても、その後の周囲での麻疹の流行が減り、麻疹ウイルスに曝される機会がなくなったために追加免疫が得られないために麻疹免疫の減衰が生じる。この集団に麻疹ウイルスが侵入すると流行が起ることになる。secondary vaccine failure(SVF)か primary failure かは、血清の IgG avidity を測定することで判別できる。年長者の麻疹の集団感染事例における IgG avidity を調べた結果、SVF の事例が確認された。[岡田晴恵、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3例について調査をおこなった。1例目はワクチン接種後、3週間後に発熱、頭痛、嘔吐を訴えたケースである。ムンプスウイルスワクチン株が分離され、ワクチンの副反応と判断した。2例目は、ワクチン接種後7年後に耳下腺腫脹を訴えたケースであり、咽頭拭い液からムンプスウイルス野外株が分離された。ワクチンがテイクしていなかったものと推察された。3例目はワクチン接種後17日目に右顎下腺腫脹を訴えたケースである。咽頭拭い液からムンプスウイルスワクチン株が分離され、ワクチンの副反応と判断した。 [加藤篤、木所稔、河合朋樹*、名木田章**、田代眞人：*静岡市立静岡病院、**倉敷市水島中央病院]

2．ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子の同定

ムンプスウイルスの病原遺伝子、特に中枢神経病原性に関わる遺伝子を特定することはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明する目的のみならず、おたふくかぜワクチンの品質管理やシードロットシステムの維持管理の上でも重要な意味を持つ。そこで我々は、千葉県血清研究所で野外株Y7から分離された中枢神経病原性の異なるウイルス株Y125とY213のゲノム配列を比較することによって中枢神経病原性遺伝子を同定することを試みた。その結果、NP、V、M、F、L遺伝子の合計7カ所にアミノ酸の変異を伴う塩基配列の違いが認められた。一方SH、HN遺伝子には違いが認められず、中枢神経病原性にこれらの遺伝子が関与しないことが示唆された。 [木所稔、加藤篤、齋加志津子*、窪谷弘子*、田代眞人：*千葉県衛生研究所]

3． 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及び初代細胞の利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、ポリオウイルス不活化ワクチンの製造に使用予定の素性がはっきりしたVero細胞を日本ポリオ研より分与を受け、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株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、どちらのプラックサイズも継代前よりは直径が増していた。そのため、製造現場に当てはめるのは好ましくないと思われた。 [加藤篤、木所稔、田代眞人]

4． おたふくかぜ生ワクチン製造株の品質監理に関する研究

ムンプスウイルスをはじめワクチンの基になっている生ウイルスは、環境に適応するという本来的な生物の特性により変異しやすい性質を持つ。しかし、有効性と安全性といった基準を満たし製剤として認可された以上は、製品として一定の品質を保つ事が要求される。均一な製品を安定的に製造・供給する方法として考えられたのが、シードロットシステムである。製造各所社のワクチン株の継代履歴をもとに、生物学的製剤基準にある「製造承認株からの継代は5代以内」という大原則を壊さない範囲でシードロットシステムを実行する方策を検討し、その実施案を各社、各生ワクチン製剤毎に設定した。[加藤篤、木所稔、田代眞人]

V．インターフェロン、急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

1． プロテアーゼによるSARSコロナウイルスの感染増強

SARSコロナウイルス（SARS-CoV）は重症急性呼吸器症候群の原因病原体であり、その受容体はangiotensin converting enzyme 2 (ACE2)である。ACE2はSARS-CoVの主要標的組織の肺だけでなく、他の多くの組織に発現されウイルス増殖が観察されているが、肺での高いウイルス増殖機構／強い組織破壊に関しては不明である。本研究の目的は、SARSの病態解明である。Bates等の研究により、SARS-CoVはendosome pathwayで侵入し、endosome内でtrypsin様プロテアーゼによりスパイク（S）蛋白が解裂活性化し、ウイルスエンベロープとendosome膜が融合し、ウイルスが細胞内に侵入すると予測されている。我々は、thermolysin, elastaseなどがtrypsinと同様の活性があること、また、これらのプロテアーゼはACE2に結合したSARS-CoVに作用し、直接細胞膜から細胞内侵入を可能にすることを明らかにした。即ち、SARS-CoVはendosomeと細胞膜の２つの異なる経路から感染することが明らかになり、その経路はプロテアーゼにより決定されることが示唆された。更に、プロテアーゼ存在下で100-1000倍効率良く感染が進み、プロテアーゼによる細胞膜経由感染は通常のendosomal pathway感染より効率が良いことが判明した。以上の結果から、SARS-CoVの肺などの主要標的組織における高いウイルス増殖は肺で産生されるプロテアーゼが大きく関与することが示唆された。[松山州徳、氏家誠、川瀬みゆき、森川茂*、田代眞人、田口文広：*ウイルス第一部]

2．SARS ウイルス スパイク蛋白質の Heptad Repeat 由来 Peptide による細胞表面径路ウイルス侵入の抑制

一般に、エンベロープウイルス膜融合蛋白質の HR 由来 peptide(HR-p)は抗ウイルス作用を示すため、SARS コロナウイルス（SARS-CoV）スパイク（S）蛋白質 HR-p(SHR-p)も抗ウイルス薬の候補として期待されたが、同属のマウス肝炎ウイルス（MHV）S 蛋白質の類似 HR-p に比べその効果は著しく低い。これは、SHR-p と SARS-CoV -S との親和性の低さが主な原因と考えられていた。しかしながら、MHV が細胞表面からの侵入経路しか持たないのに対し、SARS-CoV は細胞表面とエンドサイトーシスの 2 つの経路から侵入可能であるため、この違いは感染経路の違いに起因する可能性も考えられる。我々は、SHR-p の低い抗ウイルス活性の原因を明らかにするために、SHR-p と SARS-CoV -S との親和性を in vitro で測定すると共に、SHR-p の抗ウイルス活性を感染経路ごとで検討した。その結果、HR2 由来天然配列及び天然配列の 2 次構造を維持した合成配列は、in vitro　実験系において 10 nM 以下の低い濃度で HR1 と HR2 の結合を阻害した。また、エンドサイトーシスで細胞侵入する場合と比べ、細胞表面からの感染が主な環境下では SHR-p は、100 倍～200 倍の効率で SARS-CoV の感染を阻止した。これらの結果より、SHR-p の低い抗ウイルス活性は S 蛋白質との親和性の低さが原因ではなく、感染経路の違いに起因すると考えられた。また、SHR-p が潜在的な抗 SARS-CoV 薬としての活性を持つ事、そして、これ等の SHR-p を効率良くエンドソームにターゲティングする事で、抗 SARS-CoV 活性の高い薬剤の開発が可能になることが示唆された。[氏家誠、川瀬みゆき、西川裕輝*、伊藤沙織*、大石真也*、大高章**、山本直樹***、山本典生***、松岡雅雄****、児玉栄一****、藤井信孝**、田口文広：京大薬学*、徳島大学ヘルスバイオサイエンス**、東京医科歯科大***、京大ウイルス研****]

3．SARS-CoV スパイク(S)蛋白質のシステインリッチ領域(Cys-rich)は膜融合活性及びウイルス細胞侵入活性に重要な働きを持つ

SARS-CoV スパイク(S)蛋白質は膜貫通領域及び細胞質内領域に特徴的な Cys-rich 領域を持つ。この領域が S 蛋白質の膜融合活性にどのような役割を持つのかを明らかにするため、Cys-rich 領域に変異を導入した S 蛋白質変異体を作製しその解析を行った。この結果、S 蛋白質の Cys-rich は膜融合活性及びウイルス細胞侵入活性に重要な働きを持つことが明らかとなった。[氏家誠、福士秀悦*、森川茂*、田口文広：*ウイルス第一部]

4．GFP 融合 SARS-S 蛋白質をもつ MHV-virus like particle(VLP)の作製

SARS-CoV は S 蛋白質を介して細胞表面から侵入する経路と、エンドサイトーシスを通して侵入する 2 つの経路が存在すると考えられているが、直接的な証拠はない。我々は、SARS-S 蛋白質が仲介する細胞侵入機構を詳細に解析する事を目的として、GFP 融合 SARS-S 蛋白質をもつ MHV-VLP(SARS-S-GFP/MHV-VLP)を作製し、蛍光顕微鏡下ライブでこの VLP を観察することを試みた。その前段階として SARS-S-GFP/MHV-VLP の作製を行った。この結果、SARS-S-GFP/MHV-VLP はウエスタンブロティング法により GFP が VLP 粒子内に取り込まれている事を確認した。また、粒子表面の SARS-S-GFP はレセプター活性・膜融合活性を維持している事を確認した。現在は、蛍光顕微鏡下で、SARS-S-GFP/MHV-VLP が観察できるかどうか検討中である。[氏家誠、松原尚子、牧野伸治*、田口文広：*米国テキサス大]

5．ヒトコロナウイルス 229E の簡便な定量法の確立

ヒトコロナウイルス 229E は鼻風邪の原因ウイルスであり、グループ I のコロナウイルス群に属する。従来 229E の増殖、定量には HeLa 細胞からの subline L132 細胞等が用いられてきたが、HeLa 細胞と比べると、細胞維持が容易でなく、ウイルス力価の定量には幾つかの課題があった。そこで、当研究室で使用している HeLa に 229E を感染させたところ、細胞の円形変性を伴う CPE が観察され、感染細胞のトリプシン処理により、巨細胞が出現することが判明した。この巨細胞をクリスタルバイオレット染色することにより、顕微鏡下でプラークとして観察され、プラーク形成は one-hit kinetics を示し、簡単で信頼性の高い定量法として確立された。この定量法により、229E の HeLa 細胞での増殖曲線、229E が aminopeptidase N を受容体として利用することなど、229E の一般性状が明らかにされた。[田口文広、川瀬みゆき]

6．川崎病の病因に関する研究

川崎病は乳幼児に好発する急性熱性疾患で、全身の中小動脈炎が特徴であり、冠動脈病変の合併が大きな問題である。日本では年間約 8000 例の発症がある。疫学的な特徴から、病原体が川崎病発症のトリガーになっている可能性が古くから指摘されているが、まだ本体は明らかではない。昨年 Esper 等は川崎病患者から高率にヒトコロナウイルス（HCoV）遺伝子を PCR で検出した。我々は HCoV と川崎病の因果関係を調べる目的で、川崎病患者血清中の HCoV (229E, NL63)に対する抗体を蛍光抗体法で調べた。その結

果､各々NL-63, 229E に対して､川崎病急性期血清は約 40%が陽性を示し、回復期血清では約 70%であった。非患者対照群では、NL-63, 229E に対して各々50%と 13%であった。これらの結果から、NL-63 は回復期では陽性率がかなり高いものの、非患者対照でも 50%を示し、患者特異的に感染があるとは推測できない結果となった。一方、229E に対する抗体は、回復期では約 70%と極めて高い値を示し、健常児対照群の 13%と比べると、川崎病の原因病原体である可能性を否定しないデータが得られた。本研究では、日赤医療センターからの患者血清、感染研血清バンクからの非患者対照血清を用いた。[田口文広、中垣慶子、川瀬みゆき、松原尚子、白戸憲也、今田義夫*、苛原香*、本間順*、今井庸子*、土屋恵司*、麻生誠二郎*、薗部友良*：*日赤医療センター]

7. LAMP 法による RS ウイルス検出法の開発

RS ウイルスの診断はウイルス分離、イムノクロマト法による抗原検出等によってなされる。RS ウイルスは熱、pH 等に対し不安定なため、サンプルを低温で迅速に輸送する必要があり、ウイルス分離は比較的困難である。またイムノクロマト法による抗原検出は臨床上有用であるが、特異度、敏感度は 70～90%である。そこで、RS ウイルスの高感度な遺伝子検出法として､Loop-mediated Isothermal Amplification(LAMP)法による RS ウイルス検出法の開発を行った。RS ウイルスの A 型、B 型のそれぞれについてプライマーセットを設計し､特異性を調べたところ、A 型のプライマーセットは A 型のみ、B 型のプライマーセットは B 型のみを検出し､他の呼吸器疾患を引き起こすウイルス DNA、RNA およびバクテリアゲノムは検出されなかった。また段階希釈ウイルスサンプルを用いて感度を調べたところ 10^{-2}PFU 相当のウイルスが検出可能であった。さらに 59 例の RS 感染症疑い患者の鼻咽頭分泌液からウイルス検出を行ったところ､95%以上のウイルス分離陽性または抗原検出陽性サンプルで RT-LAMP 陽性であった。一方、ウイルス検出、抗原検出ともに陰性のサンプルのうち 12.5%で RT-LAMP 陽性であった。よって本法は RS ウイルス検出に有用であると考えられる。[白戸憲也､西村秀一*、西條政幸**、岡本道子*、野田雅博、田代眞人、田口文広：*仙台医療センター、**ウイルス第 1 部]

8. アデノウイルス感染におけるヒト血清中和抗体測定法の標準化

1950 年代から今日に至るまで、ヒトアデノウイルス(HAdV)に対するヒト血清中和抗体測定法は内外ともに統一されていない。その主な理由は、HAdV の特殊性（50 種類以上の血清型があり、型により生物学的性状が異なる；感染価測定が容易でない；使用する細胞、器材が大きく変化してきた；臨床的にも HAdV 感染症それ自体が社会的に重要視される位置付けにない等）によると考える。しかしながら将来的に考えれば､基本的な点で測定方法を統一しておく意義は少なくない。たとえば、測定値を比較、評価する上でもたいせつであろう。その為の諸条件について実際の現場の立場から､型特異的免疫血清およびヒト血清を使用して再検討を行っている。[荻野利夫、吉井孝男、田代眞人]

9. 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 2004 年度に引き続き検討した。国内臨床分離株 35 株（サブクラス A：22 株, サブクラス B：8 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 35 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。[野田雅博, 田代眞人, 水田克己*, 七種美和子**, 野口有三**：* 山形県衛生研究所, **横浜市衛生研究所]

10. 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)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。このようなウイルスの抗 IFN 能がウイルス増殖にとってどの程度重要なのか調べるために SeV の C 蛋白質にアミノ酸置換を導入し、抗 IFN の無いウイルスを作成した。培養細胞レベルの増殖度が 1/10 以下に低下していることが判明した。[加藤 篤、久保田 耐、田代眞人、永井美之*：*理研]

Ⅵ. その他の研究

1. 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。一方、パラミクソウイルスには IFN を無効化する能力が備わっている事がわかり、ベクターとして用いた場合にベクターの抗 IFN 能力

が、どの宿主細胞にディメリットを与えるのかを検討した。抗 IFN 能を保持したままのウイルスベクターを感染させると、続いてを感染させた VSV 非常に旺盛に増殖し、ウイルス感受性が増加する事が確認できた。ベクターとして長期間使用する場合には二次感染に注意が必要であった。[加藤 篤、森本金次郎*：*ウイルス第一部]

2. ワクチンの品質管理に関する検討（続）

細胞培養用牛血清の多くにはウシポリオーマウイルス（BPyV）の遺伝子断片が混入していること、また一部のヒト用生ワクチンから本ウイルス遺伝子断片が検出されることが明らかとなっている。一方本ウイルスの遺伝子配列等は十分に明らかとされていない。そこで完全長 BPyV 遺伝子の決定及びγ線照射による BPyV 遺伝子の切断に関する影響を調査した。この結果 3 ロットの牛血清から得られた BPyV 遺伝子断片より完全長 BPyV 遺伝子配列を決定した。この結果 BPyV 遺伝子には一定の多様性を持つ事が推測された。またγ線照射により BPyV 遺伝子が切断されることが示唆された。 [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]

3. 小児期および周産期に特有なウイルス感染症の予防に関する研究

妊娠中のサイトメガロウイルス（CMV） の初感染の発生頻度は 0.7～4.1% と推定されそのうち約 40%で胎児に感染が移行する。CMV 胎内感染の発生頻度は検索母数が 4,000 以上に限定すると 0.29～0.48% とほぼ一定である。年代別の胎内感染の発生頻度は経時的に低下したが、臨床的に問題となる症候性胎内感染の発生頻度は増加傾向であった。更に CMV UL 144 の遺伝子領域の hypervariable region を PCR で系統樹解析するとともに glycoprotein B (gB)の多様性についても検討した。系統樹解析では 5 group 3 clade に分類され、gB には 3 型が確認された。[沼崎啓、堤 裕幸*：*札幌医科大学]

4. 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 MHV 特異的受容体(MHVR)を介して細胞に侵入するが、神経病原性 MHV-JHM 株 cl-2 は MHVR を介して感染後、感染細胞から MHVR 非発現細胞へ感染することが知られている(MHVR 非依存性感染)。これは標的細胞の近傍に存在する S 蛋白が MHVR に結合すること無く活性化(構造変化)することによると考えられる。この可能性を検証するため、spinoculation 法（細胞にウイルスを接種し、1750g で遠心）でウイルス粒子と細胞を隣接させることにより、MHV が MHVR 非発現細胞へ感染するか否かを検討した。リアルタイム PCR により spinoculation で接種したウイルスの細胞への吸着は著しく上昇し(20-150 倍)、その吸着率には cl-2、srr7 間で差がないことが明らかになった。また、spinoculation により、cl-2 の BHK への感染は著しく促進された（約 200 倍）が、srr7 の感染は認められなかった。また、受容体非依存性感染力がある組換え cl-2 S 発現細胞では、 S1 が培養上清中へ自然遊離さたが srr７では認められなかった。これらの結果から、受容体非依存性感染は粒子が細胞に接着することと S1 が S2 から遊離することが不可欠であることが示された。以上結果は、これまで提唱されている受容体非依存的感染機構と矛盾しないことが明らかとなった。[渡辺理恵、田口文広]

5. マウス肝炎ウイルス変異株(JHM-srr7)のマウス大脳分離培養細胞への感染に関する研究

マウス肝炎ウイルス(MHV)は CEACAM1（MHVR）を受容体として利用するが、 神経病原性JHM-wt株はMHVRを持たないマウスの脳内の多くの細胞に感染伝播し、急性、慢性の脳脊髄炎を起こす。我々は、新生マウスの神経系培養細胞では、wtおよびwt由来でMHVR依存性にのみ感染するJHM-srr7変異株の両ウイルス共にMHVRを発現するmicroglia系の細胞に感染すること、JHM-wtはその後にはMHVRを持たない細胞へも細胞融合という様式で感染が拡大すること（MHVR非依存性感染）を報告してきた。これらの結果は、マウスに対する神経病原性に反映されている。本実験ではsrr7株の神経系培養細胞への感染を長期に観察し、ウイルス感染細胞が周囲細胞へ及ぼす変化について観察した。新生マウス大脳から分離した細胞培養系は主にneuron,astrocyteとその前駆細胞からなり、MHVRを発現するmicroglia系の細胞は少数であった。Wt感染では感染後24時間で殆ど全ての細胞に感染拡大し培養全体が細胞融合を示したが、srr7感染後24時間ではMHVRを発現する細胞にのみ感染が限定されていた。しかしながら、srr７感染後2日、3日と時間が経過するにつれ、wt感染同様にMHVRを持たないneuron, astrocyte, oligodendrocytesに細胞融合が拡大し、その培養液中には高い力価のウイルスが認められた. 即ち、長期感染によりsrr７でもMHVRを持たない細胞への感染拡大が認められた. 現在この感染メカニズムに着いて解析を行っている。[中垣慶子、田口文広]

レファレンス業務

1. 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 15 種類の 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。本年度も新たに野鳥からは 1 株が分離され、抗原解析の結果、A/H1N1 型であることが分かった。また、ブタからは、1 株の A/H1N2 型ウイルスが分離され、トリのウイルスとともに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。これら解析結果は、ウイルスを分離し供与してくれた地衛研に個別に報告された。[今井正樹、二宮愛、板村繁之、小渕正次、影山努、斉藤利憲、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（改訂版）の公開

2005 年 6 月、茨城県の養鶏場で飼育されているニワトリから、弱毒型の H5N2 鳥インフルエンザウイルスが分離された。これに伴い、養鶏場関係者ならびに殺処分作業従事者の感染監視が行われることとなった。2004 年 1 月に感染研ホームページに掲載した「RT-PCR 法による H5 鳥インフルエンザウイルス遺伝子の検出」は、2004 年からの東アジア諸国における高病原性 H5N1 鳥インフルエンザへの対応策として作成されたものであり、系統の異なる茨城ウイルス（中米系統）の検出感度は低かった。そこで、高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスと中米系統ウイルスの両者を高感度で検出できる方法に改良し、2005 年 7 月に「RT-PCR 法による H5 鳥インフルエンザウイルス遺伝子の検出（第 2 版）」として感染研ホームページに掲載した。[影山努、今井正樹、二宮愛、板村繁之、小渕正次、斉藤利憲、小田切孝人、田代眞人]

3. 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

2005 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/New Caledonia/20/99(IVR-116)(H1N1)、A/New York/55/2004 (H3N2)、B/上海/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（一元放射免疫拡散試験用）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、河野直子、小田切孝人、田代眞人]

4. 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，呼吸器関連ウイルスの標準株の収集，保存を 2004 年度に引き続き行った。また，これらウイルスの増殖／同定に用いる各種試薬等の整備等をあわせて行った。[野田雅博，田代眞人]

5. 急性ウイルス性呼吸器疾患原因ウイルスの株の保存に関する対応

急性ウイルス性呼吸器疾患症例から分離同定された種々の臨床ウイルス株の保存を行った。[野田雅博，田代眞人]

サーベイランス業務

1. ヒト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 76 地方衛生研究所および感染研感染症情報センターの協力のもとに、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。2005/2006 シーズンは流行のピークが第 3～4 週にみられ、ウイルス分離数から見た規模は例年並みであったが、春以降も数県で B 型の散発的な流行がみられた。A/H1、A/H3、B 型の分離比はそれぞれ 25%、66%、9%であった。A/H1 分離株の大半はワクチン株 A/New Caledonia/20/99 類似株であったが、抗原変異株も少数分離された。A/H3 はワクチン株 A/New York/55/2004 とは抗原性の異なる株が 7 割近くを占め、その半数以上は次シーズンワクチン推奨株の A/Wisconsin/67/2005 類似株であった。HA 遺伝子の解析結果からもこれらの分離株のほとんどは A/New York/55/2004 とは区別できる一群を形成した。B 型は昨シーズンとは異なり、全ての分離株は Vicroria 系統株であり、抗原的にも遺伝的にも 2006 シーズン南半球のワクチン株 B/Malaysia/2506/2004 類似株であった。これら、解析結果は定期的に WISH-NET 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推奨株選定会議で報告された。さらに衛生微生物技術協議会、日本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。[小渕正次、斎藤利憲、福家優、影山努、望月菊、野崎智子、板村繁之、今井正樹、二宮愛、河野直子、小田切孝人、田代眞

人]

2. インフルエンザワクチンの臨床評価研究

ワクチンによって得られる抗体が抗原性の変化した流行株にどれぐらい交叉反応するのか調べることは、ワクチンの有効性とワクチン株の変更の必要性を検討する上で重要である。ウイルス 3 部第 1 室では成人層および老人層の各群 30 名からワクチン接種前後のペア血清検体を収集し、流行株との交叉反応性を評価した。同様の評価を英国、米国おとびオーストラリアから入手した血清についても行い、その成績は WHO インフルエンザ協力センター間で交換して、年 2 回開催されるWHOインフルエンザワクチン推奨株選定会議に有効に活用された。 [小渕正次、斎藤利憲、福家優、野崎智子、斉藤玲子*、鈴木宏*、柏木征三郎**、小田切孝人、田代眞人：*新潟大学医学部公衆衛生学、**福岡県赤十字血液センター]

3. ノイラミニダーゼ阻害剤耐性株サーベイランス

抗インフルエンザ薬としてノイラミニダーゼ阻害剤である燐酸オセルタミビル（タミフル）やザナミビル（リレンザ）が開発され、先進諸国ではインフルエンザの治療薬として臨床現場で使用されている。しかし、これらの薬剤に対する耐性株の出現頻度や耐性株の性状などに関する情報が少ないことから、WHO ではノイラミニダーゼ阻害剤耐性株ネットワーク（NISN）を設立して世界規模で耐性株に関するサーベイランスを行っている。我が国は世界で使用されるノイラミニダーゼ阻害剤の 2/3 が消費されるといわれていることから、NISN による耐性株サーベイランスの最重要調査国となっている。そこで、ウイルス 3 部第 1 室は NISN の一員として一昨年、昨年に続いて我が国におけるノイラミニダーゼ阻害剤耐性株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 2004/2005 シーズンの分離株約 2600 株（前年度の 2 倍）を収集し、海外検査機関に送付し薬剤耐性株スクリーニングを行った。 [小渕正次、斎藤利憲、福家優、野崎智子、影山努、板村繁之、今井正樹、二宮愛、望月菊、河野直子、小田切孝人、田代眞人]

4. 新型インフルエンザ株サーベイランス早期情報収集システムの構築

新型インフルエンザの流行に備えた国内体制を速やかにとるためには、新型インフルエンザが出現したことをいち早く察知する必要があり、そのためのサーベイランス体制を確立することが重要である。現行の病原体サーベイランスでは、地衛研でウイルス分離と型（亜型）の同定が行われ、その結果は厚生労働省の WISH 感染症検査情報オンラインシステムを通じて感染研感染症情報センターに報告された後に当室に提供される。しかし、パンデミック時には関係機関が膨大な情報を速やかに処理して利用する必要があることなどから、2006 年度より感染症検査情報オンラインシステムが刷新されることになった。それにより、新システムでは現行の週単位の病原体検出情報データが時間単位で取得でき、当室の解析結果もただちに各機関に還元できるようになる。そこで、新システムのこれらの機能に対応するために当室の受付管理システムのハードウエアおよびソフトウエアを全面的に改良した。さらに、現行の受付管理システムは現在流行しているインフルエンザのみを対象としているため、新型インフルエンザに対応できるようにアプリケーションソフトに新たな項目を追加した。[小渕正次、影山努、小田切孝人、田代眞人]

5. ヒトインフルエンザウイルス流行株の遺伝子解析

インフルエンザウイルスの遺伝子解析は、次シーズンのインフルエンザ流行予測とワクチン株選定にとって重要な役割を占めている。全国 76 地方衛生研究所および関連施設の協力のもとに、2005/2006 シーズンの分離株より、A/H1 型 26 株、A/H3 型 100 株、B 型 123 株の HA1 遺伝子について解析を行った。A/H1 型では、分離株の大半がワクチン株 A/New Caledonia/20/99 類似株であったが、140E や 186N アミノ酸置換を持つ変異株も少数分離された。A/H3 型では、193F アミノ酸置換を有する A/広島/52/2005 類似変異株がほとんどで、ワクチン株 A/New York/55/2004 類似株はほとんど分離されなかった。また、A/New York/55/2004 類似株や A/広島/52/2005 類似株とは遺伝的に区別できる、78D アミノ酸置換を有する一群あるいは 188Y アミノ酸置換を有する一群を形成する株も多数分離された。B 型では、分離株の全てが Victoria 系統であり、遺伝的にも南半球のワクチン株 B/Malaysia/2506/2004 類似株と同じ一群を形成した。[影山努、望月菊、小渕正次、斉藤利憲、福家優、野崎智子、小田切孝人、田代眞人]

6. 日本のブタへの新型インフルエンザウイルスの侵入監視

新型インフルエンザ出現の中間宿主と考えられているブタでのインフルエンザウイルスの流行監視を目的として、前年度までブタにおける鳥インフルエンザウイルスに対する HI 抗体保有調査を行なってきた。しかし、本調査では抗体陽性例が検出されてもその後の追跡調査や必要な対策を迅速かつ適切に講ずることができないなど多くの問題点があった。そこで、本年度からは得られた検査結

果が新型インフルエンザ対策に直結するよう、抗体検出法からウイルス分離法に変更して調査を実施した。全国 14 地区の地衛研に依頼して、ブタの鼻腔ぬぐい液あるいは気管ぬぐい液からウイルス分離を行った。検体を MDCK 細胞に接種し、細胞変性効果を観察したところ、1553 検体中 1 検体で陽性反応が検出された。この陽性検体について赤血球凝集反応および迅速診断キットでウイルス抗原を検出したところ、全て陰性であったことから、ウイルス感染は否定された。したがって、現時点では本邦のブタでは鳥インフルエンザウイルスは確認されておらず、新型ウイルスの侵入の形跡は見られなかった。［今井正樹、二宮愛、小田切孝人、田代眞人］

7.　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 16 県に提供した。標準品の抗体価が地方衛生研究所よりも 2〜4 倍低めに測定される原因として、希釈機器の違いによる影響を調べた。旧機器では希釈時の持ち込み量が規定より少なく、得られる抗体価も低かった。今後は多くの地研が使用している新しい機器で測定した抗体価で表示することとした。また、アクリノールによるインヒビター処理法と従来通りのカオリン処理法を比較した。抗体価が幾分低めになることと手順の面倒さから、従来通りカオリン処理法だけを調査術式とした。地研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]

8.　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 173 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，今井正樹，二宮　愛，小田切孝人，田代眞人]

品質管理に関する業務

1.　インフルエンザ HA ワクチンの力価試験の精度管理及び規格確認

インフルエンザ HA ワクチンは毎年ワクチン株が見直しされるため、ワクチンの国家検定の力価試験として実施されている一元放射免疫拡散試験の測定精度が一定の範囲内にあるように毎年確認して調整する必要がある。また、マウス白血球数減少試験や蛋白質含量試験において生物製剤基準の許容範囲の上限に近いために、毎年のワクチンが規格に適合しているのか確認する必要がある。そこで、各ワクチン製造所で試作されたワクチンについて測定を実施して規格に適合していることを確認するとともに、各製造所の測定値との乖離について検討した。さらに参照インフルエンザ HA ワクチンを使用して各試験の測定精度についての検討を実施した。[板村繁之、河野直子、矢野茂生*、布施晃*、落合雅樹**、堀内善信**、小田切孝人、田代眞人：*血液安全性研究部、**細菌第 2 部]

2.　インターフェロン収去試験

2005 年度のインターフェロン収去試験として、7 品目の製剤に関する検査を行った。その結果、６品目については全て社内規格値に達していたが、１品目の組換えインターフェロンが製造会社社内規格（70-150%）力価を満たしていなかったため、不適とした。本省監視指導課の指導により、当該会社と 2 度の会合を持ち、不適に至った原因究明のため討議し、今後のインターフェロン力価測定方法について指導した。[白戸憲也、川瀬みゆき、斎藤早久良*、田口文広、田代眞人：*当部客員研究員]

国際協力関係業務

1.　WHO 西太平洋地域（WPR）諸国へのインフルエンザ株サーベイランス支援

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標準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ウイルス分離株は世界のインフルエンザ対策にとって重要である。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発展途上にあり、このために感染研、米国 CDC、WPR 事務局が協力して 2000 年から 5 カ年計画で中国インフルエンザ株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。昨年度でこの 5 カ年計画が終了し、一定の成果が得られたことからさらなる進展のために第２次５カ年計画が開始された。

一方、感染研は株サーベイランス連携国へ株抗原解析用標準抗血清キットを毎年配布し、それらの国から亜型同定が行われた分離株を定期的に入手している（中国 185 株、台湾 13 株、韓国 10 株、モンゴル 15 株）。これら海外分離株については、さらに詳細な抗原解析および遺伝子解析を行った。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推奨株選定会議で推奨株選定のための資料として活用された。[小渕正次、影山努、斎藤利憲、福家優、望月菊、野崎智子、板村繁之、今井正樹、二宮愛、河野直子、小田切孝人、田代眞人]

2.　高病原性鳥インフルエンザ感染診断系の構築における国際協力

高病原性鳥インフルエンザの流行の中心である東南アジア諸国は、実験室感染診断系の構築およびその精度管理面において、機材、試薬等設備的に恵まれていないことに加えて、実験担当者の知識、技能レベルにおいても依然として大きく立ち遅れている。このために、これら流行国へは先進諸国からの物質的、技術的支援が不可欠である。そこで感染研ウイルス 3 部第 1 室からは、前年度からベトナムホーチミン市パスツール研究所へ研究員を派遣し、試薬の供与、診断技術指導を行ない、今年度も引き続き支援を行なった。さらに、今年度は JICA の予算的支援を受け、新にインドネシア保健省国立衛生研究所に対して診断機材、試薬の供与を行ない、感染診断技術指導のために免疫部からの協力者 2 名を加えた総勢 7 名の研究員を 9-11 月にかけて派遣した。

一方、3 月にはその後のフォローアップとバイオセーフティー指導のためにベトナムに 6 名、インドネシアに 3 名を再派遣した。また、東南アジア地区で高病原性鳥インフルエンザの流行報告が殆ど挙がってこないミャンマー、ラオスへ調査隊を派遣して流行状況の実態調査および技術支援計画について協議、検討を行なった。[小田切孝人、板村繁之、小渕正次、今井正樹、影山努、横田恭子*、大島正道*、篠原克明**、谷口清洲***、田中政宏***、森兼啓太***、中嶋健介****: *免疫部、**バイオセーフティー管理室、***情報センター、****国際協力室]

3. ベトナムにおける感染症対策プロジェクト形成調査への協力

近年アジアにおいては、SARS、高病原性トリインフルエンザなどの新興感染症の出現が相次いでおり、ベトナムでは重大な健康被害が発生している。このため、わが国としてどのような協力が可能であるのか検討するために、ベトナムにおける新興再興感染症対策における課題や協力内容の妥当性についての調査を国際協力機構(JICA)によって実施されることになった。そのプロジェクト形成調査団員の一員として 2005 年 6 月 17 日より 6 月 22 日までベトナムにおける調査に参加し、SARS、高病原性トリインフルエンザなどの実験室診断に必要な BSL-3 実験室や検査機材の設置、およびそれに伴う施設の運用や検査材料等の安全な取扱いに関する技術協力が必要であることを報告した。[板村繁之]

4. Vero/hSLAM 細胞の分与

WHO の Global Specialized Laboratory (GSL) および Regional Reference Laboratory (RRL) として麻疹ウイルス野生株分離用細胞の 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、オーストラリアの Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory (VIDRL)、香港の Public Health Laboratory Centre の各研究機関に分与した。[菅井敏行、染谷健二、齋藤義弘*、沼崎啓：
*慈恵医科大学小児科]

5. WHO 西太平洋地域諸国における麻しんサーベイランスへの協力

日本を含めた西太平洋地域における麻しん感染者数は依然高く、1996 年に策定され、2001 年に改訂された麻しん対策の地域計画が推進されている。ウイルス第三部第三室は、西太平洋地域のリファレンスラボラトリーに指定され、各国より送られてきた臨床検体からのウイルス分離とその分離ウイルスの遺伝子型解析、抗麻しん抗体の検出を行っている。2005 年度には 15 検体の解析を行い、これらの結果はそれぞれの国に還元された。[染谷健二、宮沢貴麿呂*、菅井敏行、沼崎 啓、田代眞人：*三菱化学 BCL]

研修業務

1. 高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修

これまで高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術支援を行なってきたベトナムパスツール研究所から 2 名、インドネシア保健省国立衛生研究所から 1 名およびインフルエンザ株サーベイランス技術支援を行なってきたモンゴル国立感染症研究所から 1 名を感染研ウイルス第 3 部第 1 室に招聘して、3 月 1 日から 1 ヶ月間、実験室診断技術、株サーベイランスの手法などについて技術研修を行なった。研修では、高病原性鳥インフルエンザの基礎知識の習得、感染診断系の精度管理法の習得、プライマー設計技能の習得、遺伝解析法の習得などそれぞれの研究所の現有設備を最大限に活用し、より精度の高い検査対応ができることを到達目標とした。一方、毎週末には研究室スタッフの企画による研修生との交流と国際親善が図られた。[小田切孝人、今井正樹、影山努、二宮愛、小渕正次、板村繁之、斉藤利憲、河野直子、望月菊、田代眞人]

2. インフルエンザワクチン製造における品質管理に関する研修

台湾行政院衛生署から 4 名の研修員を受け入れて 2005 年 10 月 11 日、12 日の両日インフルエンザワクチン製造に関する概要について研修を実施した。また、11 月には品質管理に係わる力価試験についての研修を実施した。[小田切孝人、板村繁之、河野直子]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1． 欧文発表

1) The World Health Organization Global Influenza Program Surveillance Network (Aubin JT, Azebi S, Balish A, Banks J, Bhat N, Bright RA, Brown I, Buchy P, Burguiere AM, Chen H, Cheng P, Cox NJ, Crosier A, Curns A, Cuvelier F, Deng G, Desheva J, Desvaux S, Diep NH, Donis RO, Douglas A, Dowell SF, Dung NT, Edwards L, Fukuda K, Garten R, Govorkova E, Gregory V, Hampson A, Hanh NTH, Harper S, Hay A, Hoffmann E, Hulse D, Imai M, Itamura S, Jadhao S, Jeannin P, Kang C, Katz J, Kim JH, Klimov A, Kwon Y, Lee C, Lien PS, Li Y, Lim W, Lin YP, Lindstom S, Loftin L, Mabry J, Mai LQ, Maines T, Manuguerra J, Mase M, Matsuoka Y, McCarron M, Medina M, Nguyen D, Ninomiya A, Obuchi M, Odagiri T, Peiris M, Perdue ML, Reynes J, Robertson J, Rousseaux C, Saito T, Sangkitporn S, Shaw M, Simmerman JM, Slomka M, Smith C, Sorn S, Spackman E, Stohr K, Suarez DL, Sung HW, Swayne DE, Tardy-Panit M, Tashiro M, Thawatsupha P, Tumpey T, Uyeki T, Tu PV, van der Werf S, Vong S, Webby R, Webster R, Wood J, Xu X, Yi G, and Zhang W). Evolution of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. Emerg. Infect. Dis.11: 1515-1521(2005)

2) Ohnishi K, Sakaguchi M, Kaji T, Akagawa K, Taniyama T, Kasai 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. Jpn J Infect Dis. 58(2): 88-94 (2005)

3) Sakai T, Ohuchi M, Imai M, Mizuno T, Kawasaki K, Kuroda K, and Yamashina S,:Dual wavelength imaging allows analysis of membrane fusion of influenza virus inside cells. J Virol. 80:2013-2018 (2006)

4) Gopinath SC, Misono TS, Kawasaki K, Mizuno T, Imai M, Odagiri T, and Kumar PK, :An RNA aptamer that distinguishes between closely related human influenza viruses and inhibits haemagglutinin-mediated membrane fusion. J Gen Virol. 87:479-487 (2006)

5) Imai M, Mizuno T, and Kawasaki K, :Membrane fusion by single influenza hemagglutinin trimers. Kinetic evidence from image analysis of hemagglutinin-reconstituted vesicles. J Biol Chem. 281:12729-35 (2006)

6) 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. J Gen Virol. 86: 2269-2274 (2005)

7) Liem NT, Lim W, World Health Organization International Avian Influenza Investigation Team, Vietnam (Anh BH, Barboza P, Bhat N, Arnold Bosman A, Boqvist S, Brown R, Brudon P, Calain P, Cheng M, Curns A, Delpech V, Dietz R, Doan NC, Doran R, van Beest Holle MDR, Francart J, Fukuda K, Wolkin A, Gautier P, Hasebe F, Horby P, Itamura S, Jestin V, Mak D, Miranda N, Oshitani H, Saito T, Maines T, Saito R, Simmerman JM, Tumpey T, Uyeki T). Lack of H5N1 avian influenza transmission to hospital employees, Hanoi, 2004. Emerg Infect Dis. 11: 210-215 (2005)

8) Numazaki, K.: Human cytomegalovirus infections in premature infants by breastfeeding. Afr. J. Biotechnol. 4: 867-872 (2005).

9) Numazaki, K., Asanuma, H., Niida, Y.: Respiratory tract infections due to *Chlamydia trachomatis* in early neonatal period. In: Kishimoto, T., Yamazaki, T., Kuo, C-C., eds. Symposium on Chlamydial Infections, Proceedings of The Third Joint Auspices of Japan Society for Chlamydia Research and Department of Pathobiology, University of Washington, pp. 16-21, Life Science Co. Ltd., Tokyo, (2005).

10) Tanaka, K., Numazaki, K., Tsutsumi, H.: Human cytomegalovirus genetic variability in strains isolated from Japanese children during 1983-2003. J. Med. Virol. 76: 356-360 (2005).

11) Nishiyama, K., K. Takaji, K. Kataoka, Y. Kurihara, M. Yoshimura, A. Kato, H. Ogawa, and H. Kurihara. Id1 gene transfer confers angiogenic property on fully differentiated endothelial cells and contributes to therapeutic angiogenesis. Circulation 112:2840-2850 (2005).

12) Yoneyama, M., M. Kikuchi, K. Matsumoto, T. Imaizumi, M. Miyagishi, K. Taira, E. Foy, Y-M. Loo, M. Gale, Jr., S. Akira, S. Yonehara, A. Kato, and T. Fujita. Shared and Unique Functions of the DExD/H-Box Helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in Antiviral Innate Immunity. J. Immunol. 175(5):2851-2858 (2005).

13) Sakaguchi, T, A. Kato, F. Sugahara, Y. Shimazu Y, M.

Inoue, K. Kiyotani, Y. Nagai, and T. Yoshida. AIP1/Alix is a binding partner of Sendai virus C protein and facilitates virus budding. J. Virol. 79:8933-8941 (2005).

14) Kubota, T., N. Yokosawa, S. Yokota, N. Fujii, M. Tashiro, and A. Kato. Mumps virus V protein antagonizes interferon without the complete degradation of STAT1. J. Virol. 79:4451-4459 (2005).

15) Saika S, M. Kidokoro, H. Kubonoya, K. Ito, T. Ohkawa, A. Aoki, N. Nagata, K. Suzuki :Development and biological properties of a new live attenuated mumps vaccine. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 29: 89-99 (2006).

16) Matsuyama S, Ujike M, Morikawa S, Tashiro M, and Taguchi F. Protease-mediated enhancement of SARS coronavirus infection. Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A. 102: 12543-12547 (2005)

17) 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. J. Virol. Methods. 125: 181-186 (2005)

18) Nakagaki K, Nakagaki K, and Taguchi F Receptor-independent spread of a highly neurotropic murine coronavirus JHMV from initially infected microglial cells in mixed neural culture. J. Virol. 79: 6102-6110. (2005)

19) Shirato, K., Miyoshi, H., Kariwa, H., Takashima, I. The kinetics of proinflammatory cytokines in murine peritoneal macrophages infected with envelope protein-glycosylated or non-glycosylated West Nile virus. Virus Res. 121: 11-16. (2006)

20) Ujike, M., Nakajima, K., Nobusawa, E. A point mutation at the C terminus of the cytoplasmic domain of influenza B virus heamagglutinin inhibits syncytium formation. J. Gen. Virol. 87: 1669-1676. (2006)

2． 和文発表

1) 小田切孝人:今期のインフルエンザの動向予測と新型インフルエンザ対策 The Midical Test Journal 951: 6 (2005)

2) 板村繁之：人における鳥インフルエンザ 獣医畜産新報 58(10)：865-870 (2005)

3) 板村繁之:高病原性鳥インフルエンザ、感染制御 2(1)：43-47 (2006)

4) 沼崎啓: 小児に多い感染症とその対策－当院での対応－8.マイコプラズ肺炎、小児看護 28: 618-624 (2005)

5) 沼崎啓: 感染制御と教育、 市民（親や子ども）の教育/啓蒙、コミュニケーション一麻疹根絶に向けての取り組みを中心に一、小児科臨床 58: 2575-2583 (2005)

6) 田中香織、堤裕幸、沼崎啓:サイトメガロウイルス感染症、小児科診療 68: 2116-2121 (2005)

7) 沼崎啓: 冬の院内ウイルス感染対策、感染と抗菌薬 8: 413-415 (2005)

8) 沼崎啓 翻訳: グラム陰性菌感染症（衛藤義勝 監修. ネルソン小児科学 Nelson Textbook of Pediatrics 17th edition. 第 184-192 章.)エルゼビア・ジャパン、東京、 944-968 (2005)

9) 田代眞人、岡田晴恵：インフルエンザ備えあれば感染少ない、健康のひろば(1550):2-3(2005)

10) 岡田晴恵：新型インフルエンザ大流行の可能性と対策 Circles 7(3) :3-6(2005)

11) 岡田晴恵：身近に迫る感染症の脅威 金沢工業大学情報誌「Back Up」No.25 (2005)

12) 岡田晴恵:麻疹風しんワクチン二回接種の導入 小児科臨床 59:7-16 (2006)

13) 岡田晴恵：「感染症は世界史を動かす」ちくま新書 (2006)

14) 加藤篤、久保田耐 : 広範囲血液・尿化学検査、免疫学的検査 ムンプスウイルス 日本臨床 63:352-355 (2005)

15) 田口文広：SARS SARS コロナウイルス：特集「動物由来ウイルス感染症」日本臨床 63(12):2113-2120(2005)

16) 田口文広:マウス肝炎ウイルスおよび SARS コロナウイルスの細胞侵入機構： 病原性発現への関与 実験医学 23(17):28-33 (増刊)(2005)

Ⅱ． 学会発表

1．国際学会

1) Odagiri T. , Imai M., Ninomiya A., Minekawa H., Notomi T., Ishizaki T., Tu P.V., Tashiro M.: Development of H5-RT-LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) system for rapid diagnosis of H5 avian influenza virus infection. The Second European Influenza Conference, Malta, September, 2005

2) Ninomiya A., Imai M., Tashiro M., Odagiri T. :Inactivated influenza H5N1 whole-virus vaccine with aluminium adjuvant induces cross-protective immunity against lethal challenge with highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses Vaccine The Second European Influenza

Conference, Malta, September, 2005

3) Odagiri T. : Strain evolution of H5N1 avian influenza from Hong Kong 1997 to Vietnam/Thailand 2004/2005. Taiwan Influenza Study Group Symposium on Influenza Pandemic. Taiwan, August, 2005.
4) Odagiri T. : Selection of vaccine strain for H5N1 influenza pandemic. Taiwan Influenza Study Group Symposium on Influenza Pandemic. Taiwan, August, 2005.
5) Odagiri T.: Development of H5N1 vaccine in Japan. US/Japan Cooperative Medical Science Program ARI Panel. 10th Annual Meeting, Galveston, USA, January, 2006.
6) Odagiri T.: International responses of WHO influenza collaboration center in Tokyo on the outbreaks caused by highly pathogenic H5N1 avian influenza. Asian Research Forum on Emerging and Reemerging Infectious Diseases-2006. Tokyo, February, 2006.
7) Otsuki, N., Itoh, O., Umino, Y., Tashiro, M.: Detection of bovine polyomavirus DNA in bovine serum used for cell culture and live viral vaccines available in Japan. Viral & TSE Safety Conference. Washington,D.C.,USA May 16-18, 2005
8) Aoki, K., Akanuma, M., Ohguchi, T., Ohno, S., Ishiko, H., Numazaki, K. Genetic and serological diversity of Chlamydia trachomatis. World Health Organization Prevention of Blindness & Deafness TTRACHOMA SCIENTIFIC WORKSHOP, Geneva, Switzerland, April 18, 2005.
9) Numazaki, K. Vero/SLAM cell line. WHO/WPRO Hands-on Training/Workshop on the Laboratory Diagnosis of Measles Virus Infection., March 13-18, Hong Kong, 2006.
10) Sakagushi, T., A. Kato, K. Kiyotani, Y. Nagai, T. Yoshida. AIP1/Alix is a binding partner of Sendai virus C protein and facilitates virus budding. XIII International Congress of Virology. San Francisco, CA, USA July 23-28, 2005
11) Kato, A., K. Kiyotani, M. Tashiro, Y. Nagai. Sendai virus strategy to circumvent the self-limiting growth due to autocrine and paracrine interferon. XIII International Congress of Virology. San Francisco, CA, USA July 23-28, 2005
12) Kidokoro, M., M. Tashiro, and H. Shida: Novel genetically stable vaccine strains constructed from vaccinia LC16m8. XIII International Congress of Virology. San Francisco, CA, USA July 23-28, 2005
13) Taguchi F. Cell entry mechanism of SARS and murine coronaviruses; implication in pathogenesis. German-Japanese Symposium on Emerging and Reemerging Viruses. Toyama, Japan, May, 2005
14) Taguchi F. and Matsuyama S. Protease-mediated enhancement of ARS-CoV infection. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA June, 2005
15) Watanabe R. and Taguchi F. Receptor-independent infection of mouse hepatitis virus; analysis by spinoculation. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
16) Nakagaki K., Nakagaki K. and Taguchi F. Receptor-independent spread of a murine coronavirus JHMV in mixed neural cell culture. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
17) Zamoto A, Taguchi F, Fukushi S, Morikawa S and Yamada YK. Identification of ferret ACE2 and its receptor function for SARS-CoV. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
18) Fukushi S, Mizutani T., Saijo M, Matsuyama S, Taguchi F, Kurane I, and Morikawa S. Pseudotyped vesicular stomatitis virus for functional analysis of SARS-CoV spike protein. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
19) Ishii K., Yokota Y, Takemori T, Hasegawa H, Mizutani T, Morikawa S, Taguchi F, and Miyamura T. Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Xth International Nidovirus symposium. Colorado Springs, USA, June, 2005
20) Taguchi F. Protease-mediated enhancement of SARS-CoV infection . The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji Japan, September, 2005
21) Watanabe R., Taguchi F Receptor-independent infection of JHMV: analysis by spinoculation. The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji Japan, September, 2005.

2. 国内学会

1) 小田切孝人: 2004/05 シーズンのインフルエンザ流行解析と次シーズンのワクチン　平成 17 年度衛生微生物技術協議会、福井市、2005 年 7 月
2) 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 9 回日本ワクチン学会、大阪、2005 年 10 月
3) 板村繁之、小田切孝人、田代眞人、駒瀬勝啓、多田善

一、後藤修郎、池田富夫　インフルエンザパンデミックワクチン開発に関わる試作モックアップワクチンの調製およびその性状　第9回日本ワクチン学会、大阪、2005年10月

4) 小田切孝人: 高病原性鳥インフルエンザから新型インフルエンザへ　第5回日本バイオセーフティー学会、横浜、2005年11月

5) 一戸猛志、田村慎一、千葉丈、小田切孝人、田代眞人、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹　NKT細胞活性化による粘膜免疫応答の誘導と高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するワクチンへの応用　第53回日本ウイルス学会・総会、横浜、2005年11月

6) 小渕正次、今井正樹、小田切孝人: B型インフルエンザウイルスBM2蛋白膜貫通領域の機能解析　第53回日本ウイルス学会・総会、横浜、2005年11月

7) 小田切孝人、小渕正次、影山努、板村繁之、今井正樹、二宮愛、西藤岳彦、田代眞人:　2004/05シーズンのインフルエンザ流行株と平成17年度のワクチン株　第53回日本ウイルス学会・総会、横浜、2005年11月

8) 二宮愛、今井正樹、田代眞人、小田切孝人: 2004年H5N1型高病原性鳥インフルエンザ分離株を用いたアルムアジュバント添加弱毒化ワクチンのマウスにおける有効性の検討　第53回日本ウイルス学会・総会、横浜、2005年11月

9) 小田切孝人: 高病原性鳥インフルエンザの現状と新型インフルエンザ対策　第3回東海北陸ブロック健康危機管理連絡協議会、名古屋、2005年11月

10) 小田切孝人: 高病原性鳥インフルエンザと新型インフルエンザ対策　平成17年度希少感染症診断技術研修会、国立感染症研究所、2006年2月

11) 今井正樹：高病原性鳥インフルエンザの実験室診断法および途上国で見た診断法の問題点　平成17年度希少感染症診断技術研修会、国立感染症研究所、2006年2月

12) 小田切孝人: 高病原性鳥インフルエンザの流行と感染研の活動（研究活動、国際貢献)、第30回国立感染症研究所安全連絡協議会、国立感染症研究所、2006年3月

13) 小田切孝人: 高病原性鳥インフルエンザの流行における日本の国際貢献と求められるもの　第29回インフルエンザ研究者交流会シンポジュウム、仙台、2006年3月

14) 大槻紀之：細胞培養用ウシ血清中のウシポリオーマウイルス、第5回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム、東京、2005年12月

15) 沼崎啓：小児におけるマイコプラズマおよびクラミジアの病原性、東北小児感染症懇話会、特別講演、仙台、2005年4月

16) 沼崎啓：小児科でよくみられる呼吸器感染症の新しい話題　平成17年京都市学校医会、小児科医会学術講演会　特別講演、京都、2005年5月

17) 沼崎啓：小児科領域のクラミジア感染症と感染制御戦略、第19回北海道クラミジア・感染・免疫研究会　特別講演、札幌、2005年5月

18) 田中香織、堤裕幸、沼崎啓：妊婦の膣拭い液におけるサイトメガロウイルスのreal-time PCRを用いた検出および定量化、第46回日本臨床ウイルス学会、福岡、2005年6月

19) 沼崎啓：わが国の麻疹対策の現状と展望－WHO世界特別麻疹検査室および地域レファランス検査室の役割を中心にー、平成17年ウイルス検査技術連絡会講演,東京、2005年9月

20) 沼崎啓: 世界から麻疹が消える日を目指して-WHOの麻疹根絶計画- ワクチンセミナー「麻疹根絶をめざして」特別講演、苫小牧、2005年10月

21) 沼崎啓：小児呼吸器感染症の最近の動向と治療戦略－マイコプラズマおよびクラミジアを中心にー、第7回浜松呼吸器感染症セミナー特別講演，浜松、2005年10月

22) 沼崎啓：小児期ウイルス感染症の問題点と流行期の感染防止対策シンポジウム「小児病棟で問題となるウイルス感染症とその対策」、第21回日本環境感染学会総会、東京、2006年2月

23) 沼崎啓：小児呼吸器感染症の新しい概念と治療戦略、平成18年相模原市医師会小児科医会総会特別講演、相模原、2006年3月

24) 岡田晴恵：麻疹ウイルス感染及びワクチン接種が引き起こす宿主免疫の生体機能の解析、第46回日本臨床ウイルス学会、シンポジウム、福岡、2005年6月

25) 岡田晴恵:「人類 vs 感染症」、TEPCOセミナー、東京、2005年6月

26) 岡田晴恵:大人も罹る麻疹と風疹・鳥インフルエンザの脅威、　日本厚生協会、東京、2005年10月

27) 加藤篤、清谷克寛、久保田耐、田代眞人、永井美之　センダイウイルス抗インターフェロン能力の感染に及ぼす意味、第16会日本生体防御学会学術総会、東京、2005年8月

28) 安井文彦、北畠正大、井上真吾、新井正明、森田公一、村井深、水野喬介、木所稔、志田壽利、松島綱治、小原道法:ワクシニアウイルスを母体としたSARSワクチンの開発、第3回日本予防医学リスクマネージメント

学会年次総会、東京、2005 年 9 月

29) 木所稔, 田代眞人 ：遺伝的安定性と免疫原性に優れた弱毒痘瘡ワクチン株の開発と B5R 遺伝子の機能、第 9 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2005 年 10 月

30) 木所稔、齋加志津子、窪谷弘子、加藤篤、田代眞人 ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子の同定と解析、第 53 会日本ウイルス学会学術集会、横浜、2005 年 11 月

31) 清谷克寛、坂口剛正、加藤篤、永井美之、吉田哲也 V 欠損センダイウイルスのマウス肺からの早期排除は IRF3 を介して起こる、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2005 年 11 月

32) 加藤篤、清谷克寛、久保田耐、田代眞人、永井美之　センダイウイルス抗インターフェロン能力の感染に及ぼす意味、第 53 会日本ウイルス学会学術集会、横浜、2005 年 11 月

33) 安井文彦、北畠正大、横地祥司、井上真吾、森田公一、志田壽利、木所稔、村井深、松島綱治、小原道法：SARS コロナウイルスの全構造蛋白質発現型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 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2005 年 11 月

34) 安井文彦、北畠正大、横地祥司、井上真吾、森田公一、志田壽利、木所稔、村井深、松島綱治、小原道法：SARS コロナウイルスの全構造蛋白質発現型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 28 回日本分子生物学会年会、福岡、2005 年 12 月

35) 渡辺理恵、田口文広：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 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005 年 11 月

36) 松山州徳、氏家誠、森川茂、田代眞人、田口文広: プロテアーゼによる SARS コロナウイルスの感染増強、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005 年 11 月

37) 中垣慶子、田口文広：マウス肝炎ウイルス変異株(JHM-srr7)のマウス大脳分離培養細胞への感染に関する研究、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005 年 11 月

38) 白戸憲也、野田雅博、田代眞人、田口文広：Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)法による Human respiratory syncytial virus (hRSV)の検出法の開発、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜 2005 年 11 月

39) 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、水谷哲也、森川茂、田口文広、田代眞人、鈴木哲朗、宮村達男：高度弱毒化ワクシニアウイルス株 DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005 年 11 月

4．細 菌 第 一 部

部 長　渡 辺 治 雄

概　要

国内においてPulse-Net Japanを地方衛生研究所との間に構築してきた。今年から「アジアにおけるCDC様機能を持つ研究機関との連携による協力体制の確立」の研究事業を開始した。そのひとつとして、Pulse-Net Asia Pacificの構築を開始した。関連する研究機関として中国CDC、韓国CDC/NIH,台湾CDC,香港衛生研究所、フィリピンNIH,ベトナムNIHE,マレーシアInstitute of Biological Sciences、タイNIH,インドNICID,バングラデシュICDDRB,オーストラリアUniversity of Melbourne、ニュージーランドInstitute of Environmental Science & Research、米国CDCそしてNIIDの14機関である。対象菌株としてはアジア各国で共通に関心のある *V. cholerae, V. parahaemolyticus* を選んだ。漸次 *Salmonella*,EHECを追加していくことにしている。分子疫学的方法として、PFGEをまず選定し、同時にMLVAに関しても参加希望機関の間で試行する。技術の研修は香港衛生研究所、米国CDC,NIIDが担当した。まず参加国間でPFGEの精度管理をインターネットを介して実施し、かなりの精度の画像が得られることを確認している。この試行を重ねることにより、Asia—Pacific間で菌株の遺伝型の相互の情報交換が可能となる。ラボ間でのネットワークの構築は、国を越えて発生する感染事例の早期発見、拡大阻止に効果を発するであろう。

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。

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（アジアネット、パルスネット、人畜共通感染症,薬剤耐性機序、バイオテロ対策等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、17年12月31日付けで、廣瀬健二が辞職した。

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)　志賀毒素産生性大腸菌の血清型に関する研究

平成17年度に細菌第一部に送付された志賀毒素産生性大腸菌は総計2,596株であり、上位を占めたO血清群はO157（約76%: H7またはH-），O26（約15%: H11またはH-），O111（約2.6%: H-），O121（約0.69%: H19またはH-)，O91（約0.58%: H14，H21またはH-)，O103（約0.58%: H2，H11，H28またはH-）で、その他の菌株は少なくとも23のO血清群に分類された。（伊豫田淳、田村和満、高井信子、小泉信夫、森田昌知、泉谷秀昌、齊藤剛仁 [情報センター]、佐藤人美、陸彦 [流動研究員]、寺嶋淳、渡辺治雄）

（２）腸管出血性大腸菌のPFGEによるDNA型別

2005年に国内で分離された腸管出血性大腸菌O157のうち 2016株およびO26，O111等を含むその他の血清型638株、また2004年以前に分離された腸管出血性大腸菌45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。2005年分離のO157については、*Xba*I消化により956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。また、2004年に観察されたパターンと同じと思われるパターンが70種類検出された。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33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り、*Bln*I消化によってもそれぞれ同一パターンを示した。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、渡辺治雄）

（３）腸管出血性大腸菌 O157 の Multiple Locus VNTR Analysis による解析

PFGE を補完する DNA 型別法の一つとして、腸管出血性大腸菌 O157 のゲノム配列に基づき、複数の遺伝子座における Variable Number Tandem Repeat の repeat 数を調べることにより菌株の多様性を調べた。本研究では、米国疾病予防センター（CDC）より分与された 9 種類の蛍光標識プライマー及び標準株となる O157、50 株による精度管理も行った。国内分離株では、2004 年及び 2005 年の広域分離株で *Xba*I 及び *Bln*I による PFGE 解析で同一パターンとなった、O157 を使用した。その結果、1 ヶ月程度の短期間に広域で分離された株では MLVA においても相違がほとんどなかったものの、数ヶ月以上の長期にわたって広域で分離された株では、複数の遺伝子座において repeat 数の違いが見出され、菌株に多様性があることが示唆された。したがって、今回解析した O157 については、MLVA により PFGE では識別できない多様性を検出することができると考えられた。（裴　迎新、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、渡辺治雄）

（４）PFGE によるデータベース構築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。腸管出血性大腸菌 O157 の 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、各地方衛生研究所のブロック代表者に対してユーザー名とパスワードを配布し、よりアクセスが容易な感染研のホームページ利用による解析結果公開を試行した。今後、対象機関を全国に拡大し公開を行うことを検討中である。（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、渡辺治雄）

（５）LEE 遺伝子群の発現制御に関する研究

腸管出血性大腸菌は病原性に必要な遺伝子群として、locus of enterocyte effacement（LEE）と呼ばれる染色体上領域を保有する。LEE は 41 ものオープン・リーディングフレームから構成され、宿主細胞への接着因子とそのレセプター、３型蛋白質輸送装置、およびそれを介して宿主細胞へターゲッティングされる作用因子などをコードしている。本研究では LEE 遺伝子群の発現制御機構を解析する過程で、３型蛋白質輸送装置と細菌の運動器官である鞭毛の発現が、LEE にコードされる発現制御因子 GrlA によって協調的に制御されていることを明らかにした。

(ア) LEE と鞭毛の協調発現制御機構

LEE 領域にコードされ、LEE 遺伝子発現の負の制御因子として機能する GrlR の欠失株では LEE の発現が脱抑制される一方、菌の運動性が野生株と比較して顕著に抑制される現象を見出した。GrlR による LEE の発現制御は、正の制御因子である GrlA の活性制御を介して行われていることから、両者の単独および二重欠失株における鞭毛発現を解析した。GrlR 欠損株または GrlA 過剰産生株では、鞭毛の形態形成や運動性が顕著に抑制されることから、GrlA は鞭毛発現の負の制御因子として機能することが示唆された。（伊豫田淳、小泉信夫、佐藤人美、陸彦、齊藤剛仁、大西真、渡辺治雄）

(イ) LEE の正の制御因子 GrlA は鞭毛マスターオペロンの転写発現を抑制する

鞭毛の形態形成や機能発現には約 50 もの遺伝子の機能が必要であり、これらの鞭毛遺伝子は転写発現の階層性から 3 つのクラスに別けられる。GrlA による鞭毛発現抑制機構を分子レベルで解析する目的で、各クラスの代表的な鞭毛オペロン、*flhD, flgA, fliC* と *lacZ* の転写融合体を作製し、それらの転写活性を測定した。その結果、GrlA は鞭毛のマスターオペロンである *flhD* の転写を抑制することで鞭毛レギュロン全体の発現を調節していることが明らかとなった。（伊豫田淳、小泉信夫、佐藤人美、陸彦、齊藤剛仁、大西真、渡辺治雄）

(ウ) 鞭毛マスターオペロンの構成的発現は EHEC の培養細胞への接着を阻害する

GrlA 依存性の鞭毛発現抑制機構の生物学的意義を探るために、転写調節領域を欠いた鞭毛マスターオペロン全体（遺伝子 *flhD* および *flhC* を含む）を *lac* プロモーター制御下で発現可能なプラスミドを構築した。このプラスミドで形質転換した EHEC は HeLa 細胞表面におけるマイクロコロニー形成、およびそれに伴う細胞傷害性が顕著に阻害されることから、GrlA に依存した鞭毛マスターオペロンの発現抑制が EHEC の宿主細胞への接着性に重要であることが示唆された。（伊豫田淳、小泉信夫、佐藤人美、陸彦、齊藤剛仁、大西真、渡辺治雄）

（６）LEE 非保有型志賀毒素産生性大腸菌（LEE-negative Shiga-toxin producing *E. coli*: LN-STEC）の接着遺伝子に関する研究

これまでの我々の研究から、LN-STEC の一群は宿主細胞への接着因子 EibG によって宿主細胞へ強固に接着することが明らかとなった。*eibG* を特異的に増幅可能な PCR 反応系を構築し、その分布を解析した結果、*eibG* は血清群 091 を含む一部の LN-STEC にのみ存在し、解析に供した常在性大腸菌や STEC 以外のカテゴリーに属する下痢原性大腸菌には存在しないことが判明した。（陸彦、伊豫田淳、佐藤人美、齊藤剛仁、寺嶋淳、渡辺治雄）

II．サルモネラに関する研究

（１）*Salmonella* Enteritidis のファージ型別による解析

2005 年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 552 株（うち、2005 年分離株は 256 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 2005 年の集団事例 30 件のファージ型（PT）の内訳としては、PT1 が 6 件（20%）、PT4 が 6 件（20%）、PT14ｂが 5 件（17%）、その他 15 件であった。PT1 および PT4 の割合は減少傾向にあり、一方 PT14ｂが増加傾向にある。（泉谷秀昌、寺嶋淳、渡辺治雄）

（２） *Salmonella* Typhimurium のファージ型別による解析

2005 年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株 77 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 28 株であった。（泉谷秀昌、寺嶋淳、渡辺治雄）

（３）*Salmonella* Enteritidis 薬剤感受性試験

上記ファージ型別に供した 2005 年に発生した 30 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 22 件、SM 単剤耐性のものが 7 件と大勢を占めた。これ以外に ABPC 耐性が 1 件検出された。（泉谷秀昌、寺嶋淳、渡辺治雄）

（４）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））

（５）フルオロキノロン高度耐性 *Salmonella* Typhimurium 株の解析

2005 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、上記のうち GM にのみ感受性を示すもの（n=1）の 2 種類が存在した。ファージ型別に関しては、1 株をのぞき、すべて DT193 と同定された。残り 1 株は DT12 で、これは 2001 年分離株であった。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、いずれもこれまで検出されているものと同様の変異が観察された（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、渡辺治雄）

（６）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

2005 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・パラチフス A 菌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 31 株、パラチフス A 菌 12 株で、チフス菌・パラチフス A 菌ともに例年に比べ分離数が減少した。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、E1、B1 であった。パラチフス A 菌では 2、4、6 であった。（森田昌知、廣瀬健二、高井信子、渡邉治雄）

（７）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

2005 年に国内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系及び第 3 世代セフェム系抗菌薬等に対する 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 剤、その他に従来の治療薬等合計 19 剤を検討した。感受性試験の結果、チフス菌で約 37%、パラチフス A 菌で約 92%がニューキノロン低感受性菌であることが分かった。（森田昌知、廣瀬健二、高井信子、渡邉

治雄）

（８）リジンデカルボキシラーゼ陰性 *Salmonella* Enteritidis 株の解析

リジンデカルボキシラーゼ（LDC）試験陰性 *Salmonella* Enteritidis 株について解析を行った。LDC 活性が正の制御遺伝子である *cadC* を有するプラスミドの導入により回復したことから、LDC 陰性株では *cadC* 及びその周辺領域に変異があると考え、塩基配列を決定した。*cadC* の発現調節領域には変異がなかったが、*cadC* の 973 番目のシトシンの１塩基欠失が明らかとなった。従って、１塩基欠失によるフレームシフトが生じ、本来 514 アミノ酸からなる CadC が C 末端を欠損したタンパク質として発現されることが推測された。この欠損した領域は菌体外 pH 及びリジン濃度といった外部環境への応答に関与していることから、LDC 活性を誘導するこれらの環境因子に応答できなくなり、LDC 陰性になったと考えられた。（森田昌知、泉谷秀昌、寺嶋淳、廣瀬健二、渡邉治雄）

（９）*Salmonella enterica* Serovar Typhimurium の細胞侵入性遺伝子群発現制御に関する研究

（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* 自体の発現制御について

これまでに報告したように、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。さらに、高濃度、300mM における抑制効果に、*hilA* の negative regulator として報告されている *hilE* 遺伝子が必須であることを示した。*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た。この仮説を検証中した。*hilE* 遺伝子 promoter 領域を promoter を持たない *lacZ* 遺伝子に融合させ、*hilE* 発現レポーターを作製し 1,2-propanediol の有無で発現量を比較したが、有為な発現の変化は見出せなかった。HilE 産物の活性として唯一報告されているのは、*hilA* の直接の activator、HilD への結合による不活化である。この活性が 1, 2-propanediol を含む培地の菌体中で上昇するか探るため、Bacterial two-hybrid system を用いて、HilE-HilD 相互作用の程度を数値化できる系を作製し検討した。しかし、1, 2-propanediol の有無による有為な変化は認められなかった。以上のことより、HilE が既報とは別の未知の活性によっても *hilA* 発現を抑制しており、その活性が 1, 2-propanediol 存在下で上昇する可能性が考えられる。この検討が、今後の課題である。（中山周一、渡辺治雄）

（イ）propionate による抑制に関与するが必須ではない遺伝子 *yieP* について

propionate による抑制に関与するが必須ではない遺伝子として、昨年度、*yieP* を報告した。propionate による *hilA* 発現抑制に *yieP* と独立な抑制経路が併存していることが示唆されたので、*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することを試みているが、現在、目的の表現型を示す変異株は得られていない。propionate による抑制経路の主要なものが、遺伝的なファクターに依らないものである可能性も考えられる。（中山周一、渡辺治雄）

III. ビブリオに関する研究

（１）平成17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17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106株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus*、*V. vulnificus*、*V. parahaemplyticus* および *Aeromonas* spp.が含まれ、92.4%(98)は国外（タイ-84、香港-14）から依頼された。国内株8株は6株が *V. cholerae* non-01, non-0139で、*V. vulnificus* および *Aeromonas* spp.が1株ずつであった。国内株は3株の *V. cholerae* non-01, non-0139が食品由来株であったが、残る5株はいずれも敗血症由来株であった。汽水域を生息域とする *V. vulnificus* だけでなく、淡水域を生息域とする *V. cholerae* non-01, non-0139や *Aeromonas* spp.でも *V. vulnificus* 感染症様の敗血症が起こっており、これらの菌種についても調査、研究が必要であるものと考えられた。（荒川英二；沖津忠行、鈴木理恵子（神奈川衛研））

（２）*V. parahaemolyticus* の食品からの標準検査法に関する研究

平成17年度より厚生労働科学研究費補助金、食品の安心・安全確保推進研究事業「畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究」(主任：宮原美知子）において、腸炎

ビブリオの食品からの検査法について、標準となる試験方法の検討を開始した。国内には食品衛生検査指針があり、米国にはBacteriological analytical manual(BAM)、また、国際的にはISO8914のそれぞれ試験方法がある。いずれの検査法も成績が出るまでに3-4日かかり、消費するまでの時間からすると、生食用魚介類では実用的とは言い難い。また、試験方法もそれぞれに異なっている部分もあり、感度や精度なども含めて検討の必要がある。近年、酵素基質培地などの開発もあり、海外で使用されている方法とも比較検討する計画である。（荒川英二；甲斐明美(東京都健康安全研究センター)、宮原美知子(国立衛研)）

（３）*Vibrio cholera* 用の PFGE 標準化プロトコールの作成に関する研究

アジア諸国において関心度の高い病原菌のひとつである *Vibrio cholerae* について、米国 CDC を中心として香港(Public Health Laboratory Centre; PHLC)、Bangladesh (International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh; ICDDR,B)、国立感染症研究所細菌第一部において PFGE 標準化プロトコールを作成した。ICDDR,B, PHLC、細菌第一部から供出された *V. cholerae* O1 及び O139 計 40 株について、それぞれの研究室において標準化プロトコールの候補により泳動を行い、画像を PHLC に電送後、解析ソフト Bionumerics により比較解析を行った。最終的な標準化プロトコールを用いることで、少なくとも上記の 3 ヶ所から供与された種々の *V. cholerae* 株について泳動像の比較が正確にできる結果が得られたことから、このプロトコールを *V. cholerae* 標準化プロトコールとして用いることが合意された。（寺嶋　淳、斉藤康憲、荒川英二、泉谷秀昌、渡辺治雄）

（４）コレラ毒素産生性 NAG ビブリオに存在する III 型分泌装置遺伝子の研究

43 株のコレラ毒素産生性 NAG ビブリオについて、PCR による III 型分泌装置遺伝子の検出を行った。それらの株は 11 種類の血清型に分類されたが、III 型分泌装置遺伝子を持つ血清型は O8、O105、O141 のみで、それらの血清型の株全てが陽性であった。つまり、コレラ毒素産生性 NAG ビブリオでは、III 型分泌装置遺伝子は血清型依存的に保持されていると考えられた。（森田昌知、荒川英二、渡邉治雄）

Ⅳ．赤痢菌に関する研究

(1) 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。我々は InvE 蛋白の発現が mRNA の転写後に調節されるメカニズムが存在することを見い出し、この調節機構に関与すると考えられる RNA 結合蛋白を同定した。解析の結果、この蛋白遺伝子の変異体では翻訳レベルで InvE 発現が増加していることが示され、mRNA の分解を比較したところ、変異体では invE の mRNA が安定化していることが示された。またこの蛋白の精製法を確立し、蛋白が RNA に結合することが RNA のゲルシフトアッセイで示された。（三戸部治郎、大西真、渡辺治雄）

（２）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

赤痢菌の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が誘導され、細胞質膜に囲まれて、菌が細胞内に取り込まれる。侵入後は、菌は膜を融解し細胞質内に入り込み、actin tail を形成し、細胞質内を活発に運動し、隣接細胞に侵入・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* に変異を起こさせると、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、その場所に OspE2 分子も局在するのに対して、*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 分子は ahhesion focal point に集積し、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 2004 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2004 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、2532 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、T12 (853/2532, 33.7%)、T4 (412/2532, 16.3%)、T1 (409/2532, 16.2%)、T28 (170/2532, 6.7%)、TB3264 (112/2532, 4.4%) であった。T12、T4、T1 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。特に、T12 型は、増加傾向にある(2002, 17.8%; 2003, 20.3%; 2004, 33.7%)。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%, 2004, 6.7%)。TB3264 型は、減

少傾向にある(2002，7.8%；2003，5.5%；2004，4.4%)。昨年、分離頻度の高かった T3，T6，T25 型は、2004 年減少した。(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 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

2004 年、35 症例報告があり、そのうち 29 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。2004 年、T3 型が 3 例で分離され、2 例が *emm3.1* (M3)、1 例が *emm91*(M 型別不能)であった。T6，T11，T12，T25，T14/49，TB3264 分離株の *emm* の塩基配列は、それぞれ、*emm6.4* (M6)，*emm78* (M 型別不能)，*emm12*(M12)，*emm75* (M 型別不能)，*emm49* (M 型別不能)，*emm89*(M 型別不能)であった。T28 型であった分離株の *emm* 遺伝子型は、*emm28* (M 型別不能)と *emm87* (M 型別不能)であった。T 型別不能であった分離株の *emm* 遺伝子の塩基配列は、*emm3.1* (M3)が 2 例、*emm12.3* (M 型別不能)，*emm49* (M 型別不能)，e*mm58* (M 型別不能)，*emm81* (M 型別不能)，*emm89* (M 型別不能)，*emm112* (M 型別不能)がそれぞれ 1 例であった。(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

2004 年、劇症型 G 群レンサ球菌感染症は 5 例の報告があった。2003 年に引き続き、この分離株の *emm* 遺伝子型を行った結果、*stg6792* が 2 例、*stg5420, stc36, stc1400* がそれぞれ 1 例であった。(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 Streptococci in Japan)

（４）日本国内劇症型 B 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の疫学解析

2001 から 2005 年までに、妊娠していない成人における劇症型 B 群レンサ球菌感染症が５例、当部に報告されたため、その起炎菌の解析を行った。その結果、これらの株の血清型は、Ib 型(NIH173)、V 型 (NIH227)、Ib 型(NIH239)、VII 型(NIH306)、III 型(NIH308)であった。すべての株は B 群レンサ球菌の病原因子とされているβ-hemolysin および C5a peptidase をコードする遺伝子を有していた。また、パルスフィールド電気泳動(PFGE)解析ではこれらの菌株は異なる PFGE パータンを示した。(常 彬、池辺忠義、和田昭仁、渡辺治雄、平澤恭子(福島県衛生研究所)、鈴木理恵子(神奈川県衛生研究所)、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター)、田中 大祐(富山県衛生研究所)、河原隆二(大阪府立公衆衛生研究所)、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）日本国内のブタレンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の疫学解析

1994 年から 2006 年 3 月までに、日本国内でブタレンサ球菌による感染症 7 例が報告された。すべての患者はブタやブタ肉との接触歴があり、そのうちの 5 人には皮膚損傷が見られた。起炎菌 7 株すべてが血清型 2 型であった。そのうちの 6 株は同一の Multi Locus Sequence Typing (MLST)型を示し、さらに極めて類似なパルスフィールド電気泳動（PFGE）パータンを有した。残った 1 株は他の菌株とは異なる MLST 型と PFGE パータンを示した。(常 彬、和田昭仁、池辺忠義、大西　真、渡辺治雄、三田一仁(松戸市立病院)、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター)、松尾啓左(佐世保中央病院)、朝妻義徳(長岡赤十字病院)、倉本早苗(石川県保健環境センター)、関口博史(新潟市民病院)、山崎元義(新潟市民病院)、吉川博子(新潟市民病院)、渡部信栄(新潟市民病院)、山田秀子(新潟市民病院)、栗田庄八(新潟市民病院)、今井由美子(新潟市民病院))

VI.　レジオネラに関する研究

（１）日本各地から分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1 の遺伝的型別

日本国内の冷却塔からの分離株 10 株、浴場施設からの分離株 10 株、患者由来株 11 株の計 31 株についてパルスフィールド電気泳動（PFGE）および sequence-based typing (SBT)を実施した。PFGE の結果、入浴施設由来株は多様性に富むのに対し、冷却塔水由来株は１つの大きなクラスターを形成した。SBT は 6 つの遺伝子、*flaA*、*pilE*、*asd*、*mip*、*mompS*、*proA* の一部の領域の塩基配列

を決定し、型別する方法だが、31 株は 16 種類に型別された。冷却塔 11 株はすべて 1 種類のタイプであった。両手法の結果には相関が見られた。（前川純子、倉　文明、常　彬、渡辺治雄）

（２）*Legionella pneumophila* 感染における *Lgn1* の役割：マクロファージ（Mp）のサイトカイン産生

選択交配により作製した B10.A-*Lgn1*^{s} コンジェニックマウスおよび B10.A (Lgn1^{r})マウス由来のチオグリコレート誘導腹腔 Mp に 80-045 株を感染させ、感染 0，6，24 時間後における培養液中のサイトカイン濃度をサスペンションビーズアレイで測定比較した。感染 24 時間後に、B10.A マウス由来 Mp の方が、IFN-γ では 19 倍、RANTES では 4.1 倍、多く産生していた。しかし、IL-1β，IL-12p70，TNF-α，IL-10 の産生量に差は見られなかった。〔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〕

（３）肺における *Legionella pneumophila* の増殖制御に関与する新規遺伝子座 *Lgn2*

B10.A/SgSnSlcNiid マウスは *L. pneumophila* の肺からのクリアランスが遅れる。280 匹の F2 マウス（AKR/N×B10.A/SgSnSlcNiid）に 80-045 株を鼻腔内投与し、4 日後の肺における生菌数との連関解析により原因遺伝子領域を決定した。感受性責任遺伝子座は第 13 番染色体上の *D13Die26* と *D13Mit287* との間 2.6M の領域内にあった（P=<0.00001）。さらに、B10.A/SgSnSlcNiid マウス由来マクロファージ内で 80-045 株は増殖しなかった。以上の結果から *Lgn1* とは異なるレジオネラ増殖を制御する遺伝子座が示唆され、これを *Lgn2* と命名した。〔小林静史、倉文明、前川純子、常　彬、山本直樹（東京医科歯科大院医歯学総合研究科）、渡辺治雄〕

（４）掛け流し式温泉由来のレジオネラ属菌の菌種・血清群の同定

厚労省科研費の班研究として、神奈川、福岡、宮城の地研で同定困難とされた 11 施設由来の合計 50 株のレジオネラ属菌を同定した。内訳は温泉水由来 45 株の他、冷却塔水由来 3 株、浴槽水由来 2 株であった。16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定により 14 株が *Legionella londiniensis* と同定され、温泉水・浴槽水にこの菌種が広く生息していることが示唆された。 33 株が *L. pneumophila*（血清群型別不能 16 株を含む）であった。スライド凝集テストで血清群を同定する際には、加熱死菌を洗浄して使用することが肝要であった。〔前川純子、倉　文明〕

（５） *Legionella bozemanii* 血清群 2、*Legionella longbeachae* 血清群 1 に対する免疫血清

L. bozemanii と *L. longbeachae* は、臨床分地株が日本で報告され、血清群が各 2 種あるにも関わらず、これまで血清群を区別する特異免疫血清が国内に無かった。そこで今年度は、その内 2 種の免疫血清をデンカ生研に作成依頼して、地研の地方ブロックのレファレンスセンターに配布した。これにより、2004 年 8 月の神戸における庭土による感染が疑われた *L. longbeachae* 培養陽性事例が血清群 1 と同定された。〔倉　文明、前川純子、渡辺治雄〕

（６）循環式浴槽水中の *Legionella pneumophila* 血清群 1 の年度別傾向

平成 17 年度に分離された浴槽水由来株 294 株の 98.3% は *L. pneumophila* で、血清群 1（33.0%）、群別不能株（22.1%）と血清群 5、6（それぞれ 15.3%）が多く検出された。平成 8～12 年度、平成 13 年度に比べ、平成 17 年度は浴槽水分離株にしめる *L. pneumophila* 血清群 1 の割合が増えた。検体当りのレジオネラ属菌の陽性率は低下しているにも関わらず、*L. pneumophila* 血清群 1 の陽性率は低下していない。〔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）〕

（７）Bacterial two-hybrid system を用いた *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。LaiA は *L. pneumophila* のヒト肺胞上皮 II 型細胞への接着および侵入に関わる分子である。我々は LaiA のヒト肺におけるレセプターについて bacterial two-hybrid system を用いて調べている。（常　彬、大西　真、前川純子、倉　文明、渡辺治雄）

VII．髄膜炎菌に関する研究

（１）培養細胞を用いた *in vitro* 感染実験における MLST 法により分類された臨床分離株の感染能の比較解析

一昨年に日本国内で分離された髄膜炎菌の MLST 法を用いた分子疫学的解析を実施した。その結果、日本には派生型を含めた海外で流行を起こした株と日本固有株の２種が混在している状況が明らかとなった。日本において年間２０例程しか発生しない髄膜炎菌性感染症が日本における髄膜炎菌株の病原性の低さに由来するか否かを検証するためにヒト内皮及び上皮培養細胞（HBMEC,HUVEC,A546）を用いた *in vitro* 感染実験における感染能を比較した。その結果、日本固有株であり、患者からのみ分離される

ST-2032 が海外由来株(ST44,ST32,ST-11)と比較して優位に高い接着・侵入能を示した。一方で 90%以上の分離が健常者からであり、同時に日本固有株である ST-2046 は ST-2032 株とは反対に低い接着・侵入能を示した。菌が分離された患者の臨床症状と *in vitro* 感染実験の結果がパラレルであることから、*in vitro* 感染実験での結果がヒトの病原性を反映できる可能性が示唆されたと共に、日本固有株の病原性には高い ST-2032 株と低い ST-2046 株が存在することが明らかとなった。 [高橋英之、渡辺治雄]

（２）ST-2032 株の病原性因子の探索

上記 1.の項目で日本固有株である ST-2032 は *in vitro* 感染実験において強い感染性を示すことが明らかとなった。さらには既知接着因子として同定されている *opc* 遺伝子をナチュラルに欠損している ST 株の系列であることも明らかとなった。このことから ST-2032 には既知因子以外の接着・侵入因子の存在が示唆された。その因子を探索するために、ST-2032 の遺伝子ライブラリーを broad-host-range vector で構築し、同じく日本固有株で感染性の低い ST-2046 株に導入し、ヒト脳血管内皮細胞 HBMEC に対する感染性の高くなった形質転換株を単離した。1st スクリーニングで 15 株を得、さらに 2nd スクリーニングによって 1 株の接着が向上した形質転換株を同定した。今後は、その形質転換株が保持する ST-2032 株由来遺伝子を解析し、その遺伝子の機能についてさらに解析する予定である。[高橋英之、渡辺治雄]

（３） 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

2005 年 1 年間に感染研に収集された髄膜炎菌 17 株の分子疫学的解析を行なった。その結果、ST-23 が 8 株、ST-687 が 2 株、ST-5168 が 2 株、ST-35、ST-2045、ST-3495、ST-3015、ST-198 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、その ST-23 に分類された 8 株のうち、7 株が泌尿器系感染症からの分離であり、オーラルセックスによる髄膜炎菌の泌尿器系感染症にこの ST-23 株が強く関与している可能性が考えられた。ST-3015、ST-3495、ST-5168 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。また、ST-5168 の 2 株は分離時期が 2 ヶ月ほどずれてはいるがいずれも神奈川県内で分離されてきている。稀有な ST 株による感染症が同地域で発生している事実は髄膜炎菌性感染症が稀有な日本の現状においても髄膜炎菌によるヒトーヒト感染の可能性を示唆するものと考えられた。[高橋英之、渡辺治雄]

VIII．ペスト菌に関する研究

(1) Real time PCR 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、TaqMan real time PCR 法をペスト菌の検出に適用し、その系の確立を試みた。その結果、real time PCR 法によってペスト菌特異的に 5 種のプローブが検出でき、10^2 個程度の菌体量があれば十分に検出可能なレベルであることが確認された。各 real time PCR の結果を詳細に観察すると 5 種のプローブ（*pla, inv, yopM, caf1*, 3a)の中ではペスト菌に特異的に存在する 3a 領域に対する検出感度が高かった。また、*yopM* 及び *inv* の遺伝子は *Yersinia pseudotuberculosis* でも検出され、*Yersinia enterocolitica* ではいずれのプローブでも陽性反応が検出されなかったことから 5 種のプローブの陽性反応のパターンを観察することにより、病原性 *Yersinia* 属菌の検出と同定も本研究の検査手法で検出・同定可能であることが明らかとなった。以上のことから本研究で開発された TaqMan real time PCR 法によって *pla*、*inv*、*yopM*、*caf1* 及びペスト菌特異的 DNA 領域 3a を検出し、総合的にペスト菌を同定し、さらには *Yersinia pseudotuberculosis* 及び *Yersinia enterocolitica* を検出・想定する系が構築された。[高橋英之]

(2) ニューキノロン耐性仮性結核菌と MGB 付加プローブを用いた Real time PCR 法によるニューキノロン耐性ペスト菌の迅速検出法の開発

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を Real time PCR 法を用いて Allelic Discrimination assay により迅速に検出する方法を確立した。野生型 *gyrA* と変異型 *gyrA*(M1~M4)を区別するためにそれぞれを別の蛍光マーカーでラベルし、さらに Minor Groove Binding 分子を結合させた TaqMan MGB プローブを用いた。TaqMan MGB プローブは Tm がエンハンシングされ、短いプローブでの塩基特異性が促進される。Allelic Discrimination assay は野生型及び変異型 *gyrA* に設定した二種の TaqMan MGB プローブを用いることにより二種の *gyrA* アリルを検出する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 gyrae の遺伝子 *gyrA* の変異四種と同一の変異に対しては Allelic discrimination asaay によってニューキノロン感受性（野生型 *gyrA*）のものと比較して優位に区別して検出することが可能であった。更にペスト特異的 DNA 領域 3a のプローブ、3a-VIC と野生型 gyrA-MGB-FAM プローブを用いた duplex real time PCR を実施することにより、ペスト菌の同定とニューキノロン感受性の同時判定が可能な系も確立した。[高橋英之、廣瀬健二、渡辺治雄]

(3) 輸入動物におけるペスト菌の検出

輸入動物由来感染症の検査のため、ネズミ、モモンガ、リス等の輸入齧歯類 206 匹の脾臓からのペスト菌の培養検出を行なった。その結果、三匹から大腸菌、6 匹からサルモネラ菌、シュードモナス菌とクレブシエラ菌が各１匹ずつから分離されたが、ペスト菌は検出されなかった。[高橋英之、増澤俊幸（千葉科学大）]

IX．臨床細菌に関する研究

（１）*Gordonia* に関する研究

GC 含有量が多いグラム陽性桿菌としては *Mycobacteria* が重要であるが、呼吸器検体からは、時に *Nocardia, Rodococcus* が検出される。喀痰から検出されたグラム染色性不定の菌は、過去に報告されたことがない菌種であったため解析を行い、*Gordonia effusa* sp. nov と命名した。治療あるいは原疾患により免疫抑制状態にある患者さんが増加している現在、このような日和見細菌の感染機会は増加すると考えられる。菌種名を確立したことで、今後の基礎および臨床データの蓄積の嚆矢となった。(Akiko Kageyama, Soji Iida, Katsukiyo Yazawa, Yuzuru Mikami (千葉大学真菌センター), Takuji Kudo (理化学研究所), Shin-ichi Suzuki (田辺製薬), Takeharu Koga (久留米大学), Hiromi Saito, Hiroko Inagawa (虎の門病院), Akihito Wada, Reiner M. Kroppenstedt (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen))

（２）*Brachyspira* に関する研究

腸液より分離されたグラム陰性ラセン菌を *Brachyspira pilosilcoli* と同定し、この菌の生化学的性状を調べ、症例報告を行った。今後、*Brachyspira* がどのような臨床病態に関連するかの調査が必要である。(田中洋輔、長住瑠美、青柳恵美子、宮本豊一、二階亮、秋田博伸 (聖マリアンナ病院)、和田昭仁、齋藤典子 (感染病理部))

X．レプトスピラ、ボレリアに関する研究

（１）レプトスピラ抗原 Lig タンパク質のハムスターでの感染防御誘導に関する研究

レプトスピラの感染防御タンパク質 LigA-m の感染防御効果を、ハムスターを用いて評価した． 組換え LigA-m タンパク質の免疫を免疫することにより，マウスに比べて弱いものの，ハムスターでもレプトスピラ感染に対する防御効果が認められた．今後免疫方法の改良などにより，ハムスターに対しても高い防御効果を示せるよう検討を行うことが重要である．（小泉信夫，渡辺治雄）

（２）Bacterial Two-Hybrid 法による LigA-m の結合タンパク質の同定

他の病原性細菌の細胞接着因子と相同性のあるレプトスピラの LigA-m の宿主細胞側のカウンターパート(レセプター)を Bacterial Two Hybrid 法により探索した結果，HeLa 細胞由来 cDNA ライブラリーおよび肺組織 cDNA ライブラリーから，いくつかの結合タンパク質が同定された．今後はこれら結合タンパク質が Lig タンパク質のレセプターとして機能しているかについて更なる研究を行う．（小泉信夫，渡辺治雄）

（３）各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

大日本猟友会の協力により，全国 9 地域からシカおよびイノシシの腎臓からレプトスピラ遺伝子 flaB の検出を行ったところ，シカ腎臓検体のすべて(23 検体)とイノシシ腎臓 7/8 検体から *flaB* が検出され，すべて *L. interrogans* と同定された．また茨城県および千葉県で捕獲されたドブネズミそれぞれ１頭と 2 頭からレプトスピラが分離され，*L. interrogans* と同定された．その他東京都の引き取り，捕獲イヌからレプトスピラの分離を試みたが，すべて陰性であった．愛知県の動物病院に来院したネコから採取した血清 107 検体中のレプトスピラ抗体価を MAT により測定した結果，12 検体でレプトスピラに対する抗体が検出された．レプトスピラの迅速検出のために，*flaB* をターゲットとしたリアルタイム定量 PCR の確立を行ったところ，プライマーセット LflaB-QF2/QR2 は，病原性レプトスピラからのみ *flaB* の増幅ができ，また検出感度は反応系あたり 2～3 ゲノム相当量であった．（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），川本久之(犬山動物病院)，渡辺治雄）

（４）動物由来感染症のサーベイランス

レプトスピラ、リケッチア、ボレリアなど４類感染症サ

ーベイランスを行ってきている。レプトスピラ：国内野鼠を 4000 頭以上捕獲、国内分離病原体種、病原体保有頻度、分布血清型を調べてきた。この結果をもとに、国内感染例での血清診断抗原の選定、感染種の同定が適切に行うことができるようになった。リケッチア：米国から大型鳥寄生マダニに付随して病原体が侵入していることを明らかにした。ボレリア：南西諸島における新しいライム病ボレリアを見出した。これらサーベイランスは地方衛生研究所、検疫所、大学、民間研究所の協力を得てネットワークを創設し、2000 年以降継続的に行なわれている。(川端寛樹、増沢俊幸（千葉科学大学)、角坂照貴（愛知医科大学)、藤田博己（大原研究所）ほか多数)

XI. 腸管外病原性大腸菌, セラチアに関する研究

（１）腸管外病原性大腸菌の遺伝的型別

尿路をはじめとする腸管外に様々な病変を惹起する腸管外病原性大腸菌に関しては、下痢原生大腸菌と比較して十分な解析がなされておらず、病原性に関しても未解明な部分が多く残されている。腸管外病原性大腸菌の分子系統解析から疫学解析の基盤情報を供することを目的とし本研究を行った。その結果、腸管外病原性大腸菌の多くは系統 B2 に属する大腸菌であることを示された。さらに Multi-locus sequence typing 法により系統 B2 内で少なくとも８つのサブタイプが存在することが明らかとなった。これらの情報は腸管外病原性大腸菌の疫学解析に役立つものと考えられる。(大西　真、渡辺治雄、山本新吾（兵庫医大)、倉園久生（大阪府大))

（２）*Serratia marcescens* 病原性因子の探索

Serratia marcescens は尿路感染症や日和見感染症の原因菌である。しばしば、院内感染の原因菌としても同定される。その病原性機構は未解明な部分が多 い。そこで、細胞毒性を指標に新規病原因子の探索と同定を通して病原機構解明を行うために本研究を行った。これまで報告されている細胞毒性因子は ShlA のみである。しかしながら、本毒素の産生は温度依存的（３０℃で産生され３７℃では産生されない）であり、ヒト病原性に対する寄与に関しては充 分な説明は為されていない。そこで、血液寒天培地を用いて種々の *S. marcescens* 菌株の３７℃での溶血活性を指標に細胞毒性を検討した。その結果、ヒツジあるいはウマ血液寒天培地を用いたときには認められない溶血環が、ヒト血液寒天培地を用いた時にのみ認められた。ヒト赤血球に特異的な新規の溶血素が存在する可能性が示唆されたため、*S. marcescens* strain 298 株の *shlA* 欠損株を作成し確認を行った。ShlA による溶血活性の指標となる接触依存型活性は *shlA* 欠損株において消失していたにも関わらず、ヒト血液寒天培地上での３７℃培養における溶血活性の産生性は残存していた。このことから ShlA とは異なる溶血素が３７℃培養において産生されて いることが示された。トランスポゾン変異法を用いて新規溶血活性遺伝子とその活性発現に関連する遺伝子の同定を目指している。(志牟田　健、伊豫田　淳、大西　真、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および形態に関与する遺伝子の検討

平成１５年度および１６年度において、横浜市在住の親子（３歳児と母親）の口腔より単離されたバイオフィルム形成能の高い株（FSC-3）とバイオフィルム形成能の低い株（FSC-4）のバイオフィルム形成時における遺伝子発現の検討をマイクロアレイにて行った。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 BLpL-like, 他）などが明らかになった。そこで、１７年度はそれらのミュータント株を作製して、ワイルド株とのバイオフィルム形成の差を検討した。その結果、*glrA* の発現のないミュータント株は、バイオフィルム底面の形成量がワイルド株よりも減少していた。よって、*glrA* はバイオフィルム底面の形成に関与する遺伝子であることが明らかとなった。[茂木瑞穂、米沢英雄、中尾龍馬、渡辺治雄、泉福英信]

（２） *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。１６年度の検討により、このペプチドの置換ペプチド SspB(390-A393K-T400K-402)は、1 か所置換の SspB(390-T400K-402)ペプチドよりも唾液アグルチニンとの結合が約 4 倍高くなることが明らかとなった。そこで平成１７年度は、この結合に酸性環境がどのように影響するか pH を 4 から 7.6 まで変更して検討を行った。その結果、pH が低下していくと結合量が上昇していくことが明らかとなった。これも、ペプチド表層に表出した陽電荷のリジンが、結合に影響していることを示している。[木庭秀彦、中尾龍馬、渡辺治雄、泉福英信]

（３）Cariogenic bacteria の形成するバイオフィルムに対する Oral streptococci の効果

本研究では cariogenic bacteria (*S. mutans* および *S. sobrinus*) のバイオフィルム形成に対する oral streptococci(*S. salivarius, S. sanguinis, S. gordonii*)の影響の検討を行った。唾液コートしたフローセルに *S. mutans* か *S. sobrinus* と各 oral streptococci 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 *S. sanguinis* との混合培養により、バイオフィルム形成が上昇した。一方、*S. sobrinus* は *S. sanguinis* との混合培養により、バイオフィルム形成が低下した。他の streptococci との混合培養では、いずれもバイオフィルム形成が低下する傾向が認められ、*S. mutans* よりも *S. sobrinus* の方に強い抑制傾向が認められた。これらの結果から、Oral streprtococci は、口腔バイオフィルム形成を制御していることが考えられた。[田村昌平、茂木瑞穂、中尾龍馬、渡辺治雄、泉福英信]

（４）*Streptococcus mutans* Quorum-sensing system CSP により誘導される遺伝子の解析

Quorum-sensing system（細胞密度依存的制御機構，QS-System）は、細胞密度を感知し、遺伝子発現を制御することで注目を集めている。*S. mutans* は、Competence stimulating peptide (CSP)を介した QS-system が存在している。*S. mutans* の CSP により誘導される遺伝子を明らかにするために、臨床分離株を用いたマイクロアレイで明らかとなったバイオフィルム形成に関わる遺伝子について検討を行った。*comC, comD, come, comY* の mutant を作製し、それに CSP を刺激し、遺伝子の発現を RT-PCR にて解析した。その結果、今回調べた 36 遺伝子のうち 35 遺伝子において、CSP により発現が制御されている遺伝子であることが明らかとなった。さらに 32 遺伝子において ComE を介した発現誘導であることが明らかとなった。QS-system は幅広い遺伝子の発現調節に関っており、その多くがバイオフィルム形成に関与していることも明らかとなった。
[米沢英雄、中尾龍馬、渡辺治雄、泉福英信]

（５）*Enterococcus faecium* による *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成阻害効果

Enterococcus faecium(EM)の超音波破砕抽出液（SE）は、蛋白質濃度依存的に *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、ゲルろ過カラムにて粗抽出を行った。フラクションごとに阻害効果を検討すると、高分子複合体に阻害活性物質が含まれることが明らかとなった。この複合体をプレートへ接種前の菌体へ直接処理するとバイオフィルム形成を阻害したことから、この抑制物質は菌体の表層へ作用し、菌のプレートへの付着およびプレート上でのマイクロコロニー形成などに影響を与えることが示唆された。[熊田昌幸、米沢英雄、中尾龍馬、渡辺治雄、泉福英信]

（６）アッサム茶成分によるう蝕原因菌：*S.mutans* および *S.sobrinus* への効果に関する研究

齲蝕予防剤開発のため、近年注目されているお茶成分のう蝕原因菌：*S.mutans* および *S.sobrinus* への効果について検討を行った。アッサム茶と中国産緑茶を用いて検討を行うと、我々の実験結果において、*S.mutans,S.sobrinus* に対して、アッサム茶は中国産緑茶よりも発育阻害効果が高いことが示唆された。また、 *S.mitis,S.salivarius* に対しての効果は、アッサム茶と中国産緑茶ともに低かった。よって、アッサム茶は中国産緑茶よりもう蝕原因菌に対して発育阻害効果の強い成分が含まれていることが考えられた。[米田早織、渡辺治雄、泉福英信]

（７）唾液分泌低下に関る E2F-1 の検討

唾液分泌に、G1 から S 期への cell cycle、T cell の増殖や分化、アポトーシスの誘導に関わる分子：E2F-1 が関与するか検討を行うことを目的とした。1 型糖尿病およびシェーグレン症候群のモデルである NOD.*e2f-1*$^{-/-}$ は NOD マウスよりも糖尿病の発症率が上昇したが、NOD/SCID.*e2f-1*$^{-/-}$ は糖尿病を発症しなくなった。唾液分泌は、両マウスとも低下していた。これらの結果から、NOD マウスにおいて E2F-1 はリンパ球の成熟を制御して糖尿病発症に関わることが明らかとなった。一方、NOD.*e2f-1*$^{-/-}$ と NOD/SCID.*e2f-1*$^{-/-}$ はともに唾液分泌低下を起すことから、E2F-1 はリンパ球の成熟に関係なく唾液分泌に関わることが明らかとなった。[泉福英信、米沢英雄、松井光、渡辺治雄]

（８）口腔における疫学的な調査

(ア)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 17 年度は、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新たに行うため、新潟市在住 77 歳の高齢者 399 名を調

査対象とし検討を行った。そのうちデータの得られた 281 名（女性 118 名、男性 163 名）を分析対象者とした。抗体価の認められたグループ（＞OD405 = 0.1）と認められないグループ（＜0.1）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)などの検討を行った。AL6mm とプロービング時も出血(BOP)において、抗体価の認められたグループが抗体価の認められないグループに比べ有意に低いことが明らかとなった。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）]

（イ）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。本年度は 16 名の被験者において検討を行った。その結果、1000EU/ml 以上の LPS 活性を有する被験者のグループ(n=4)は、ポケットの深さが 2.7±0.3%、出血した割合が 40.2±10.0%と 1000EU/ml 以下の LPS 活性グループ(n=12)の 2.5±0.3%、20.5±15.0%よりも高い傾向を示した（P = 0.2400、P = 0.0278)。LPS 活性の高いことは、ポケットの深さや出血程度と関係があり特に出血との関係が強いことから、歯周病のリスクが高いことと関係があると考えられる。よって、歯周ポケット測定に加えて LPS 活性を測定することにより、より精度の高い歯周病のリスク診断ができることが示唆された。
[泉福英信、早乙女裕彦、渡辺治雄]

（ウ）歯科医療における院内感染対策の現状について

平成 17 年度厚生科学研究班において、関東および東海に所属する歯科医師 3912 人および 3271 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。742 人および 2018 人から回答がありその分析を行った。結果、大学の卒業年度が近年であるほどユニバーサルプリコーションの理解率や院内感染に対する知識が高くなる傾向を示し、大学教育に院内感染の概念を盛り込むことが重要であることが明らとなった。これらの結果を総合的に考察すると、ユニバーサルプレコーションに関する意識は大学教育のような講義による研修により向上すること、それが院内感染対策の行動に結びつくことが考えられた。[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）口腔から単離されたテトラサイクリン耐性レンサ球菌の解析

口腔内環境においても様々な薬剤耐性菌が存在し、その中でもテトラサイクリン(*tet*)耐性レンサ球菌の検出頻度が高いことが報告されている。本研究では、過去半年以内に抗菌薬の投与を受けていない被験者の歯肉縁上プラークをサンプリングし、*tet* 耐性レンサ球菌を単離同定するとともに、*tet* 耐性レンサ球菌の占有頻度を決定した。また、単離された菌株の保有する *tet* 耐性遺伝子とその存在様式を PCR とサザンブロットにて解析した。結果は、19 名の被験者における口腔レンサ球菌に対する *tet* 耐性口腔レンサ球菌の占める割合は平均 14.8%であり、すべての被験者から tet 耐性口腔レンサ球菌が検出された。単離された耐性菌株としては、*Streptococcus mitis, S. oralis, S. sanguinis* が高頻度に認められたほか、*S. milleri* group や *S. salivarius* も散見された。これら耐性菌が保有する *tet* 耐性遺伝子はすべて *tetM* であり、同時に Tn*916* エレメントを１つ以上有しているものがほとんどであった。また、*tetM* 以外の *tet* 耐性遺伝子は PCR では検出することはできなかった。以上より、口腔レンサ球菌における *tet* 耐性付与は Tn*916* 上の *tetM* に依存しており、その保有頻度の高さと菌種の多様性から菌体間の耐性遺伝子の授受が推測された。（中尾龍馬、泉福英信、米田早織、菅野直之(日本大学)、渡辺治雄）

（１０）*Porphyromonas gingivalis galE* 変異に伴うバイオフィルム過形成と LPS 改変

P. gingivalis galE 変異株はその親株に比べて(1)ガラクトースに対する高感受性、(２)LPS の O 多糖鎖の短縮、(３)バイオフィルムの過形成、という特徴を有することを昨年報告した。これらに加えて、*galE* 変異株は多くの抗菌薬に対して感受性が上昇していることが明らかとなった。この現象は、抗菌薬に対するバリヤーとしての LPS の O 多糖鎖が短くなることにより、抗菌薬の菌体への到達を容易にしたものと推測している。また走査型電子顕微鏡観察により *galE* 変異株は外膜ヴェシクルを完全に欠損することが明らかになった。LPS は外膜の主要な構成成分であることから、この外膜ヴェシクル消失は LPS の O 多糖鎖改変に伴う外膜の不安定化などが影響している可能性が考えられた。（中尾龍馬、泉福英信、渡辺治雄）

（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))

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

現行の PZA 感受性試験法では、信頼性に問題がある。そこで、信頼できる PZA 感受性試験法の確立を最終目的とし、ATP 法による結核菌 PZA 感受性試験法の基礎的検討を行った結果 Middlebrook 7H9 液体培地の pH は、5.9 を採用、7 日目に ATP 量を測定し、PZA の濃度は 100μg/ml が適当と思われた。ATP 法と参照法（液体テスト法、寒天比率法、ピラジナミダーゼ試験）で得られた結果との比較を行い、ATP 法の信頼性を検討した。ATP 法による PZA 感受性試験は、迅速で正確な結核菌薬剤感受性試験法として有望である。[山崎利雄、山本三郎（細菌第二部）、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

前年度に引き続き 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(pMV261-SM)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(pMV261-SM)を 10^6cfu/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。しかし、結核菌防御能は、BCG-Tokyo 株とほぼ同程度であった。[山崎利雄；宮本友司、牧野正彦（病原微生物部）]

（３）入浴施設の浴槽水より分離された抗酸菌の分離状況

東日本の入浴施設の循環式浴場より採取された浴槽水における抗酸菌の汚染状況を調査した。各施設の浴槽水 124 検体のうち 23 検体から 39 株の抗酸菌が検出された。検出された抗酸菌 39 株の内訳は、*M. gordonae* 8 株、*M. scrofulaceum* 1 株、*M. avium* 18 株、*M. intracellulare* 1 株、*M. noncromogenicum* 1 株、*M. fortuitum* 4 株、*M. phlei* 5 株、*M. flavescens* 1 株であった。病原性の高い非結核性抗酸菌が検出された入浴施設では、浴用水の浄化・消毒による衛生管理が必要である。[山崎利雄、遠藤卓郎（寄生動物部）、杉山寛治（静岡県環境衛生研究所）、黒木俊郎（神奈川県衛生研究所）]

（４）ATP 測定法によるらい菌の薬剤感受性試験法の検討

昨年度に引き続き、ATP 測定法によるらい菌の薬剤感受性試験法の検討を行った。今年度は、同一日に調製したらい菌 Thai53 株を用いて、RFP、CAM は 0.125,0.5, 2μg/ml、OFLX は 0.5, 2, 8μg/ml の濃度について ATP 法と Buddemeyer 法についての比較実験を行った。各薬剤の低濃度では、両法間で差が大きいところもあったが、抑制傾向は、良く一致してた。また、ATP 法の方が Buddemeyer 法よりも高い抑制率を示す傾向にあった。[山崎利雄]

XIV.その他

（１）レンサ球菌レファレンスセンター

地方衛生研究所および病院から送られた劇症型/重症レンサ球菌感染症患者分離菌株の血清型別、*emm* 遺伝子の塩基配列による型別、*spe* 遺伝子の保有状況等の検査及び結果および流行状況の報告、および、患者分離株の血清型別の流行に関する全国集計を行っている。それらをもとに、レファレンスセンター会議の資料を作成するとともに、その一部をインターネット上で公開している。(池辺忠義、衛生微生物協議会レファレンスセンター)

（２）希少感染症研修会

（ア）劇症型溶血性レンサ球菌感染症起因菌の型別と薬剤感受性, 国立感染症研究所, 2006 年 2 月 17 日（池辺忠義）

（イ）ダニ媒介性感染症．感染症媒介マダニについて．2006 年 2 月．（川端寛樹）

（３）検定・検査

（ア）体外診断薬：厚生労働省より依頼のある体外診断薬承認前検査のうち、輸血関連として、抗梅毒抗体検出用診断薬及び、抗カルジオリピン抗体検出用診断薬の検査を行っている。今年度はいずれもラテックス凝集法を用いた一件の抗梅毒抗体検出用診断薬と二件の抗カルジオリピン抗体検出用診断薬を検査した。これらはいずれも規格試験に合格した。(中山周一、志牟田 健、大西 真)

（イ）肺炎球菌ワクチンの製法変更の承認前審査の依頼を受け、製剤担当室及び試験担当室としての業務を行った。承認前検査の最終報告は平成 18 年度に行う。（和田昭仁、倉　文明、前川純子）

（ウ）ワクチン国家検定の品質管理に関する所内ガイドライン作成

標準操作手順書(SOP)の作成と遵守（川端寛樹）

業務必携編集協力（川端寛樹、佐々木次男他多数）

ワイル病秋やみ混合ワクチン GMP 査察(川端寛樹)

（４）コース講義

（ア）平成 17 年度特別課程細菌コース講義（国立保健科学医療院）

レジオネラの基礎、感染事例、レジオネラの検査法について、地研及び保健所の職員 26 名に対して 2 時間の講義を行った。2005 年 11 月,和光。〔倉　文明、前川純子〕

（イ）平成 17 年度衛生微生物協議会.

ライム病(ボレリア)の現状と検査方法について．2005 年 7 月．（川端寛樹）

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

１．欧文論文

1) Amemura-Maekawa J, Kura F, Chang B, and Watanabe H. *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from cooling towers in Japan form a distinct genetic cluster. Microbiol Immunol. 49:1027-1033.2005.

2) Sakaguchi, Y., Hayashi, T., Kurokawa, K., Nakayama, K., Oshima, K., Fujinaga, Y., Ohnishi, M., Ohtsubo, E., Hattori, M., Oguma, K. The genome sequence of *Clostridium botulinum* type C neurotoxin-converting phage and the molecular mechanisms of unstablelysogeny. Proc. Natl. Acad. Sienc. USA, 102: 17472-17477.2005.

3) Ikebe T, Hirasawa K, Suzuki R, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C, Kawahara R, Tomita M, Ogata K, Endoh M, Okuno R, Watanabe H and the Working Group for Group A Streptococci in Japan. Antimicrobial susceptibility survey of *Streptococcus pyogenes* isolated from severe invasive group A streptococcal infections in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 49: 788-790.2005.

4) Ikebe T, and Watanabe, H. Characterization of beta-hemolytic *Streptococcus* strains isolated from patients of severe invasive streptococcal infections. J Biol Sci. 5: 842-846.2005.

5) Ikebe T, Endoh M, and Watanabe, H. Increased expression of the ska gene in emm49-genotyped *Streptococcus pyogenes* strains isolated from patients with severe invasive streptococcal infections. Jpn J Infect Dis. 58: 272-275.2005.

6) Matsumoto M, Sakae K, Ohta M, Endo M, Okuno R, Murayama S, Hirasawa K, Suzuki R, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C, Tamaru A, Tomita M, Ogata K, Yasuoka T, Ikebe T, Watanabe H, and The Working Group for Group A Streptococci in Japan. Molecular mechanisms of high level tetracycline-resistance in group A streptococcal isolates, T serotypes 4 and 11. Int J Antimicrob Agents. 25: 142-147.2005.

7) Matsumoto M, Sakae K, Hashikawa S, Torii K, Hasegawa T, Horii T, Endo M, Okuno R, Murayama S, Hirasawa K, Suzuki R, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C, Tamaru A, Tomita M, Ogata K, Yasuoka T, Ikebe T, Watanabe H, The Working Group for Group A Streptococci in Japan, and Ohta M. Close correlation of streptococcal Dnase B (*sdaB*) alleles with *emm* genotypes in *Streptococcus pyogenes*. Microbiol Immunol. 49: 925-929.2005.

8) Okura M, Osawa R, Arakawa E, Terajima J, Watanabe H. Identification of *Vibrio parahaemolyticus* pandemic group-specific DNA sequence by genomic subtraction. J Clin Microbiol;43(7):3533-3536. 2005.

9) Seki, M., Sato, A., Honda, I., Yamazaki, T., Yano, I., Koyama, A., and Toida, I. : Modified multiplex PCR for identification of Bacillus Calmette-Guerin substrain Tokyo among clinical isolates. Vaccine. 23:3099-3102, 2005.

10) Iyoda, S and Watanabe, H. ClpXP protease controls expression of the type III protein secretion system through regulation of RpoS and GrlR levels in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J Bacteriol. 187: 4086-4094, 2005.

11) Hideyuki Takahashi and Haruo Watanabe: A gonococcal homologue of meningococcal γ-glutamyl transpeptidase gene is a new type of bacterial pseudogene that is transcriptionally active but phenotypically silent. BMC Microbiology 5:56,1-13. 2005

12) Yutaka Suto, Nozomi Mori, Hideyuki Takahashi, Haruo Watanabe and Kenji Nakashima: A case of serogroup a meningococcal meningitis: A case possibly imported from China. Internal Medicine 44:1015-1016, 2005.

13) Matsumoto M, Suzuki Y, Nagano H, Yatsuyanagi J, Kurosawa H, Kobayashi K, Yamaoka K, Horikawa K, Kudaka J, Terajima J, Watanabe H, Miyazaki Y. Evaluation of pulsed-field gel electrophoresis analysis performed at selected prefectural institutes of public health for use in PulseNet Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases.58:180-3.2005.

14) Chang, B., Kura, F., Amemura-Maekawa, J., Koizumi, N., and Watanabe, H.: Identification of a novel adhesion molecule involved in virulence of *Legionella pneumophila.* Infection and Immunity 73: 4272-4280. 2005.

15) Mochida A, Gotoh E, Senpuku H, Harada S, Kitamura R, Takahashi T and Yanagi K. Telomerase size and telomerase activity in Epstein-Barr virus (EBV)-positive and EBV-negative Burkitt's lymphoma cell lines. Archives of Virology 150:2139-2150. 2005.

16) Taguchi, M., Seto, K., Kanki, M., Tsukamoto, T., Izumiya, H., and Watanabe, H.: Outbreak of food poisoning caused by lunch boxes prepared by a company contaminated with multidrug resistant *Salmonella* Typhimurium DT104. Jpn J Infect Dis. 58: 55-56, 2005.

17) Izumiya, H., Mori, K., Higashide. M., Tamura, K., Takai, N., Hirose, K., Terajima, J., and Watanabe, H.: Identification of CTX-M-14 β-lactamase in a *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolate from Japan. Antimicrob Agents Chemother. 49: 2568-2570, 2005.

18) Izumiya, H., Mori, K., Kurazono, T., Yamaguchi, M., Higashide, M., Konishi, N., Kai, A., Morita, K., Terajima, J., and Watanabe, H.: Characterization of isolates of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium displaying high-level fluoroquinolone resistance in Japan. J Clin Microbiol. 43: 5074-5079, 2005.

19) Nakamura, M., Taira, K., Itokazu, K., Kudaka, J., Asato, R., Kise, T., Koizumi, N.: Sporadic cases and an outbreak of leptospirosis probably associated with recreational activities in rivers in the northern part of Okinawa Main Island. J. Vet. Med. Sci. 68: 83-85, 2006.

20) Koizumi, N., Watanabe, H.: Leptospirosis vaccines: Past, present, and future. J. Postgrad. Med.51: 210-214, 2005.

21) Wangroongsarb P, Yaseang S, Petkanjanapong W, Naigowit P, Hagiwara T, Kawabata H, Koizumi N: Applicability of polymerase chain reaction to diagnosis of leptospirosis. The Journal of Tropical Medicine and Parasitology. 28: 43-47, 2005.

22) 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.

23) Takuya Adachi, Hiroko Sagara, Kenji Hirose, and Haruo Watanabe. Fluoroquinolone resistant *Salmonella* Paratyphi A. Emerg.Infect. Diseas.11: 172-174. 2005

24) Mitobe,J., Arakawa,E., and Watanabe,H. A sensor of the two-component system CpxA affects expression of the type III secretion system through posttranscriptional processing of InvE. J. Bacteriol. 187: 107-113. 2005

25) Kudaka,J.,Asato,R., Itokazu,K., Nakamura,M., Taira,K.,Kobayashi,J., Terajima,J., Watanabe,H. Swaminathan,B., Braden, CR. *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with ground beef from a U.S. military installation — Okinawa, Japan, February 2004. MMWR. 54: 40-41. 2005

26) Hirose,K., Terajima,J., Izumiya,H., Tamura,K., Takai,N., and Watanabe,H. Antimicrobial susceptibility of *Shigella sonnei* in Japan and molecular analysis of *S.sonnei* isolates with reduced susceptibility to fluoroquinolone. Antimicrobiol. Agent. Chemother. 49: 1203-1205. 2005.

27) Hara-Kudo Y., Watanabe,H., and Konuma,H. Difference in survival of *Escherichia coli* O157:H7 under various conditions that re-enact the cooking of lunches implicated in an outbreak of haemorrhagic diarrhoea. Epidemiol. Infect. 133: 1043-1048. 2005.

28) Naitou H, Kawaguchi D, Nishimura Y, Inayoshi M, Kawamori F, Masuzawa T, Hiroi M, Kurashige H, Kawabata H, Fujita H, Ohashi N: Molecular Identification of *Ehrlichia* Species and 'Candidatus Neoehrlichia mikurensis' from Ticks and Wild Rodents in Shizuoka and Nagano Prefectures, Japan. Microbiology and Immunology. 50: 45-51, 2006.

29) Nakayama, S., and Watanabe, H. Mechanism of hilA repression by 1,2-propanediol consists of two distinct pathways, one dependent on and the other independent of catabolic production of propionate, in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. J.Bacteriol. 188: 3121-3125.2006.

30) Senpuku H, Tada A, Uehara S, Kariyama R, and Kumon H. Post-operative infection by pathogenic micro-organisms in the oral cavity of patients with prostatic carcinoma. J Int Med Res. 34:95-102, 2006.

31) Salam MA, Nakao R, Yonezawa H, Watanabe H, and Senpuku H. Human T-cell responses to oral streptococci in human PBMC-NOD/SCID mice. Oral Microbiol Immunol. 21:169-176. 2006.

32) Tada A, Senpuku H, Motozawa Y, Yoshihara A, Hanada N, and Tanzawa H. Association between commensal bacteria and opportunistic pathogens in the dental plaque of elderly individuals. Clin Microbiol Infect. 12:776-781. 2006.

33) Toma C, Higa N, Iyoda S, Rivas M, Iwanaga M. The long polar fimbriae genes identified in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* are present in other diarrheagenic *E. coli* and in the standard *E. coli* collection of reference (ECOR) strains.

Res Microbiol. 157:153-161, 2006.
34) Mukai, T., Miyamoto, Y., Yamazaki, T., and Makino, M. : Identification of *Mycobacterium* species by comparative analysis of the *dnaA* gene. FEMS Microbiol Lett. 254: 232-239, 2006.
35) Akagawa, K., Komuro, I., Kanazawa, H., Yamazaki, T., Mochida, K.,and Kishi, F. : Functional heterogenity of colony-stimulating facter-induced human monocyte-derived macrophages. Respirology. 11: S32-S36, 2006.
36) A. Kageyama, S. Iida, K. Yazawa, T. Kudo, S. Suzuki, T. Koga, H. Saito, H. Inagawa, A. Wada, R.M. Kroppenstedt and Y. Mikami. *Gordonia araii* sp. nov. and Gordonia effusa sp. nov. isolated from patients in Japan. Int. J. Sys. Evol. Microbiol. in press.

2．和文発表

1）池辺忠義、渡辺治雄．豚レンサ球菌感染症に関する情報．病原微生物検出情報．26：241-242.2005．
2）岡田美香，河野喜美子，倉　文明，前川純子，渡辺治雄，八木田健司，遠藤卓郎，鈴木　泉：循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例 I．発症状況と環境調査，感染症誌 79:365-74，2005。
３）田中洋輔、長住瑠美、青柳恵美子、宮本豊一、二階亮、秋田博伸、和田昭仁、齋藤典子、アメーバ性大腸炎と *Brachyspira pilosicoli* による腸管スピロヘータ症を合併した一例－アメーバ性大腸炎と腸管スピロヘータ症の合併例－日本臨床微生物学雑誌 15:9-18，2005．
4）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．
5）高橋英之、渡邉治雄、髄膜炎菌とは、IASR、26 号、P.35-36、2005
6）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
7）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
8）田中博、黒木俊郎、渡辺祐子、浅井良夫、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、井上博雄、山井志朗、益川邦彦、渡邉治雄、わが国の健康者における髄膜炎菌の保菌状況、感染症学雑誌、第 79 巻　第 8 号、P.527-533、2005
9）広瀬健二、寺嶋　淳、渡辺治雄。食を介する赤痢・腸チフス。化学療法の領域、21，67-72，2005
10)武内博朗、奥田健太郎、西川原総生、泉福英信、光学的手法による歯周病菌関連バイオフィルムの検出法の検討、ザ．クインテッセンス、24：138-143．2005．
11）泉福英信，口腔ケアによる口腔微生物叢の変化，歯界展望特別号，一健康な心と身体は口腔からー，pp．133，2005．
12）泉福英信，歯科医療において重要な感染症の疫学と院内感染対策調査；歯科医院のための感染対策実践ガイドライン，p130-136、監修小森康雄，デンタルダイヤモンド社，2005．
13）泉谷秀昌、田村和満、渡辺治雄：サルモネラ。化学療法の領域、第 21 巻第 4 号、509-515、2005。
14）泉谷秀昌、廣瀬健二、田村和満、渡辺治雄：サルモネラ属菌の分類命名に関して。IASR、第 26 巻第 4 号、92-93、2005。
15）石畝史、京田芳人、望月典郎、布施田哲也、重屋志啓盛、泉谷秀昌、渡辺治雄：多剤耐性 Salmonella enterica serovar Newport における患者由来株と下水由来株との比較検討。感染症学雑誌、第 79 巻第 4 号、270-275、2005。
16）泉谷秀昌、寺嶋淳、渡辺治雄：Diffuse outbreak が疑われた *Salmonella* Braenderup 株の解析結果。IASR、第 26 巻第 12 号、341-342、2005。
17）坂本光男，加藤哲朗，佐藤文哉，吉川晃司，吉田正樹，柴孝也，小野寺昭一，保科定頼，小泉信夫，渡辺治雄．インドネシア・バリ島で感染した *Leptospira botgpetersenii* 血清型 Sejroe によるレプトスピラ症の 1 例．感染症学雑誌 79：294-298，2005．
18）小泉信夫，渡辺治雄．レプトスピラ症．モダンフィジシャン 25：606-609，2005．
19）小泉信夫，渡辺治雄．　レプトスピラ．日本臨床増刊号　広範囲血液・尿化学検査　免疫学的検査 214-216，2005．
20）小泉信夫，渡辺治雄．レプトスピラ症(犬)．SA Medicine 7：42-46，2005．
21）川端寛樹：節足動物媒介性感染症と媒介動物のインターフェイス：cutting edge．ダニ類研究班会報.2006．
22) 増沢俊幸，岡本能弘，宇根有美，竹内隆浩，塚越啓子，川端寛樹，小泉信夫，吉川泰弘．輸入動物（アメリカモモンガ）に起因するレプトスピラ症感染事例．獣医畜産新報．59(4)，295-297，2006．
23）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．西日本皮膚科．67(6)，599-603，2005．
24）増沢俊幸，藤倉孝雄，柳原保武，小泉信夫，川端寛樹，岡本能弘（厚生労働科学研究費補助金,レプトスピラ研究班 WHO ガイダンス翻訳チーム）．ヒトのレプトスピラ

症の診断,サーベイランスとその制御に関する手引き. 2005.
25) 川端寛樹：ライム病とボレリアの遺伝子改変技術．日本細菌学会ニュース．2005.
26) 御供田睦代，中山浩一郎，吉國謙一郎，石谷完二，新川奈緒美，蔵元!，宮田義彦，本田俊郎，藤田博己，高田伸弘，川端寛樹． 鹿児島県内の野鼠及びダニ類の調査について．鹿児島県環境保健センター所報． 67-70, 2005.
27) 廣瀬健二、渡辺治雄。細菌感染と反応性関節炎。最新医学。６０：２０２－２０５．２００５
28) 佐藤文哉、吉川晃司、吉田正樹、柴　孝也、小野寺昭一、保科定　、小泉信夫、渡辺治雄、インドネシア・バリ島で感染した *Leptospira borgpetersenii* 血清型 Sejroe によるレプトスピラ症の一例。感染症学雑誌。79: 294-298.2005.
29) 渡辺治雄。ベロ毒素産生性大腸菌感染症の病像の変化。日本医事新報。４２３１：９２－９３．２００５
30) 渡辺治雄。食品媒介性の薬剤耐性の現状とその制御に向けての取り組み。獣医畜産新報（ＪＶＭ)。58:677-680. 2005
31) 田中　博 黒木俊郎 渡辺祐子,大谷勝美,須釜久美子,芹川俊彦,中嶋　洋 ,砂原千寿子，帆足喜久雄,山口仁孝,久高　潤,高橋英之,井上博雄,山井志朗,益川邦彦 ,渡辺治雄． わが国の健康者における髄膜炎菌の保菌状況。感染症学雑誌。７９：５２７－５３３．２００５
32) 渡邉治雄。細菌性下痢症。化学療法の領域。２１：３７－４０．２００５
33) 渡辺治雄。自然は強力なるバイオテロリスト。 BIO Clinica 20. 14: 1235. 2005
34) 渡辺治雄。病原性大腸菌保菌者への対応。日本医事新報。No.4261.96.2005.
35) 久高潤、堀川和美、爪生佳世、松雪星子、緒方喜久代、河野喜美子、山口仁孝、渡辺治雄、岩永正明。食中毒及び感染性胃腸炎の病原体と臨床症状。感染症学雑誌：79:864-870.2005.

II. 学 会 発 表

1. 欧文発表

1) Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, Bin Chang, and Haruo Watanabe; Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis and sequence-based typing (SBT) of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from Japan. 6th International Conference on Legionella, Chicago, USA, Oct, 2005.
2) Ikebe T, and Watanabe H. Increased expression of *ska* gene in *emm49*-genotyped strains of *Streptococcus pyogenes* isolated from patients of severe invasive group A streptococcus infections. 16th Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases. Cairns, Australia, Spt, 2005.
3) Miyoshi-Akiyama T, Kawamura Y, Ikebe T, Watanabe H, Uchiyama T, Kirikae T. Transcriptome analysis comparing a high virulent M3-type group A streptococcus with a low virulent one: Identification of a factor responsible for the high virulence in the high virulent strian. 105th ASM General Meeting. Atlanta, USA, Apr, 2005.
4) Aratani Y, Kura F, Watanabe H, Akagawa H, Takano Y, Suzuki K, Maeda N, Koyama H: Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to the host defense against *Cryptococcus neoformans*. Gordon Research conference. June 2005, CT, USA.
5) Kura F, Kobayashi S, Amemura-Maekawa J, Aratani Y, Suzuki K, Watanabe H: Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to the host defense against *Legionella pneumophila*. 6th International Conference on Legionella. October 2005, Chicago, USA.
6) Kobayashi S, Kura F, Amemura-maekawa J, Chang B, Yamamoto N, Watanabe H: A new locus on chromosome 13, but not Lgn1, of mice involved in *L. pneumophila* replication in lungs. 6th International Conference on Legionella. (KS received Student and Post-Doc travel Award from the Organizing Committee) October 2005, Chicago, USA.
7) Iguchi, A, Iyoda, S, Terajima J, Watanabe H, and Osawa R. Genetic basis for the genomic plasticity of *Escherichia coli* O157:H7. 40th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Panel. December 2005. Boston, USA.
8) Toma C., Higa N., Iyoda S., Nakasone N., Rivas M., and Iwanaga M. The relationship between long polar fimbriae genes identified in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and phylogenetic groups. 40th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Panel. December 2005. Boston, USA.
9) Iyoda S., Koizumi N., Satou H., Lu Y., Ohnishi M., and Watanabe H. Regulatory mechanism of the expression of LEE-encoded Type III secretion system in enterohemorrhagic *Escherichia coli* 40th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Panel. December 2005. Boston, USA.
10) Hideyuki Takahashi: Laboratory diagnosis of plague in

Japan. Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases, Tokyo, September 2005

11) Masashi Miura, Jun Terajima, Hidemasa Izumiya, Jiro Mitobe, Teruya Komano & Haruo Watanabe: OspE2 of *Shigella sonnei* Is Required for the Maintenance of Cell Architecture of Bacteria-infected Cells. 40th US-Japan Cholera and Other Bacterial Infections Joint Panel Meeting, Nov. 2005, Boston, USA

12) D. Jennings, K. Hise, R. Colindres, D. Boxrud, P. Calimlim, D. Tamashiro, P. Effler, J. Terajima, H. Watanabe, B. Swamainathan: PulseNet International's Role in a *Shigella sonnei* Outbreak Associated with Air Travel from Hawaii in August of 2004, 7th International Meeting on Microbial Epidemiologic Markers, May, 2005, Victoria, B.C., Canada

13) K. L. F. Cooper, C. K. Y. Luey, M. Bird, J. Terajima, G. B. Nair, K. M. Kam, E. Arakawa, A. Safa, D. Cheung, C. Law, H. Watanabe, K. Kubota, B. Swaminathan, E. Ribot:Development and Validation of a PulseNet Standardized Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocol for Subtyping *Vibrio cholerae*, 7th International Meeting on Microbial Epidemiologic Markers, May, 2005, Victoria, B.C., Canada

14) J. Kincaid, M. Joyner, K. Hise, P. Gerner-Smidt, B. Swaminathan, J. Terajima, H. Watanabe:The Role of PulseNet International in an Outbreak of Ground Beef Associated *E. coli* O157:H7: February 2004, 7th International Meeting on Microbial Epidemiologic Markers, May, 2005, Victoria, B.C., Canada

15) Senpuku H, Okuda K, and Watanabe H. Inhibiting effects using analogous SspB peptide for biofilm of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus gordonii*. ASM conference, 45th Annual ICAAC, Washington DC, USA 2005 年 12 月.

16) Koizumi, N., Uchida, M., Obe, H., Hoshino, M., Tanikawa, T., Makino, T., Watanabe, H.: Isolation and Characterization of *Leptospira* spp. from feral animals in the Tokyo metropolitan area, Japan. Chiang Mai, Thailand, 2005.

17) Masuzawa T, Sakakibara S, Kawabata H, Imai Y. Classification of Leptospira Reference Strains Based on DNA Gyrase B Subunit Gene Sequences. International Leptospirosis Society 4th Scientific Meeting. Thailand, Nov. 2005.

18) Takano A, Kishimoto T, Ando S, Satou K, Arakawa K, Ogawa M, Nogami S, Kawabata H, Fujita H. Prevalence of *Borrelia, Ehrlichia* and *Rickettsia* in ticks(Acari:Ixodidae), Japan. The 1st Scientific Meeting of the Asian Zoo & Wildlife Medicine 2005. Thailand. Oct. 2005

19) Tashiro Y, Nakao R, Senpuku H, Watanabe H, Uchiyama H, and Nomura N. Characterization of Omp85 homolog in *Pseudomonas aeruginosa*. Joint Meeting of 3 Divisions of the International Union of Microbiological Societies. San Francisco, CA July 2005.

20) Saotome Y, Senpuku H, Nakao R, and Uematsu H. Impact of Oral Care on Opportunistic Bacteria in the Elderly. 8th World Congress on Preventive Dentistry. Liverpool, UK. September, 2005

21) Nakao R, Senpuku H, and Watanabe H. Biofilm Formation Promoted by Inactivation of GalE in *Porphyromonas gingivalis.* 8th World Congress on Preventive Dentistry. Liverpool, UK. September, 2005

2．和文学会

1) 前川純子，倉　文明，常　彬，渡辺治雄．*Legionella pneumophila* 血清群 1 の sequence-based typing (SBT)．第 78 回日本細菌学会総会，東京，2005，4 月．

2) 前川純子，倉　文明，常　彬，市瀬正之，渡辺治雄．*Legionella pneumophila* の生息環境の差により見られる遺伝子型の違いについて．第 79 回日本細菌学会総会，金沢，2006，3 月．

3) 村井美代，前川純子，渡辺治雄．高度な多型を示す黄色ブドウ球菌 *fnbA* および *fnbB* 領域におけるアミノ酸配列の比較．第 79 回日本細菌学会総会，金沢，2006，3 月．

4) 小川倫洋、小椋義俊、大西真、林哲也、黒川顕、後藤直正：*Serratia marcescens* のゲノム解析　第７８回日本細菌学会総会，東京，2005，４月

5) 中山恵介、森本拓也、黒川顕、小川倫洋、福原正博、浦上弘、大西真、多村憲、林哲也：*Orientia tsutsugamushi* のゲノム解析　第７8 回日本細菌学会総会，東京，2005，４月

6) 森本拓也、中山恵介、黒川顕、小川倫洋、福原正博、浦上弘、大西真、多村憲、林哲也：*Orientia tsutsugamushi* とリケッチア属細菌間のゲノム構造比較　第７8 回日本細菌学会総会，東京，2005，４月

7) 小椋義俊、黒川顕、大岡唯祐、大西真、中山恵介、森本拓也、寺島淳、渡辺治雄、林哲也：Whole genome PCR scanning と Microarray を用いた EHEC ゲノムの比較解析　第７8 回日本細菌学会総会，東京，2005，４月

8) 大岡唯祐、小椋義俊、大西真、中山恵介、森本拓也、林哲也：O157 株間のゲノム構造多型に関する網羅的な解析　第７8 回日本細菌学会総会，東京，2005，４月

9) 坂口義彦、林哲也、中山恵介、黒川顕、大西真、李在

鉄、崔錦花、小熊恵二：ボツリヌスC型とD型神経毒素を支配するバクテリオファージの遺伝子解析　第７８回日本細菌学会総会，東京，2005,４月

10）中山恵介、森本拓也、黒川顕、山下敦士、小川倫洋、福原正博、浦上弘、大西真、小椋義俊、大岡唯祐、多村憲、服部正平、林哲也：*Orientia tsutsugamushi* のゲノム解析　第２８回日本分子生物学会，福岡，2005,１２月

11）小椋義俊、大岡唯祐、黒川顕、田代浩介、大西真、中山恵介、寺嶋淳、野邉理花、久原哲、森本拓也、渡辺治雄、戸邊亨、林哲也：Whole genome PCR scanning と Microarray を用いた EHEC ゲノムの比較解析　第２８回日本分子生物学会，福岡，2005,１２月

12）小椋義俊、大岡唯祐、山下敦士、黒川顕、田代浩介、戸邊亨、寺嶋淳、野邉理花、大西真、中山恵介、久原哲、渡辺治雄、服部正平、林哲也：腸管出血性大腸菌ゲノムの比較解析　第８回ワークショップ　微生物ゲノム研究のフロンティア，木更津，2006,３月

13）坂口義彦、林哲也、中山恵介、黒川顕、大西真、李在鉄、崔錦花、黄賢正、山本由弥子、小熊恵二：ボツリヌスC型とD型神経毒素を支配するバクテリオファージの遺伝子解析　第８回ワークショップ　微生物ゲノム研究のフロンティア，木更津，2006,３月

14）小椋義俊、大岡唯祐、黒川顕、大西真、中山恵介、寺嶋淳、久原哲、渡辺治雄、林哲也：腸管出血性大腸菌ゲノムの比較解析　第７９回日本細菌学会　2006,３月

15)大西真、渡辺治雄：腸管外病原性大腸菌の系統解析　第７９回日本細菌学会総会，金沢，2006，３月

16）中山恵介、森本拓也、黒川顕、小川倫洋、福原正博、浦上弘、大西真、多村憲、林哲也：*Orientia tsutsugamushi* のゲノム解析　第７９回日本細菌学会総会，金沢，2006，３月

17）大西真.淋菌/クラミジアの病原性に関わる分子遺伝学　第 12 回兵庫県性感染症（STD）研究会　神戸、2006，３月

18）池辺忠義，渡辺治雄．劇症型/重症溶レン菌感染症患者から分離された *emm49* 型 *Streptococcus pyogenes* 株の遺伝子解析．第 78 回日本細菌学会総会，東京，2005，４月．

19）秋山徹，河村好章，池辺忠義，渡辺治雄，内山竹彦．A 群レンサ球菌(GAS)病原性関連搭載 DNA アレイを用いた M3 型 GAS 強毒株の高病原性規定因子の同定．第 78 回日本細菌学会総会，東京，2005，４月．

20）森田昌知，池辺忠義，渡辺治雄．*Streptococcus pyogenes* の M 血清型別における cysteine protease 活性の影響．2005 年レンサ球菌感染症研究会，東京，2005，６月．

21）平川宣幸、近江友香、小林健太郎、Faruque SM、Ramamurthy T、Nair GB、荒川英二，三好伸一、篠田純男　インド・ベンガル地域で単離された *Vibrio cholerae* 臨床株・環境株の分子生物学的比較研究，第39回腸炎ビブリオシンポジウム，2005，10月，新潟

22）山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住祐子、高橋光良．結核患者だった飼い主より感染したと思われた犬の結核例、第 75 回実験結核研究会総会、さいたま市、2005 年 5 月．

23）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、RD16 BCG の生物学的活性、第 75 回実験結核研究会総会、さいたま市、2005 年 5 月．

24）山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住祐子、高橋光良、感染源が特定された飼い犬の結核例、第 79 回日本結核病学会総会、さいたま市、2005 年 5 月．

25）山崎利雄、松岡正典、儀同政一、生物発光法をによるらい菌の薬剤感受性試験法、第 78 回日本ハンセン病学会、青森、2005 年 5 月．

26）中山　周一、渡辺 治雄：1,2-propanediol によるサルモネラ細胞侵入性遺伝子発現の抑制機構の解析。第 78 回日本細菌学会総会、2005 年、4 月、東京。

27）小林静史，倉　文明，前川純子，渡辺治雄：*Legionella pneumophila*（Lp）感染において感受性である B10.A/SgSnSlc マウスの解析，第 78 回日本細菌学会総会，2005 年 4 月，東京。

28）倉　文明，小林静史，前川純子，渡辺治雄：myeloperoxidase 欠損マウスの *Legionella pneumophila* 易感染性，第 78 回日本細菌学会総会，2005 年 4 月，東京。

29）荒谷康昭，倉　文明，渡辺治雄，高野幸枝，鈴木和男，小山秀機：真菌感染と好中球機能，シンポジウム講演，第 78 回日本細菌学会総会，2005 年 4 月，東京。

30）小林静史，倉　文明，前川純子，山本直樹，渡辺治雄：*Legionella pneumophila* 感染時における Lgn1 コンジェニックマウス由来マクロファージのサイトカイン産生について，第 70 回日本インターフェロン・サイトカイン学会，ワークショップ，2005 年 7 月，京都。

31）倉　文明，小林静史，前川純子，常　彬，荒谷康昭，鈴木和男，渡辺治雄：*Legionella pneumophila* に対する感染防御機構，NOX2 など，シンポジウム講演，第 16 回日本生体防御学会学術集会，2005 年 8 月，東京。

32）荒谷康昭，倉　文明，渡辺治雄，高野幸枝，赤川久義，鈴木和男，　小山秀機：好中球の機能異常が誘発する真菌感染，シンポジウム講演，第 16 回日本生体防御学会学術集会，2005 年 8 月，東京。

33）荒谷康昭, 倉　文明, 渡辺治雄, 高野幸枝, 鈴木和男, 小山秀機: 真菌感染と好中球ミエロペルオキシダーゼ, シンポジウム講演, 第 49 回日本医真菌学会総会, 2005 年 10 月, 千葉。

34）荒谷康昭, 倉　文明, 渡辺治雄, 赤川久義, 高野幸枝, 鈴木和男, Nobuyo Maeda, 小山秀機：ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのクリプトコッカス感染防御能の低下, 第 11 回 MPO 研究会, 2005 年 10 月, 熊本。

35）倉　文明：レジオネラの基礎. 平成 17 年度特別課程細菌コース講義（国立保健科学医療院）, 2005 年 11 月,和光。

36）Kobayashi S, Kura F: A new locus on chromosome 13 of mice involved in *Legionella pneumophila* replication in lungs. 第 35 回日本免疫学会総会・学術集会, 2005 年 12 月, 横浜。

37）倉　文明：レジオネラ感染症の現状と展望, 特別講演, 第 18 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会・研究会, 2006 年 2 月, 長野。

38）小林静史, 倉　文明, 前川純子, 渡辺治雄：*Legionella pneumophila* 感染における *Lgn1* の役割：マクロファージでのサイトカイン産生, 第 79 回日本細菌学会総会, 2006 年 3 月, 金沢。

39）小林静史, 倉　文明, 前川純子, 常　彬, 渡辺治雄：肺における *Legionella pneumophila* の増殖制御に関与する新規遺伝子座 *Lgn2*, 第 79 回日本細菌学会総会, 2006 年 3 月, 金沢

40）和田昭仁、田中洋輔、宮本豊一、二階　亮、齋藤典子、ヒトから分離された *Brachyspira pilosicoli* の性状に関して.第 43 回レプトスピラシンポジウム 2006 年 3 月（石川県）

41）田中洋輔、長住瑠美、青柳恵美子、宮本豊一、秋田博伸、和田昭仁、アメーバ性大腸炎と *Brachyspira pilosicoli* による腸管スピロヘータ症の合併例 第 17 回日本臨床微生物学会総会 2006 年 1 月（神奈川県）

42）和田昭仁、岡田千香子、稲川裕子、米山彰子、β-ラクタム剤に対する耐性度が低下した変異株を生じる肺炎球菌の解析. 第 3 回薬剤耐性菌研究会 2005 年 11 月（群馬県）

43）馬場浩美, 岡田千賀子, 馬場勝, 中條眞弓, 稲川裕子, 和田昭仁, 米山彰子 *Helicobacter cinaedi* と思われる同定困難なグラム陰性ラセン菌による敗血症の臨床的検討 第 79 回日本感染症学会総会 2005 年 4 月（愛知県）

44）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 78 回日本細菌学会総会 2005 年 4 月（東京都）

45）伊豫田淳、渡辺治雄：腸管出血性大腸菌における *pch* 遺伝子を介した LEE 遺伝子群の発現制御と発現階層性の解析。第７８回日本細菌学会総会、２００５年４月　東京

46）井口純、伊豫田淳、渡辺治雄、大澤朗：大腸菌の O 側鎖が Stx2 ファージ感染に与える影響について。第７８回日本細菌学会総会、２００５年４月　東京

47）伊豫田淳：分子遺伝学的手法を用いた大腸菌病原性遺伝子の発現制御機構の解析。第１５回感染研シンポジウム、２００５年５月　東京

48）井口純、伊豫田淳、寺嶋淳、渡辺治雄、大澤朗：大規模な逆位による腸管出血性大腸菌 O157 ゲノムの多様化。第５８回日本細菌学会関西支部総会、２００５年１０月　神戸

49）伊豫田淳、小泉信夫、佐藤人美、陸彦、大西真、渡辺治雄. 腸管出血性大腸菌におけるべん毛とタイプ III 蛋白質輸送装置の共役発現制御機構。第２８回日本分子生物学会年会、２００５年１２月　福岡

50）高橋英之、渡辺治雄：髄膜炎菌 g-glutamyl aminopeptidase 遺伝子の淋菌ホモログの同定と解析―ナイセリア属菌の進化と遺伝子の水平伝播.第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年４月.

51）高橋英之、黒木俊郎、渡辺祐子、田中博、井上博雄、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 79 回日本感染症学会総会、名古屋市、2005 年 4 月.

52）高橋英之：病原性ナイセリア属菌に関して、平成 17 年度特別課程細菌コース・初級コース（国立保健医療科学院主催）、埼玉、2005 年 10 月。

53）三戸部治郎、大西真、渡辺治雄　赤痢菌の二成分制御系センサーCpxA を介した post-transcriptional な病原性遺伝子の発現制御。第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 3 月、金沢

54）三浦雅史、寺嶋　淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、渡辺治雄：赤痢菌(*Shigella sonnei*) *ospE2* 遺伝子の機能解析 第 79 回日本細菌学会総会、2006 年３月、金沢

55）大岡唯祐、小椋義俊、中山啓介、黒川　顕、寺嶋　淳、渡辺治雄、林　哲也：IS 分布を利用したマルチプレックス PCR による迅速な O157 菌株識別システムの開発　第 79 回日本細菌学会総会、2006 年３月、金沢

56）寺嶋　淳、泉谷秀昌、伊豫田　淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄：2004 年における O157:H7 を中心とした EHEC の動向について。第 9 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2005 年 6 月、盛岡

57）松本昌門、栄　賢司、鈴木康元、宮崎　豊、長野秀樹、八柳　潤、黒澤　肇、小林一寛、堀川和美、久高　潤、寺嶋　淳、渡辺治雄：我が国のパルスネット構築のための 8

地方衛生研究所による基礎的研究。第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月、名古屋

58) 常　彬、前川純子、倉　文明、渡辺治雄。*Legionella pneumophila* の肺胞上皮細胞侵入様式の多様性について第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月.

59) 茂木瑞穂、高木裕三、寺島淳、渡辺治雄、泉福英信、DNA マイクロアレイによる *Streptococcus mutans* のバイオフィルム関連遺伝子の検討、第 78 回日本細菌学会総会、東京、4 月 4 日~4 月 6 日. 2005.

60) 米沢英雄、中尾龍馬、渡辺治雄、泉福英信、*Streptococcus gordonii* 由来ペプチド SspB390-T400K-402 の歯周病原性細菌への結合、第 78 回日本細菌学会総会、東京、4 月 4 日~4 月 6 日、2005. .

61) 中尾龍馬、落合邦康、泉福英信、渡辺治雄. *Porphyromonas gingivalis* の外膜タンパク Omp85 ホモログの解析、第 78 回日本細菌学会総会、東京、4 月 4 日~4 月 6 日、2005.

62) 泉福英信、奥田健太郎、渡辺治雄. *Streptococcus gordonii* 菌体表層蛋白質ペプチド SspB 390-T400K-402 の特性、第 78 回日本細菌学会総会、4 月 4 日~4 月 6 日、2005.

63) 田代陽介、中尾龍馬、泉福英信、渡辺治雄、野村暢彦、緑膿菌における Omp85 homolog の機能解析、第 78 回日本細菌学会総会、東京、4 月 4 日~4 月 6 日、2005.

64) 田村昌平，山崎統資，泉福英信，Oral streptococci の菌種菌株間の biofilm 形成能および形態の検討，第 47 会歯科基礎医学会，仙台，2005 年 9 月.

65) 中尾龍馬，泉福英信，*galE* 変異が引き起こす *Porphyromonas gingivalis* のバイオフィルム過形成と LPS 改変，第 47 会歯科基礎医学会，仙台，2005 年 9 月.

66) 木庭秀彦，田上順治，泉福英信. *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，仙台，2005 年 9 月.

67) 田村晴希，山田ありさ，泉福英信，加藤裕久. *Streptococcus downei* antigen I/II 相同遺伝子 *pah* の同定，第 47 会歯科基礎医学会，仙台，2005 年 9 月.

68) 武内博朗，的場一成，西川原総生，奥田健太郎，泉福英信，花田信弘，歯周病関連菌由来バイオフィルムの光学的検出評価法の検討，第 54 回口腔衛生学会総会，東京，2005 年 10 月.

69) 鴨田勇司，早乙女裕彦，葭原明弘，宮崎秀夫，植松宏，泉福英信，自立高齢者における日和見感染菌の出現と口腔診査指標との関係，第 54 回口腔衛生学会総会，東京，2005 年 10 月.

70) 泉福英信，多田章夫，小森康雄，歯科医療における院内感染対策の現状について，第 54 回口腔衛生学会総会，東京，2005 年 10 月.

71) 金子昇，泉福英信，花田信弘，宮崎秀夫，高齢者における唾液中抗 PAc(361-386)IgA 抗体，第 54 回口腔衛生学会総会，東京，2005 年 10 月.

72) 富永燦，小森康雄，中島仁一，泉福英信，ラクトフェリンおよびラクトペルオキシダーゼによる HIV 感染細胞と TNF-・産生との関係，第 19 回日本エイズ学会，熊本，2005 年 12 月.

73) 前田憲昭，加藤真吾，田中理恵，池田正一，樋口勝規，柿沢卓，泉福英信，宇佐美雄司，第 19 回日本エイズ学会，熊本，2005 年 12 月.

74) 伊能智明，小森康雄，松田憲一，高橋英俊，中島仁一，千葉博茂，泉福英信，HIV 感染患者における唾液中 TNF-・と口腔病変に関する研究 -口腔病変に対する LF 含嗽剤の効果も含めて-，第 19 回日本エイズ学会，熊本，2005 年 12 月.

75) 東出正人、佐々木照美、土屋喬義、泉谷秀昌、渡辺治雄、松下秀：下痢症患者より分離された CTX-M-14 型βラクタマーゼ産生性 *Salmonella enterica* serovar Enteritidis について。第 79 回日本感染症学会総会、愛知、2005 年 4 月。

76) 廣瀬健二、泉谷秀昌、田村和満、高井信子、渡辺治雄：ナリジクス酸耐性チフス菌・パラチフス A 菌の日本国内における分離状況。第 79 回日本感染症学会総会、愛知、2005 年 4 月。

77) 倉園貴至、近真理奈、砂押克彦、大島まり子、山口正則、泉谷秀昌、渡邉治雄：ヒト由来サルモネラの血清型と薬剤感受性の推移（2002-2004）。第 79 回日本感染症学会総会、愛知、2005 年 4 月。

78) 渡辺治雄。食品媒介菌の薬剤耐性の現状とその制御に向けての取り組み。第１３９回日本獣医学会シンポジウム。２００５年３月、和光

79) 石畝 史、京田芳人、望月典郎、泉谷秀昌、渡辺治雄：多剤耐性 *Salmonella* Newport におけるヒト由来株と下水由来株との関連性。第 79 回日本感染症学会総会、愛知、2005 年 4 月。

80) 小西典子、森　功次、下島優香子、尾畑浩魅、柴田幹良、門間千枝、矢野一好、甲斐明美、諸角　聖、泉谷秀昌、渡辺　治雄：*Salmonella enterica* serovar Enteritidis におけるナリジクス酸耐性菌の出現状況と耐性遺伝子解析。第 79 回日本感染症学会総会、愛知、2005 年 4 月。

81) 中矢秀雄、笠原麻友美、大口尚基、室田卓之、田口真澄、泉谷秀昌、渡辺治雄、高橋伯夫：フルオロキノロン耐性サルモネラによる複雑性膀胱炎の一例。第 79 回日本感染症学会総会、愛知、2005 年 4 月。

82）泉谷秀昌：医療分野における薬剤耐性菌問題での課題と取り組みについて－サルモネラ菌における薬剤耐性について。平成 17 年度動物用医薬品危機管理対策に関する研修会、東京、2005 年 6 月。

83）泉谷秀昌、寺嶋淳、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄：2004 年における O157:H7 を中心とした EHEC の動向について。衛生微生物技術協議会第 26 回研究会、福井、2005 年 7 月。

84）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* Typhimurium による大規模食中毒。衛生微生物技術協議会第 26 回研究会、福井、2005 年 7 月。

85）石畝 史、京田芳人、望月典郎、村岡道夫、堀川武夫、泉谷秀昌、渡辺治雄：米国株と類似の薬剤耐性パターンを示す *Salmonella* Newport の確認。衛生微生物技術協議会第 26 回研究会、福井、2005 年 7 月。

86）網代隆、伊藤敦、泉谷秀昌、渡辺治雄：宮城県で分離された動物由来 *Salmonella* Typhimurium の疫学マーカーによる解析。平成 17 年度日本産業動物獣医学会（東北）、山形、2005 年 9 月。

87）泉谷秀昌：分子生物学総論。国立保健医療科学院平成 17 年度特別課程細菌コース、埼玉、2005 年 10 月。

88）山下裕，宮崎正信，川村純生，笠井尚，石野徹，小泉信夫，平潟洋一，河野茂．レプトスピラ症の 2 例．第 79 回日本感染症学会総会，愛知，2005 年．

89）小泉信夫，内田正紀，渡辺治雄．アライグマから分離されたレプトスピラの性状解析．レプトスピラシンポジウム，東京，2005 年．

90）小泉信夫，新田芳樹，渡辺治雄．レプトスピライムノグロブリン様タンパク質を抗原とした ELISA の有用性．レプトスピラシンポジウム，石川，2006 年．

91）森田昌知・池辺忠義・渡邉治雄．*Streptococcus pyogenes* の M 血清型別における cysteine protease 活性の影響．2005 年レンサ球菌感染症研究会.東京.2005 年

92）齋藤幹,川端寛樹,小泉信夫,藤田博己,高野愛,渡邉治雄． 海外での *Borrelia valaisiana* 近縁種感染によるライム病輸入例． 第 43 回レプトスピラシンポジウム．2006 年 3 月．

93）新田芳樹,国場保,屋富祖昇,川端寛樹,小泉信夫,藤田博己,角坂照貴.レプトスピラ症発生養豚場における疫学調査．第 43 回レプトスピラシンポジウム．2006 年 3 月．

94）岡本能弘，増澤俊幸，宇根有美，竹内隆浩，塚越啓子，川端寛樹，小泉信夫，吉川泰弘．レプトスピラの輸入動物を介した症例．第 43 回レプトスピラシンポジウム．2006 年 3 月．

95）増澤俊幸，岡本能弘，川端寛樹，小泉信夫，角坂照貴，藤田博己．野鼠のレプトスピラ保有状況調査（2003～2005）．第 43 回レプトスピラシンポジウム．2006 年 3 月．

96）川端寛樹,高野愛,渡邉治雄．非組換え抗原型ライム病血清診断キットの標準化． 第 43 回レプトスピラシンポジウム．2006 年 3 月．

97）川端寛樹,新田芳樹,角坂照貴,藤田博己,御供田睦代,本田俊郎,増沢俊幸,河村好章,江崎孝行,高野愛,渡邉治雄．南西諸島における *Borrelia valaisiana* 近縁種の浸潤．第 43 回レプトスピラシンポジウム．2006 年 3 月．

98）川端寛樹．レプトスピラ感染症-国内環境中のレプトスピラについて-（講演）．長崎大学熱帯医学研究所平成 17 年度共同研究会． 2006 年 2 月．

99）川端寛樹．ダニ媒介性感染症．感染症媒介マダニについて．平成 17 年度希少感染症研修会.2006 年 2 月．

100）三宅浩行，山口全一，加藤理子，馬場俊一，藤田博己，川端寛樹，斎藤範夫.フタトゲチマダニ若虫刺咬症の小児例．日本皮膚科学会東京地方会．2006 年 1 月．

101）増澤俊幸，岡本能弘，宇根有美，竹内隆浩，塚越啓子，川端寛樹，小泉信夫，吉川泰弘．輸入動物（アメリカモモンガ）に起因するレプトスピラ症感染事例．第 5 回人と動物の共通感染症研究会学術集会．2005 年 11 月．

102）増澤俊幸，岡本能弘，宇根有美，竹内隆浩，塚越啓子，川端寛樹，小泉信夫，吉川泰弘．輸入動物に起因するレプトスピラ症感染事例の診断と感染源の特定．日本細菌学会関東支部会．2005 年 10 月．

103）川端寛樹．ライム病とボレリアの遺伝子改変技術（講演）．日本細菌学会関東支部会．2005 年 10 月．

104）安藤秀二，高野 愛，鶴見みや古，仲村 昇，佐藤文男，高橋 守，岸本寿男，野上貞雄，川端寛樹，藤田博己．*Carios* 属ダニの病原体ベクターとしてのリスク評価． リケッチア研究会．2005 年 10 月．

105）高野 愛，岸本寿男，安藤秀二，佐藤梢，荒川香南子，小川基彦，野上貞雄，川端寛樹，藤田博己．日本国内で採取されたマダニにおけるライム病病原体ボレリアの浸潤状況．日本野生動物医学会． 2005 年 9 月．

106）高野 愛，鶴見みや古，仲村 昇，佐藤文男，高橋守，岸本寿男，安藤秀二，野上貞雄，川端寛樹，藤田博己．*Carios* 属から見出された *Rickettsia*．第 13 回 SADI（ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー）．2005 年 9 月．

107）田原研司，板垣朝夫，川端寛樹，角坂照貴，藤田博己，矢野泰弘，高田伸弘．島根県におけるつつがむし病の発生状況と *Orientia tsutsugamushi* の流行株．島根県

獣医学会．2005 年 8 月
108) 矢野泰弘，田原研司，板垣朝夫，藤田博己，角坂照貴，川端寛樹，高田伸弘．隠岐諸島および島根県本土域におけるツツガムシ病の疫学的特性．日本衛生動物学会大会．2005 年 6 月．
109) 石畝史，高田伸弘，藤田博己，矢野泰弘，溝口二郎，田原研司，川端寛樹，増沢俊幸．島嶼を含む列島各地におけるライム病関連ボレリアの調査,2004 年の成績と考察．日本衛生動物学会大会．2005 年 6 月．
110) 佐々木年則，佐々木次雄，久保田眞由美，川端寛樹，Poudel，S.K.S.，星野啓太，比嘉由紀子，伊澤晴彦，冨田隆史，澤邊京子，荒川宜親，小林睦生．再興感染症としての塹壕熱および回帰熱に対する疫学的試み．日本衛生動物学会大会．2005 年 6 月．
111) 藤田博己，川端寛樹，小泉信夫，角坂照貴，新田芳樹．沖縄本島のミナミネズミマダニからの紅斑熱群リケッチア分離例．日本衛生動物学会大会．2005 年 6 月．
112) 新田芳樹,柳田千夏,川端寛樹,小泉信夫,藤田博己,角坂照貴．*Leptospira flaB* nested PCR の検討と野外応用．第 42 回レプトスピラシンポジウム．2005 年 4 月．
113)中尾龍馬、泉福英信、米田早織、木庭秀彦、菅野直之、渡辺治雄、口腔から単離されたテトラサイクリン耐性レンサ球菌の解析、第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月

5．細 菌 第 二 部

部 長　荒 川 宜 親

概　要

細菌第二部は､第一室から第五室の５つの室で構成され、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、評価などに関して各部、室に対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。他方、国際協力の面では、今年度も 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”としての活動を行った。

この間、細菌第二部では、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−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（特にベトナム、台湾など）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百日咳等の感染症の診断、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、分子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も実施された。

常勤職員の異動としては、平成１７年１０月１日付けで森 茂太郎が研究員（第四室）として採用された。平成１８年３月末日を以て山本三郎室長が退官された。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、長野則之、小島 禎、土井洋平、八木哲也、瀬戸幸路、坂本 崇、山本十糸子、大石和恵、高塚尚和、井上雅可、流動研究員として石川暁志､和知野純一､研究生として､本間　操、山田友紀､畑中公基､松永和代､長野由起子らが在籍し、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、木村幸司、甲斐久美子、横川滋子、瀧 世志江、南條友子、粕谷裕子、吉村由美子、増田まり子、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（村山庁舎業務管理課在籍）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. 薬剤耐性菌及び抗菌薬関連下痢症等に関する菌株・検体等の解析依頼の概要について

国内 71 施設及び海外 2 施設の医療機関等から､研究ベースでの依頼を受けた菌株・検体について、薬剤耐性遺伝子検査（475 件)、毒素遺伝子検査（165 件)、菌株タイピング解析（415 件)、菌種同定（181 件)、*Clostridium difficile* 分離同定（11 件)、*C. difficile* 毒素検出（21 件)、その他（60 件）の解析を実施し、それらの結果を依頼施

設に報告した。依頼菌株の菌種については、（１）*Enterococcus* spp.（179 株）、*Staphylococcus* spp.（36 株）、*Streptococcus* spp.（3 株）、その他のグラム陽性球菌（7 株）、（２）*Clostridium* spp.（187 株）、その他のグラム陽性桿菌（2 株）、（３）*Pseudomonas* spp.（112 株）、*Escherichia coli*（77 株）、*Proteus* spp.（25 株）、*Acinetobacter* spp.（32 株）、*Klebsiella* spp.（29 株）、*Helicobacter pylori*（21 株）、*Serratia* spp.（16 株）、*Enterobacter* spp.（9 株）、*Providencia* spp.（8 株）、*Alcaligenes* spp.（4 株）、*Achromobacter* spp.（4 株）、*Morganella* spp.（2 株）、その他のグラム陰性菌（13 株）、（４）その他（2 株）であった。［加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、甲斐久美子、吉村由美子、横川滋子、瀧世志江、木村幸司、和知野純一、近田俊文、荒川宜親］

2. 新型 IMP-21 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の検出との遺伝子解析

メタロ-β-ラクタマーゼは、カルバペネム系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、その亜型も海外では報告されてきている。今回、我が国で臨床分離された緑膿菌から、新型のメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌を検出した。このメタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子は、海外で報告のない IMP-11 型と１アミノ酸の違いが認められた。さらに、周辺の遺伝子解析を行った結果、これらはクラス１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た。［柴田尚宏、荒川宜親］

3. CTX-M 型 β-ラクタマーゼ遺伝子の周辺構造の遺伝子解析

我が国で分離された臨床分離グラム陰性桿菌を用い 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、さらに解析を進めて、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にしてきた。こうした CTX-M 型遺伝子は、IS*Ecp1* やインテグロンに担われていることが報告されつつあるので、CTX-M 型タイピングと IS*Ecp1* とインテグロンの保有状況を PCR にて解析した。その結果、我が国で分離された CTX−M 型遺伝子保有株は、IS*Ecp1* に担われている割合が多いことが明らかとなった。［柴田尚宏、鈴木里和、横川滋子、荒川宜親］

4．CTX-M-2 型 β-ラクタマーゼ遺伝子保有 *Proteus mirabilis* のパルスフィールド電気泳動とプラスミドプロファイルの解析

我が国で分離された臨床分離グラム陰性桿菌を用い PCR 法により CTX-M 遺伝子タイピングを試みてきた。その結果、我が国で臨床分離される *P. mirabilis* では、ほとんどが CTX-M-2 型であることが明らかとなり既に報告した。今回さらに、これらの株についてパルスフィールド電気泳動とプラスミドプロファイルの解析を行った。その結果、我が国で分離された CTX-M-2 型遺伝子保有 *P. mirabilis* は、PFGE パターンは異なるが、大半が類似のプラスミドプロファイルとなることが明らかとなった。このプラスミドは伝達性であることが明らかとなっており、プラスミドを介して我が国に拡がっている可能性が示唆された。［柴田尚宏、鈴木里和、荒川宜親］

5．LAMP 法によるメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の迅速診断法の開発

我が国で開発された LAMP（loop-mediated isothermal amplification）法は、従来の PCR 法にかわる迅速で特異度の高い方法として注目されている。今回、シークエンス解析の明らかとなっている臨床分離メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の内、IMP-1 型および VIM-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌を用い、各々の遺伝子に特異的プライマーを設計し、PCR 法と比較検討した。その結果、LAMP 法は、従来の方法に比して、より迅速に遺伝子を検出できるだけでなく、特異度も高いことが明らかとなった。この成果は、臨床現場で応用が期待できることが示唆された。［柴田尚宏、小島禎（栄研化学）、荒川宜親］

6．プラスミド性ニューキノロン耐性遺伝子の解析

臨床分離された大腸菌のプラスミドに保持されていたニューキノロン耐性遺伝子 *qep* の解析を行い、この遺伝子産物が 14 回膜貫通型 MFS ファミリーに属する薬剤排出ポンプであることを明らかにした。［山根一和、和知野純一、鈴木里和、荒川宜親］

7．PCR 法によるプラスミド性ニューキノロン耐性遺伝子 *qep* の保有状況の調査

ニューキノロン耐性遺伝子 *qep* は、アミノグリコシド耐性遺伝子の一種である 16S rRNA メチラーゼ（*rmtB*）の近傍に存在することが明らかになったために、*rmtB* 陽

性菌株の *qep* 保有状況を PCR 法によって調べた。その結果、10 株の *rmtB* 陽性菌株（*Escherichia coli* 7 株、*Klebsiella pneumoniae* 1 株、*Serratia marcescens* 1 株）のうち 3 株の *E. coli* で *qep* が陽性となった。［山根一和、和知野純一、荒川宜親］

8．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。その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］

9．血液から分離されたグラム陽性菌の菌種同定

患者血液から分離されたグラム陽性桿菌について、生化学性状および 16S rRNA 遺伝子の塩基配列によって菌種を同定した。その結果、このグラム陽性菌は *Dysgonomonas capnocytophagoides* であることが判明した。［山根一和、荒川宜親］

10．多剤耐性緑膿菌による院内感染事例の分子疫学的解析

医療機関において発生した多剤耐性緑膿菌の院内感染事例について、耐性遺伝子の解析、および PFGE 解析による遺伝子型別などを実施し、感染源感染経路について解析した。本事例は同一株が患者の病棟間移動に伴い、病院内広範に伝播していったと考えられた。また、痰の吸引といった医療従事者による呼吸器系のケアが伝播に寄与していると考えられた。［鈴木里和、山根一和、柴田尚宏］

11．バンコマイシン耐性腸球菌の細菌学的解析、集団発生事例の比較検討

わが国の院内感染事例由来の VRE は菌種、耐性遺伝子型ともに米国や韓国のような VRE がすでに高度に蔓延している地域とは異なっていた。しかし、MLST ではいわゆる“global epidemic strain”もすでに分離されており今後の対策の重要性が示唆された。また、院内感染対策は持ち込み例がほとんど無いため接触感染対策で十分に制御可能であったが、保菌者の迅速な把握が制御において重要であると考えられた。［鈴木里和、加藤はる、山根一和、柴田尚宏］

12．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、日本大学医学部付属板橋病院、長崎神経医療センター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、長崎県から解析依頼のあった菌株について行政検査として解析を行った。［加藤はる、甲斐久美子、近田俊文、荒川宜親］

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ダイレクト・タイピングへの応用

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をコードする *slpA* 遺伝子のシークエンスによる方法の開発を試みた。さらに、臨床検体から分離培養ステップを経ることなく行うダイレクト・タイピング法へ本法を応用した。［加藤はる、横山敏之（久美愛病院）、加藤秀章（豊川市民病院）、赤羽貴行（安曇野赤十字病院）、伊藤陽一郎（岐阜赤十字病院）］

2．糞便検体からの loop-mediated isothermal amplification (LAMP)による *Clostridium difficile* toxin B 遺伝子検出法の開発

LAMP による分離菌株の toxin B 産生能解析、および糞便検体からの toxin B 遺伝子検出法を開発した。糞便検体から DNA を抽出するステップを省略するために、cooked meat media で一晩培養し、培養液を 95℃でインキュベートすることにより簡単に DNA を抽出する方法に発展させた。［加藤はる、吉村由美子、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の検討とタイピング解析を行った。［加藤はる、吉村由美子、中村敦（名古屋市立大学附属病院）、里村秀行（千葉県がんセンター）、伊藤陽一郎（岐阜赤十字病院）］

4．小児癌入院患児における *Clostridium difficile* 感染、消化管保有、および院内伝播に関する研究

白血病を中心とした小児癌症例では、抗がん薬および抗菌薬を頻繁に使用し、治療経過中にはよく下痢症状が

認められる。癌の治療目的で入院中の小児症例における *C. difficile* 消化管保有および下痢症の発症について検討する研究を開始した。[加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、村端真由美（名古屋市立大学)]

Ⅲ. 偏性嫌気性細菌に関する研究

1. 偏性嫌気性臨床分離株の同定

急激な経過をとったガス壊疽症例から分離された偏性嫌気性菌の同定を依頼された。ヒト感染症からは今までに分離報告のない *Clostridium chauvoei* と同定された。[加藤はる、高橋元秀、近田俊文、荒川宜親、長野則之（船橋市立医療センター)、佐々木貴正（農水省消費・安全政策課)]

Ⅳ. マイコプラズマに関する研究

1. 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、それまで報告の無かった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。そのために、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、感性菌に比べどのような影響が生じるかを検討した。耐性菌感染症の場合は感性菌に比べ有熱期間が３日延長していた。基礎疾患を有する患者や治療が遷延する場合には、耐性菌の可能性を考えてテトラサイクリン系抗菌薬への変更が検討されるものと考えられた。[鈴木里和、見理剛、佐々木次雄]

2. マイコプラズマ感染と特定疾患の関連性についての研究：新種 *Mycoplasma amphoriforme* 遺伝子診断系の国内導入

ヒトの下気道感染症起因菌の可能性を有する新種マイコプラズマ　アンフォリフォルム（Mamp）が欧米で分離、同定されたことを受けて、国内における診断系の確立ならびに、先天性免疫不全患者での慢性呼吸器疾患患者における菌検出調査を開始した。今年度は、菌培養、16SrRNA 遺伝子配列による PCR 法、肺炎マイコプラズマとの交差抗原の解析を行った。結果、DnaK を含む複数蛋白が交差抗原であった。今後、Mamp 特異抗原の同定とともに、全菌体を用いた肺炎マイコプラズマ血清診断法への影響についても検討する必要があると考えられた。[佐々木裕子[1]、永田典代[2]、有賀　正[3]、荒川宜親[1]、佐々木次雄[1]、１：細菌第二部、２：感染病理部、３：北海道大学大学院医学研究科 、 病態制学専攻生殖・発達講座小児科学分野]

3. *Mycoplasma penetrans* 感染因子のプロテオミクス解析

呼吸窮迫を伴う全身症状を呈した抗リン脂質症候群患者の気道由来マイコプラズマ　ペネトランス HF-2 株の感染に関与する因子の解析を行っている。ゲノム情報から予想された宿主免疫を回避する為の抗原変異機構、すなわち、複数プロモーター制御下における主要抗原リポ蛋白の相変異について、発現蛋白からの解析を LC/LC-MS/MS を用いて行った。結果、遺伝子群における 38 個の遺伝子産物がランダムに検出されるのではなく、特定の遺伝子産物が多いといった偏りがあることが示唆され、調節機構の存在が疑われた。[佐々木裕子[1]、新開-大内　史子[2]、山河芳夫[2]、川上隆雄[3]、見理　剛[1]、堀野敦子[1]、荒川宜親[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]

4. *Mycoplasma penetrans* の部位特異的組み換え酵素について

我々はこれまで *M. penetrans* の膜リポタンパク質の発現を調節するプロモーター配列の逆位に、チロシン部位特異的組み換え酵素、MYPE2900 が関与していることを明らかにしてきた。しかしこれまでは、プラスミド上に MYPE2900 の遺伝子を組み込み大腸菌内で発現させて、プロモーター領域の逆位を観察することはできたが、分離・精製が可能な量の MYPE2900 タンパク量を発現させることはできなかった。今回低温でタンパク発現を誘導することができる pCold I vector (Takara) を用いて検討したところ、MYPE2900 の大量発現が可能となった。[堀野敦子、見理　剛、佐々木裕子、佐々木次雄]

5. *M. pneumoniae* のトランスポゾン挿入位置分析法の改良

M. pneumoniae は、他の細菌で用いられる相同組み換えによる遺伝子破壊法を行うことができない。遺伝子導入ツールとしてトランスポゾン Tn*4001* が使用できるので、Tn*4001* の挿入による変異株の作製は可能である。しかし、目的の遺伝子に Tn*4001* が挿入した変異株をえるには、Tn*4001* の挿入位置を多数調べなくてはならない。これには煩雑な手間が必要である。今回、我々は Tn*4001* に大腸菌内で複製可能な ori と薬剤耐性遺伝子を組み込み、*M. pneumoniae* のゲノムへ挿入後、ゲノム DNA を制限酵素で切断して環化することによりプラスミドとして

扱えるようにした。このプラスミドには Tn*4001* の挿入位置の DNA の配列が含まれているので、その配列を調べることにより簡便に挿入位置の決定が可能となった。［堀野敦子、見理　剛、佐々木次雄］

6. *M. pneumoniae* のタンパク質細胞内局在の網羅的解析

M. pneumoniae は自律増殖が可能な最小クラスの細菌であるが、高度に分化した接着器官をもっている。接着器官は *M. pneumoniae* の病原性に必須な構造で、その形成には細胞骨格様構造がかかわっている。 *M. pneumoniae* の細胞骨格様構造をより詳しく知るための手段として、 *M. pneumoniae* のタンパク質の細胞内局在の網羅的分析を開始した。本年度は *M. pneumoniae* の全 689 個の遺伝子のうち、約 100 個について、黄色蛍光タンパク質 EYFP の遺伝子を連結して *M. pneumoniae* で発現させ、その産物の細胞内局在を蛍光顕微鏡観察によって調べた。その結果、約 20 個の遺伝子産物が明らかな細胞内局在を示した。このうち 10 個は細胞内で局在することがこれまで知られていなかった。

［見理　剛、瀬戸真太郎、宮田真人、堀野敦子、佐々木次雄］

Ⅴ．*Haemophilus influenzae* 及び Haemophilus b Conjugate Vaccine に関する研究

1．*H. influenzae* 臨床分離株の *pbp3* 遺伝子の変異と薬剤感受性の比較解析

呼吸器由来 *Haemophilus influenzae* 臨床分離株（β-ラクタマーゼ産生株 61 株、同非産生株 81 株）を用いて、*pbp3* 遺伝子の変異を検出する PCR 法（市販研究用試薬を用いた）による遺伝子型と、薬剤感受性試験による表現型との一致状況を比較解析した。β-ラクタマーゼ非産生株において ABPC の MIC が≧4μg/ml の株では両者に乖離は殆ど見られなかったが、調べた限りの ABPC の MIC が 2 μg/ml（中間）の株では約 30%の遺伝子型が BLNAR 型であり、感性である 1μg/ml の株でも数%が BLNAR 型であった。β-ラクタマーゼ非産生 BLNAR 型変異株ではセファクロル、セフカペン、セフポドキシムで感受性が低下し、また低頻度ながらセフォタキシム、セフタジジムに非感受性の株も見られた。［新谷三春、佐々木次雄、荒川宜親］

2. Hib ワクチンを含む外国製混合ワクチンの組成に関する調査

近年国内外のワクチンの開発・貿易の活発化に伴いそれらワクチンの特性を常に把握する必要がある。Hib ワクチン（破傷風トキソイドコンジュゲート）を含む外国製混合ワクチンの組成などについて以下の点を整理把握した。A 社では PT、FHA、PRN の３成分で構成した aP と D,T との混合ワクチン（DTaP3）、それと IPV, Hib との混合ワクチンを製造している。他方 B 社では PT、FHA の２成分で構成した aP と D,T との混合ワクチン（DTaP2）、及び PT、FHA、PRN、fimbriae2+3 の５成分で構成した aP と D,T との混合ワクチン(DTaP5)を製造し、それぞれについて IPV, Hib との混合ワクチンを製造するという２系列になっている。これまでの DTaP2/Hib, DTaP3/Hib, DTaP2/IPV/Hib, DTaP3/IPV/Hib, DTaP5/IPV/Hib は、すべて凍結乾燥品の Hib ワクチンを、セットになっている液状の他のワクチン成分で用時溶解してすぐに接種するというワクチンであり、ライセンスであったが、B 社は最近初めから全成分が混合された液状ワクチンを開発した。アジュバント、破傷風トキソイドなどは、日本のワクチンにおけるよりも量が多い。［新谷三春］

Ⅵ．ジフテリアに関する研究

1. *Corynebacterium ulcerans* とジフテリア菌の共通抗原について

C. ulcerans はジフテリア類似の感染症の起因菌として近年国内でも注目されている。我々は３種類のジフテリア菌抗原が抗 *C. ulcerans* 抗血清と反応することを見いだし、これらの菌の共通抗原として診断への有用性を検討している。今回、遺伝子塩基配列の解析から、そのうちの１種が Cu-Zn superoxide dismutase であることが示唆された。この遺伝子と高いホモロジーを示す遺伝子は他の *Corynebactrerium* 属細菌には見いだされないことから、鑑別に有用である可能性がある。[岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀]

2.　ジフテリア菌を接種されたマウスの貪食細胞における菌の存在様式

ジフテリア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、ジフテリア毒素に非感受性の動物種であるマウスを用いた感染実験を構築した（昨年度年報参照）。マウス背部皮内に 10^6cfu のジフテリア菌を投与することにより形成された膿瘍の内部には菌の存在が認められるが、この膿瘍の内容を電顕観察したところ、貪食細胞の内部および外部に菌が認められた。特に細胞内では、vacuole 様構造中および細胞質に多数の菌が認められ、一部のものは分裂像を示したことから、菌が細胞内で増殖している可能性が示された。[岩城正昭、永田典代(感染病理部)、波多野いく持(感染病理部)、高橋元秀]

3. LAMP 法によるジフテリア毒素遺伝子の検出

LAMP 法は日本で開発された遺伝子増幅法で、操作の簡便性と高感度のため広く普及しつつある。ジフテリアの実験室診断の迅速化・簡便化のため LAMP 法の応用を試みた。ループプライマーを含む六種のプライマーを用いた増幅反応により、ジフテリア菌 ATCC 700971(NCTC13129)株の精製ゲノム DNA１０コピーを検出できる系が構築できた。また、血液寒天上に生育した同株の菌体を蒸留水に懸濁し加熱した上清を鋳型としたところ、OD_{600} = 1 の菌体懸濁液から増幅が認められ、LAMP 法はジフテリア毒素遺伝子の迅速検出に有用であることが示唆された。[岩城正昭、高橋元秀　厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業]

4. 国内ジフテリア臨床分離菌株のパルスフィールド電気泳動による分類

1967 年から 1992 年に分離されたジフテリア菌株、東京都 41 株、秋田県 5 株、栃木県 35 株の合計 81 株を各地方衛生研究所から収集し、菌株の分離時期、場所の情報を持つ秋田県と栃木県の 40 株について、制限酵素 Sfi□を用いて、パルスフイールド電気泳動による分類を行った。秋田県と栃木県の菌株は異なるタイプであった。また、秋田県の菌株は 3 つのタイプに分類され、栃木県は、25 のタイプに分類された。今後、リボタイプを調べて、国際分類を行う計画である。[小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀　厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業]

5. 国内分離された *Corynebacterium ulcerans* の性状比較

千葉県 2 株(2001 年と 2002 年分離)、和歌山県 2 株(2004 年シャチから分離)、岡山県 1 株（2005 年分離)、大分県 1 株（2006 年分離）の合計 6 株についての性状をまとめると、アピコリネ同定検査結果コードは全て 011326 であり、20 項目の生化学性状は同じであった。また、培養細胞法によるジフテリア毒素活性は、千葉県 2001 年株は 11CD50/25μℓ。千葉県 2002 年株は 5 CD50/25μℓ。和歌山県 2004 年株は、11 CD50/25μℓ と 512 CD50/25μℓ。岡山県 2005 年株は 4 CD50/25μℓ。大分県 2006 年株は 64 CD50/25μℓ であった。[小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀]

Ⅶ. 破傷風に関する研究

1. 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、26 株の破傷風菌の毒素構造遺伝子の塩基配列の比較を進めている。その結果、これらの破傷風菌の中の 3 株では、3408 番目の T の後ろに 12 個の塩基が挿入されていた。これらの３株の毒力の強弱には一定の傾向はみられず、また、塩基の挿入されている領域はフラグメント C の中央付近であり、毒力への影響は低いと推測された。今後、さらに他の領域についても、塩基配列の決定を進めている。[福田　靖、岩城正昭、高橋元秀]

2. DTaP ワクチンへの混合化に関する検討：IPV、HepB の混合により DTaP のジフテリアと破傷風トキソイドの力価は大きく影響を受けないと推測される。一方、Hib を DTaP に混合した場合、ジフテリアトキソイドの力価は大きな影響を受けないが、破傷風トキソイドの力価は、混合前よりも 10 倍以上に上昇する場合があり、国内製剤の力価と異なる製剤の導入には注意が必要である。[福田靖、岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀　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]

Ⅷ. ボツリヌスに関する研究

1. バイオテロに用いられる可能性のある細菌毒素の診断法

Staphylococcus aureus Enterotoxin B (SEB)と *C.septicum*α 毒素の早期検出系としてイムノクロマト法を開発するための検出用抗体を作製した。また、感染症法の一部改正に伴う病原微生物等のバイオセキュリティ基準については、ボツリヌス毒素・菌を例にとり法施行後の現場対応を考察した結果、患者の医療及び公衆衛生対策に必要な実験室診断に支障がおこらないような措置の検討が必要と思われる。[高橋元秀、向本雅郁、小崎俊司（大阪府立大)、諸角　聖（東京都健康安全研)、八柳　潤（秋田県衛科研)、坂本　崇(国立精神神経センター)、銀永明弘、原川哲博（化血研）　厚生科学研究費補助金　新興・再興感染症　研究事業]

2. ボツリヌス毒素の品質管理法の改良

精度および感度の高いボツリヌス毒素の品質管理方法を確立するため、ラットの筋肉内に毒素を接種後、複合筋活性電位による評価系を結果、マウスの致死活性を指標とする以外に、毒素の品質試験法として精度良く用いることが明らかとなった。[高橋元秀、小崎俊司（大阪府立大)、銀永明弘、原川哲博（化血研）　創薬等 HS 総合研究事業]

Ⅸ. 結核等抗酸菌に関する基礎研究

1. マイコバクテリアのコロニー形態に影響を与える遺伝子の同定

これまでに、*Mycobacterium smegmatis* においてコロニー形態に影響を与える新規遺伝子（MSMEG6056）を見いだしている。そこで *M. bovis* BCG 株を用いて、MSMEG6056 と高い相同性を示す Mb3628c 遺伝子を破壊した株を作成したところ、破壊株のコロニー形態は通常株における Rough 型とは異なり Smooth 型であった。また、作成した破壊株中で Mb3628c 遺伝子を発現させた相補株では、コロニー形態は Rough 型に復帰した。これらのことから、本遺伝子はマイコバクテリアに共通してコロニー形態に関与していることが示された。現在は *M. tuberculosis* を用いた破壊株の作成、並びに本遺伝子と病原性との関連について解析を行っている。[森茂太郎、石川暁志、柴山恵吾、荒川宜親]

2. 結核菌由来タンパク質の精製、並びに結晶化

新規抗結核薬の効率的な開発に結びつける目的で、抗結核薬の標的になると考えられる結核菌由来タンパク質の立体構造解析を進めている。これまでに、主に細胞壁合成に関連している 13 遺伝子を結核菌のゲノム DNA より PCR を用いてクローニングした。そのうち、Rv1110、Rv2610c、Rv2868c、Rv3799c、及び Rv3801c については大腸菌内で大量発現させる実験系を確立し、さらに Rv1110 と Rv2610c は SDS-PAGE 上で単一バンドになるまで精製を行った。現在は得られた両精製タンパク質を用いて結晶化条件のスクリーニングを行うとともに、残りのタンパク質についても順次結晶化を進めている。[森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

3. モルモット脾臓および肺の BCG 増殖抑制因子に関する研究

BCG あるいは結核菌の加熱死菌体で免疫したモルモットのみならず、非免疫モルモットの脾臓および肺ホモジネート成分にも BCG 増殖抑制活性が認められた。BCG 増殖抑制活性は 50℃以上の加熱により失活するが、UV 照射あるいは超音波処理では失活せず、脾細胞の非細胞分画あるいは血清にも存在することから、細胞を介した免疫活性によるものではない。生体が本来有する自然抵抗性によるものと推測された。また、本因子存在下では BCG コロニーの出現が遅延することから、抗酸菌の潜伏感染機序の解明につながると考えられる。 [持田恵子、荒川宜親]

Ⅹ. BCG、ツベルクリンの品質管理に関する研究

1. BCGワクチンの副反応についての報告

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（４報）、膀胱癌抑制の機序に関する報告（4報）、BCG亜株の比較、その他BCG製剤に関する報告を抄読し、今後の対策についての提言を行った。膀胱癌再発予防のためのBCG維持療法の難しさは、副反応出現予測と再発防止のバランスを図ることにある。過剰投与による自己免疫性副反応と免疫抑制の両者が出現し、投与量・間隔のコントロールが重要である。一方、血液癌患者は治療薬による免疫抑制により結核発症リスクが高い宿主である。このような宿主での結核発症の早期発見も今後の重要な課題と言える。[持田恵子、荒川宜親]

2. サーモトレーサーによるPPD皮膚反応計測の試み

PPD皮膚反応は特異抗原に対する免疫反応が皮膚の硬結となることを利用して計測する。局所での炎症性反応が硬結および発赤となる現象を目視により反応径を測定する現行法と比べ、皮膚温の変化をサーモトレーサーにより検知する方法が優れているか否かを明らかにするため、NECサーモトレーサーTH9100Proを用いて検討した。本機は最小検知温度差が0.02度と十分な感度を有するが、実際に毛剃りしたモルモット皮膚温を測定してみると、PPD接種の有無に関わらず心臓部から四肢末端部方向への体温低下のグラデーションがあり、さらにPPD接種部位は非接種部位よりも皮膚温が低下していた。炎症性反応から反応局所の発熱を予想していたが、全く逆の結果を示した。硬結部位の境界がサーモトレーサー法では明確な差異とはならず、目視法に代わる方法としては不適当と結論された。[持田恵子、柴山恵吾、森茂太郎、井口由美子、山本三郎]

3. 精製ツベルクリンの品質管理に関する研究

精製ツベルクリンは一般診断用18ロットについて力価試験を行った。平均値は-0.8 ± 3.0であった。自家試験の平均値2.5 ± 2.8とはｔ検定により危険率0.01で有意差が認められた。自家試験と国家検定成績間での乖離は平成15年度から3年連続で認められている。合否判定には影響しないが、今後もトレンド解析を行う必要があると考えられた。[山本三郎、持田恵子、柴山恵吾、森茂太郎、井口由美子]

4. BCG日本株から製造されるBCG製剤に含まれる2種類の亜株の定量法の確立

感染研が保有しているBCGのシードTokyo172にはゲノム上のRD16領域に一部欠損があるType I variant strainと、欠損の無いType II variant strainの2種類が混在する。このシードをもとに製造されたBCG製剤はこれらの亜株を様々な割合で含む。Realtime PCRによりその割合を定量する系を確立した。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、山本三郎]

5. BCG製剤の菌の凝集の測定

BCGは凝集しやすい性質を持ち、その凝集の程度は温度、時間、撹拌などの条件により大きく変わる。BCG製剤の力価試験は、菌を溶解液で溶解後希釈し、培地に植えて生えてくるコロニー数から計算されるが、用いる菌液に菌の凝集があると、力価に影響すると考えられる。菌液中の菌の凝集を血小板凝集測定装置で測定することを試みた。菌の凝集はある程度半定量的に測定出来ることが分かった。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、山本三郎]

6. BCGの菌量測定試験に用いる濁度計の機種変更の検討

現在 BCG 製剤の菌量測定試験は菌の濁度を測定することにより行っているが、用いてきた機種が老朽化し、また製造中止となっており故障の際には修理も不可能のため、試験を別の機種に切り替えるための validation を行った。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、山本三郎]

XI. その他持続感染性病原細菌に関する研究

1. *Helicobacter pylori* のアポトーシス誘導蛋白の生化学的性状の解析

H. pylori より我々が同定したアポトーシス誘導蛋白γ-glutamyl transpeptidase を大腸菌を用いて大量発現、精製する系を確立し、精製蛋白を用いて酵素学的な characterization を行った。この蛋白はグルタミン、グルタチオンに対して強い加水分解活性を持ち、それが病原性に関わっている可能性が考えられた。[柴山恵吾、荒川宜親]

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) 国内外の DTaP-IPV の安全性評価に関する研究

海外製市販 DTaP および DTaP-IPV 並びに国内の DTaP および DTaP-IPV 試作品を、マウスの大腿部に1回筋肉内接種した。接種部位を2、3及び4週後に解剖し観察したところ、接種2週後ではいずれのワクチンも筋膜を通して白い沈着物が認められたが、3週後には国内製ワクチンは沈着物が消え、海外製ワクチンでは徐々に沈着物がはっきり固まって見えるようになり、4週間経過しても固まりが残存していた。接種4週後の組織像を観察すると、海外製ワクチンでは接種物の周りに壊死物が取り囲んでおり、接種物が吸収されずに残存していた。これに対し、国内製ワクチンでは接種物が吸収されている組織像が観察された。一方、IPV の有無による影響は認められなかった。[片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、永田典代、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、倉田 毅、堀内善信]

(2) 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。マウスでは初回接種時に百日咳毒素の残存アジュバント活性により共存抗原(主として D トキソイド)に対する感作が起きる。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、12時間後の動物の末梢血を採取し、ジフテリアトキソイドを加えて 37℃20 時間培養し、上清中の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]

(3) 参照百日せきワクチン(毒性試験用)の更新について

沈降精製百日せきワクチンのマウス体重減少試験、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標準品として使用している国内参照品 Lot 2 の在庫が少なくなったため、Lot 3 候補品を作製した。そこで、現行参照品 Lot 2 及び Lot 3 候補品を用いて予備的な検討を実施し、ワクチン製造所と行う標準化のための共同標定プロトコールを作成した。来年度中に感染研及び国内製造所(計 6施設)において、共同検定を実施し Lot 3 候補品の単位を算定する計画である。[落合雅樹、山本明彦、蒲地一成、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信]

2. その他のワクチンに関する研究

(1) ワクチンの局所反応原性評価システムの開発

ワクチンの接種局所傷害作用の詳細な評価は病理組織学的評価が必要であることから、通常、臨床的評価が不

可能である。海外製市販 DTaP でマウスの接種局所に強い傷害が見られたことから、DTaP をモデルにワクチンの局所傷害作用評価システムを検討した。その結果「明らかに傷害作用に違いのある同種ワクチンを、異なる動物種、接種ルート、接種量を組み合わせた少なくとも 3 種類のモデルで評価し、常に同様の違いが見られた場合、ヒトだけでは違いが見られないことが証明できない限り比較したワクチンに差があると考える」というのが可能な評価モデルと考えられた。この方法により、更に評価の必要なサンプルについて、例えば「こうした差を検出できる条件下で一貫して差が見られない場合、臨床的な差はない可能性を示唆する」等の評価が可能であると思われた。このシステムで不活化ポリオワクチンについて評価し、局所障害作用がないことを示唆する結果を得た。［片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、永田典代、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、倉田　毅、堀内善信］

(2) 不活化ポリオワクチン力価試験法の標準化

不活化ポリオワクチン(IPV)の有効性評価のために、力価試験ではワクチンのウィルス中和抗体誘導能を評価することが望ましい。そこで免疫ラットでの中和抗体測定法を採用することが適当と考えられた。但しラットは IPV 免疫に対して低感受性の個体があり、通常の抗体価を用いた平行線定量法の適用が困難である。そこで WHO ではⅠ、Ⅱ、Ⅲ型に対する中和抗体価を共通の血清で評価するため、型毎の浮動カットオフ値を用いて免疫用量毎の陽性率を算出し、プロビット法で解析することとしている。しかしこの方法では反応そのものを用いないことから、型毎の例えば参照品に対する反応の実験間での一貫性等についての評価が困難となる。そこで分散分析が望ましいが、そのためにはカットオフ値での打ち切り標本として最尤法による平均値、分散の推定を行う必要がある。実際の日常的な検定において最尤法による計算を行うのは煩雑であり、簡便化が望まれる。そこでこれまで得られた実測値をもとに近似最尤法による平行線定量法を作製した。その結果は推定平均値、分散がそれぞれ 0 以上で実際の最尤法による結果とよく一致した。［堀内善信、片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、豊泉裕美、白土東子、小川智子、小西恭子、岡　智一郎、李　天成、］谷雄一、宇田川悦子、武田直和(ウイルス第二部)］

(3) マウス脳由来日本脳炎ワクチンの安全性に関する検討

マウス脳由来日本脳炎ワクチンは、理論的に ADEM を含む神経障害の原因となる可能性が指摘されている。しかし報告事例が少数すぎることから関連性の証明も否定も不可能であり、実態は不明である。感染研にある検定試験結果より神経障害発生と関連する品質指標を検索することで、因果関係や有効な対策に関する情報が得られる可能性が考えられる。このためには製造所、ロット番号および出発生事象の情報が必要であるが、現実には国で保有するこうしたデータは公衆衛生の為とはいえ利用することはできず、信頼できる解析は不可能である。そこで現状で可能な解析として、ワクチンロットの純度の指標として年度ごとの平均タンパク量と製造用量数を求めた。この平均タンパク量と ADEM のみあるいは ADEM を含む神経障害発生数の製造用量数に対する割合(発生率)の間の相関分析を行った。その結果、30μg/mL 以上で、蛋白量と ADEM を含む神経障害発生頻度の間に有意な相関がある可能性が示唆された。ロット情報が使えないので詳細な分析は不可能であるが、仮に純度と障害発生に相関があるとすれば、障害発生の見られないレベルに純度規定を設定することで問題が解決する可能性が示された。［豊泉裕美、片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、田中明子、布施晃 (血液･安全性研究部)］

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

我々は昨年、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結果、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を明らかにした。先頃 CDC でも報告された USP のエンドトキシン規格に合致している硫酸ゲンタマイシンによる臨床での発熱について、エンドトキシンの生体内作用に対する増強を疑い、ヒトモノサイト由来２８SC 細胞おける IL-６産生誘導に対する増強作用により評価した。その結果、有意な IL-6 産生増強が確認された。［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、3 種類の環状ペプチドのうち、エンドトキシン活性の中和能は持たないが、ポリミキシン B よりも強いエン

ドトキシン親和性を持つもの１種類を見いだした。このペプチドのエンドトキシン除去や LAL 測定法等への応用の可能性について、さらに検討する予定である。[山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、鈴木政嗣、松本めぐみ、丹羽允(協力研究)、堀内善信]

(3) 血液製剤へのエンドトキシン試験適用に関する研究

血液製剤へエンドトキシン試験の適用が可能であるか検討した。今年度は、カイネティック比濁法及びカイネティック比色法により９種の血液製剤(計 22 ロット)について反応干渉因子の有無を確認した。ほとんどの血液製剤(アンチトロンビン製剤を除く)は、最大でも 8-16 倍以上の希釈をすることで、反応干渉作用の除去が可能であった。一方、アンチトロンビン製剤には、エンドトキシン試験に対する強い反応阻害作用が認められ、希釈によりこの干渉作用を除去するにはかなりの希釈が必要であり、感度の点で問題となると考えられた。[落合雅樹、山本明彦、豊泉裕美、内藤誠之郎(血液・安全性研究部)、浜口功(血液・安全性研究部)、山口一成(血液・安全性研究部)、堀内善信]

(4) 日本薬局方(日局)エンドトキシン 100 標準品 Lot 8, 9 候補品の力価評定

日本公定書協会で日局エンドトキシン 100 標準品(Lot 8, 9)候補品が調製され、標準プロトコールに準じて、日本公定書協会、当研究室他(計 ７機関)で力価共同評定を実施した。WHO エンドトキシン国際標準品を用いて標準化を実施し、エンドトキシン 100 標準品の単位は Lot 8 候補品が 130 EU/vial と評価された。一方、Lot 9 候補品は早期活性低下が認められ品質評価において不適と判断された。[堀内善信、山本明彦、落合雅樹、豊泉裕美、片岡紀代、村井敏美(日本公定書協会)、中川ゆかり(日本公定書協会)]

(5) 日局エンドトキシン 100 標準品 Lot 10, 11 候補品の力価標定

日本公定書協会で日局エンドトキシン 100 標準品(Lot 10, 11)候補品が調製され、標準プロトコールに準じて、日本公定書協会、当研究室他(計 ７機関)で力価共同標定を実施した。WHO エンドトキシン国際標準品を用いて標準化を実施し、エンドトキシン 100 標準品の単位は Lot 10 候補品が 120 EU/vial、Lot 11 候補品が 140 EU/vial と評価された。[堀内善信、山本明彦、落合雅樹、豊泉裕美、片岡紀代、村井敏美(日本公定書協会)、中川ゆかり(日本公定書協会)]

４．百日咳菌に関する研究

(1) パータクチンを欠損する百日咳臨床分離株の解析

パータクチン（Prn）は重要な定着因子であるが、わが国の臨床現場からは Prn を欠損した百日咳菌が分離されている。Prn 欠損株（18 株）について遺伝子解析を実施したところ、欠損原因は、１）シグナル配列の欠失（12 株）、２）IS*481* による遺伝子破壊（6 株）、であることが判明した。さらに、Prn 欠損はワクチン型百日咳菌に特異的な現象であり、1997 年以降その分離率は上昇傾向にあることが示された。[蒲地一成、大塚正之（江東微研）、佐々木裕子、荒川宜親]

(2) LAMP 法を用いた百日咳迅速診断法の構築とその評価

百日咳の迅速診断法として百日咳 LAMP 検出系を構築した。百日咳 LAMP 検出系は百日咳菌に特異的であり、従来の PCR 法（IS*481*-PCR）に比較して高い感度と特異性を持つことが示された。臨床検体（n=112）を用いた評価では IS*481*-PCR と同様な成績が得られ、本法が臨床検体に適用可能であることを確認した。[蒲地一成、豊泉裕美、遠田耕平（WHO）、S.C. Soeung、S. Sarath、Y. Nareth（カンボジア保健省）、堀内善信、小島和暢（WHO）、高橋元秀、荒川宜親]

(3) キノロン低感受性百日咳臨床分離株の遺伝子解析

2004 年、大阪府の病院においてキノロンに低感受性を示す百日咳菌が分離された。キノロン耐性に関与する遺伝子（*gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*）を解析したところ、*gyrA* の QRDR 領域に D87G の遺伝子変異を見出した。現在までキノロン耐性百日咳菌の報告例はなく、世界で初めてキノロン低感受性株の出現を確認した。[大塚正之（江東微研）、蒲地一成、菊池賢（東京女子医）、荒川宜親]

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]

Ⅱ．ボツリヌス関係

1.　実験室内診断に用いる診断用ボツリヌスウマ抗毒素血清が千葉血清の廃業に伴い供給されない状況下、複数の地方衛生研究所、化血研および大阪府立大学の協力を得て A, B, E 及び F 型の４型に対する凍結乾燥血清（約 25 U/vial）を 500 本製造し標準化した。標品の製造に関しては検定検査協議会、レファレンス委員会及び地方衛生研究所全国協議会に報告し、検査用の標準品として用いることを確認した。

Ⅲ．百日咳 LAMP 診断キットに対する共同評価

1. 百日咳レファレンスセンター（7 施設）において、百日咳 LAMP 診断キットの評価を行った。目視による判定精度を検討したところ、すべての施設で一致した判定結果が得られ、本キットの有用性を確認した。［蒲地一成、豊泉裕美、地方衛生研究所（秋田・東京・千葉・三重・愛媛・大阪・福岡)］

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。また、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に関しては、菌株を送付してもらい、耐性パターン、PFGE 解析、MLST や毒素産生性など細菌学的検討を加え、より対象を絞り込んだ対策の手法を検討している。［鈴木里和、山根一和］

2. 集中治療室における院内感染対策、耐性菌対策に関する研究

厚生労働省の院内感染対策サーベイランス事業により収集された全国約 20 施設の集中治療室入室患者のサーベイランスデータを用いて、耐性菌による院内感染が集中治療室入室患者の予後に及ぼす影響等を解析している。［鈴木里和］

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 11 品目の評価が完了し、新規あるいは更新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あるいは更新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4 品目及び 1 品目の評価が完了し、新規あるいは更新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

日本薬局方の一般試験法「抗生物質の微生物学的力価試験法」を実施する上での有用なデータ並びに改良点を提供することを目的に種々検討を行ってきた。その検討結果は、平成 18 年 3 月 31 日告示の第 15 改正日局において、(1)平板培地の調製法追加、(2)試験菌の性状等確認、(3)試験菌液の調製法整理及び保存期間、(4)試験芽胞液の調製法整理及び使用期限の延長規定追加、(5)円筒カンテン平板の調製法追加、(6)円筒平板法及び穿孔平板法の操作法明確化、などの規定改正に反映することができた。また、これら以外の規定改正を含め「抗生物質の微生物学的力価試験法」についての種々の技術的な情報等は、来年度に発行予定の「日本薬局方技術情報（JPTI）2006」において、本研究で得られたデータ等を含めて解説を加えた。［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

平成 14（2002）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。今年度末までに第 14 改正日局抗生物質標準品（全 137 品目収載）は 134 品目が新規及び更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、加藤はる、柴田尚宏、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

今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（塩酸バンコマイシン散：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（硫酸アルベカシン注射液：5 ロット、注射用イミペネム・シラスタチンナトリウム：4 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、第五室、血液・安全性研究部第三室］

6．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）が第三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、承認事項が一部変更された力価試験法（比濁法）の確認を特別審査の再試験として受付けて実施した。全般的な評価として、承認申請書に則った試験方法では、測定力価が申請書の力価規格値を逸脱する場合及び力価計算の変動因の検定が不適合の場合も認められ、その主な原因が標準溶液及び試料溶液の希釈誤差などと考えられる理由により、試験には使用機器及び器具のバリデーションを含め、試験の精度管理及び測定誤差管理に細心の注意を払って行うことを条件として、総合的に「適合」と判定した。［近田俊文、加藤はる、鈴木里和、柴田尚宏、山根一和、南條友子、粕谷裕子、荒川宜親］

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	受付実績	判　定		再試験	取下げ
	件　数	合 格	不合格		
4	56	56	0	0	0
5	55	55	0	0	0
6	42	42	0	0	0
7	52	52	0	0	0
8	135	135	0	0	0
9	127	127	0	0	0
10	50	50	0	0	0
11	40	40	0	0	0
12	41	41	0	0	0
1	50	50	0	0	0
2	47	47	0	0	0
3	41	41	0	0	0
計	736	736	0	0	0

(2)

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）　18 ロット
沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド　5 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　4 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　7 ロット
乾燥ジフテリアウマ抗毒素　1 ロット
ガスえそウマ抗毒素　1 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン　6 ロット

(3)

乾燥 BCG 製剤　40 ロット
内訳
乾燥 BCG ワクチン(最終製品)
80mg　2 ロット
40mg　1 ロット
12mg　12 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用(日本株)(最終製品)　3 ロット
80mg　2 ロット
40mg　1 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用(コンノート株)　5 ロット
乾燥 BCG ワクチン(中間段階)　14 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用(日本株)　3 ロット

精製ツベルクリン　18 ロット
内訳
一般診断用(5μg)　0 ロット
一般診断用(1μg)　1 ロット
一般診断用(一人用)　17 ロット
確認診断用(一人用)　0 ロット

依頼検査

ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン(皮内用 0.5mg) 3 ロット

書類審査
ユニセフ向け乾燥BCGワクチン(皮内用0.5mg) 48ロット

(4)
沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン
18 ロット
血液製剤（エンドトキシン試験） 459 ロット
生物製剤（エンドトキシン試験） 18 ロット
コレラワクチン（マウス体重減少試験） 1 ロット
インフルエンザ HA ワクチン（マウス白血球数減少試験）
76 ロット

2．国家検査（行政検査）の実績
(1) ジフテリア関係
ア）新潟県保健環境科学研究所から、ワクチン接種後の血中ジフテリア抗毒素価分布調査のため、平成 17 年 9 月 30 日と平成 17 年 10 月 21 日に、それぞれヒト血清 33 検体のジフテリア抗毒素価測定依頼を受けた。ワクチン接種後とその約 1 ヶ月後で抗毒素価の上昇がみられなかった検体は、1 検体であったが、全検体の抗毒素価の推移からみると、この 1 検体は、ワクチン未接種を強く疑うことはできなかった。(行政検査　第 57046 号､第 57052 号)

イ）平成 18 年 2 月 3 日付けで、香川県環境保健研究センターから、患者咽頭及び耳孔スワブ合計 4 本と 2 月 1 日採血の血清を受領し、ジフテリア菌の分離同定、並びに分離菌におけるジフテリア毒素の検出と、血中ジフテリア抗毒素価測定依頼を受けた。全てのスワブから、ジフテリア菌は検出されず、ジフテリア毒素原性試験も陰性であった。また､血中ジフテリア抗毒素価は､0.0039 IU/ml 未満であった。(行政検査　第 57074 号)

ウ）平成 17 年 12 月 16 日付けで、岡山県環境保健センターから、分離菌株と患者飼い犬の体毛と患者自宅周辺の土を受領し、菌の分離同定、並びに分離菌におけるジフテリア毒素検出の依頼を受けた。寒天平板培地純培養の菌株は、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* と同定された。患者飼い犬の体毛と、自宅周辺の土からは *Corynebacterium ulcerans* は検出されなかった。(行政検査　第 57076 号)

エ）平成 18 年 1 月 25 日付けで、岡山県環境保健センターから、分離菌株と患者血清およびカルチャーボトル内血液を受領し、ジフテリア菌の分離同定、並びに分離菌におけるジフテリア毒素の検出と、血中ジフテリア抗毒素価測定依頼を受けた。寒天平板培地純培養の菌株は、*Corynebacterium diphtheriae* gravis 型と同定された。この菌株とカルチャーボトル内血液のジフテリア毒素原性試験は全て陰性であった。また、血中ジフテリア抗毒素価は、0.0328 IU/ml および 0.0464 IU/ml であった。(行政検査　第 57081 号)

(2) 破傷風関係
ア）平成 17 年 12 月 6 日付けで茨城西南医療センターより、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。試験の結果、血清中の破傷風抗体価は検出レベル(0.05 単位／mL)未満であったが、血清中からは微量の破傷風毒素を検出した。(行政検査)

イ）平成 17 年 10 月 13 日付けで苫小牧市立病院より、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。試験の結果、血清中の破傷風抗体価は検出レベル(0.05 単位／mL)未満であったが、血清中からは微量の破傷風毒素を検出した。(行政検査)

(3) ボツリヌス関係
ア）平成 17 年 7 月 25 日付けで岡崎市衛生研究所より、臨床検体からのボツリヌス菌の分離・同定試験とボツリヌス毒素の検出試験の依頼を受けた。試験の結果、浣腸回収液よりボツリヌス菌を分離し、糞便からボツリヌス A 型毒素を検出した。(行政検査)

3．収去検査の実績
(1) 抗生物質医薬品
経口剤（塩酸バンコマイシン散） 1 ロット
注射剤（硫酸アルベカシン注射液） 5 ロット
注射剤（注射用イミペネム・シラスタチンナトリウム）
4 ロット
(2) 抗生物質（エンドトキシン試験） 9 ロット

4．特別審査の実績
(1) 注射用シナシッドの力価試験（再試験） 1 ロット

(2)
細胞培養日本脳炎ワクチン（エンドトキシン試験）
1 ロット
肺炎球菌ワクチン（原末、小分）（エンドトキシン試験）

3 ロット

(3)

細胞培養日本脳炎ワクチン（無菌試験） 2 ロット
肺炎球菌ワクチン（原末）（微生物限度試験） 1 ロット
肺炎球菌ワクチン（小分）（無菌試験） 2 ロット

5.標準品、参照品等の作成状況（交付、分与の実績）
交付実績

(1)

日本薬局方抗生物質標準品	87 品目	計 732 本
抗生物質試験用菌株	1 品目	計 1 本

(2)

標準沈降ジフテリアトキソイド	41 本
参照沈降ジフテリアトキソイド（混合ワクチン）	137 本
標準ジフテリア抗毒素	21 本
参照ジフテリア抗毒素（フロキュラシオン用）	14 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（モルモット試験用）	2 本
シック試験毒素（動物用）	11 本
ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）	27 本
標準破傷風トキソイド	8 本
標準沈降破傷風トキソイド	52 本
参照沈降破傷風トキソイド（混合ワクチン用）	73 本
標準破傷風抗毒素	9 本
標準抗破傷風人免疫グロブリン	3 本
参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）	15 本
破傷風試験毒素	15 本
標準まむし抗毒素	9 本
まむし試験毒素（出血）	13 本
まむし試験毒素（致死）	13 本
標準ボツリヌス A 型抗毒素	5 本
標準ボツリヌス B 型抗毒素	2 本
標準ボツリヌス E 型抗毒素	2 本
標準ボツリヌス F 型抗毒素	3 本

(3)

標準精製ツベルクリン
50 本
BCG Tokyo172-1 26 本

(4)

参照百日せきワクチン（毒性試験用）	256 本
標準百日せきワクチン	31 本
インフルエンザ HA ワクチン（マウス白血球数減少試験用参照品）	3 箱

6. 依頼試験等

(1) ジフテリア関係

平成 18 年 3 月 1 日付けで、大分大学医学部付属病院から分離菌株 1 本について検査依頼を受けた。受理した菌株は、ジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* と同定された。（依頼検査）

(2) 破傷風関係

ア）平成 17 年 8 月 8 日付けで茨城県衛生研究所より、臨床分離菌の破傷風毒素産生試験の依頼を受けた。依頼菌は染色試験。破傷風毒素検出試験、破傷風毒素遺伝子検出試験(PCR 法)、及び 16SrRNA の塩基配列比較試験の結果、破傷風菌と確認できなかった。（共同研究）

イ）平成 17 年 12 月 20 日付けで富山県衛生研究所より、破傷風菌が疑われる臨床分離菌の培養濾液からの破傷風毒素の検出試験の依頼を受けた。マウスを用いた破傷風毒素検出試験の結果、濾液から破傷風毒素を検出した。（共同研究）

ウ）平成 17 年 11 月 15 日付けで同心会遠山病院より、破傷風回復患者の血清中の破傷風抗体の検出試験の依頼を受けた。試験の結果、血清中の破傷風抗体価は 0.64 単位／mL であった。（共同研究）

国際協力関係業務

Ⅰ．第３室

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、国内ワクチンの品質管理に関する講義をおこなった（平成 17 年 11 月）。[高橋元秀、堀内善信、佐々木次雄]

２．JICA の依頼により、ワクチン品質管3 技術コース参加研修生（海外４名）にワクチンの品質管理について講義した（平成 17 年 11 月）。[高橋元秀、堀内善信、佐々木次雄、荒川宜親]

３．中国華東区および西北区の CDC 担当者が参加する免疫予防計画会議に招聘され、日本のワクチン品質管理方法について講演した（平成 17 年 7 月）。[高橋元秀、佐々木次雄]

４．台湾衛生署疾病管理局の Chen, Kuang-Lo 研究員および行政院衛生署薬物食品検験局 Cheng-wen Chi 研究員が来所し、ボツリヌスおよび破傷風毒素・抗毒素の品質管理の技術支援をおこなった（平成 17 年 9 月-11 月）。[高

橋元秀、岩城正昭]

５．中国生物技術集団公司　武漢生物製品研究所の招聘により、DTaP ワクチンの品質管理および国内使用状況について講演した（平成 17 年 11 月)。[高橋元秀、堀内善信]

６．JICA の要請によりパキスタン EPI・ポリオ対策プロジェクト事前評価調査団員として､平成 18 年 3 月に出張した（平成 18 年 3 月)。[高橋元秀、堀内善信]

Ⅱ.第５室

研修

１．台湾 CDC の研修生(Dr. Shu-Man Yao & Shiu-Ru Kang)に対し、百日咳の診断・遺伝子解析について実習を行った（平成 17 年 10 月）［蒲地一成、豊泉裕美］

2. 台湾 NHRI Dr. Hau-Pong Tsai 来訪、ワクチンの品質管理について講習

3. 台湾　BFDA　Dr. Chang Wen Chi

DPT 関係の品質管理システム、試験法および副反応情報の評価に関する問題の検討および台湾における DPT 副反応評価のための実験室モデル開発の検討の為の情報交換。

疫学および実験室診断への支援

１．カンボジアで発生した百日咳患者の実験室内診断

カンボジア国内で発生した百日咳患者 147 名（254 検体）について実験室内診断の協力を行った。菌培養検査では 7 件、遺伝子検査では 51 件が陽性を示し、成績をカンボジア保健省ならびに WHO-EPI 担当官に報告した。［豊泉裕美、蒲地一成］

技術支援

1. ベトナムに対する百日咳ワクチン力価試験法の技術支援

ベトナム CENCOBI を訪問し、百日咳ワクチンの力価試験法である脳内攻撃法について技術支援を行った（平成 17 年 9 月）［蒲地一成、高橋元秀］

WHO 関係

会議参加

Arakawa Y., Expert Committee on Biological Standerdization. 24 - 28 October 2005, WHO, QSV, Geneva

Horiuchi, Y., 標準品の安定性評価ガイドライン作製のための非公式諮問会議、28 - 29 November 2005, WHO, HQ, Geneva

Horiuchi, Y. and Ochiai, M.　精製百日せきワクチンの標準化と品質管理のための非公式諮問会議, March 16 – 17, 2006, The Quality Hotel St. Albans, UK

Collaborating centre 関係

WHO Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products として活動を協力センター年報で報告

研修業務

Ⅰ．第１室

1．*Clostridium difficile* に関する実技研修

Clostridium difficile 分離培養および PCR による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、赤羽貴行（安曇野赤十字病院)、村端真由美（名古屋市大看護学部)］

2．薬剤耐性菌の検出に関する研修

薬剤耐性菌の検出を目的として、所外から実習生及び研究生を受け入れた。研修内容は、主に β-ラクタマーゼ産生菌（基質特異性拡張型およびメタロ-β-ラクタマーゼ）の鑑別のための、PCR による耐性遺伝子の検出、ディスク拡散法による鑑別、パルスフィールド電気泳動によるタイピングなど行った。臨床現場での薬剤耐性菌の検出に役立つものと期待される。［柴田尚宏、荒川宜親］

Ⅱ．第３室

１．第 26 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、17 年度の活動報告をした（富山市：平成 17 年 7 月 7-8 日）

その他

Ⅰ．行政科学に対する対応

1．日本薬局方に関する活動

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．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）の試験法等についての照会に対して E-mail 等による書面での回答を行った。［近田俊文］

3. 第十五改正日本薬局方参考情報に新規収載された「製薬用水の品質管理」の作成作業並びに関連事項として膜法で製薬用水を製造している国内製薬企業への調査に参加した。微生物関連試験としては、国際調和された非無菌医薬品に対する試験法（生菌数試験、特定微生物否定試験、許容微生物基準）の日局導入や微生物の迅速検出法の審議に参加した。[佐々木次雄、他日局調査会「生物試験法委員会」、「製薬用水委員会」]

4．ISO/TC198 活動

ISO/TC198（ヘルスケア製品の滅菌）/WG9（無菌操作法）で作成中であったろ過滅菌、定置洗浄、定置滅菌、アイソレータ、凍結乾燥は国際規格（ISO）又は国際規格最終段階（FDIS）にあり、今年度は Part 1 (Generals) の改定作業に従事した。ISO 規格は 5 年ごとに見直すことになっており、その一環での改定作業である。ICH/Q9 で作成中のリスクマネジメントの考え方が汚染管理に取り入れられているのが前版と比べての特徴である。
[佐々木次雄、他 ISO/TC198/WG9 国際委員会]

5．無菌医薬品ガイドライン作成

「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を完成させ、その英訳版を欧米の関係機関、関係者に広く送付した。今年度は、「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針（案）」の作成を行った。[佐々木次雄、佐々木裕子、他指針作成委員会]

6．独立行政法人医薬品医療機器総合機構の依頼で平成 17 年 7 月に 1 回、平成 18 年 3 月に 2 回、GMP 査察同行し、また生物学的製剤の認可承認に関する書面審査を実施した。[高橋元秀]

7. 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が 4 回開催され出席した。[高橋元秀]

Ⅱ．感染症についての対応

1．*Clostridium difficile* 感染症についての対応

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(Apr.2005 - Mar. 2006)

1) Kato H., Yokoyama T., Kato H. and Arakawa Y. Rapid and simple method for detecting the toxin B gene of *Clostridium difficile* in stool specimens by loop-mediated isothermal amplification. *J. Clin. Microbiol.*, **43**: 6108-12, 2005.

2) Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Shibata N, Kimura K, Ike Y, Arakawa Y. Horizontal transfer of bla_{CMY}-bearing plasmids among clinical Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates and emergence of cefepime-hydrolyzing CMY-19. *Antimicrob. Agents Chemother*. **50**:534-41, 2006.

3) Wachino J, Yamane K, Shibayama K, Kurokawa H, Shibata N, Suzuki S, Doi Y, Kimura K, Ike Y, Arakawa Y. Novel plasmid-mediated 16S rRNA methylase, RmtC, found in a proteus mirabilis isolate demonstrating extraordinary high-level resistance against various aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother*. **50**:178-184, 2006.

4) Muta, T., Tsuruta N., Seki Y., Ota R., Suzuki S., Shibata N., Kato K., Eto T., Gondo H. and Arakawa Y. A Nosocomial Outbreak Due to novel CTX-M-2-Producing Strains of *Citrobacter koseri* in a Hematological Ward. *Jpn. J. Infect. Dis*., **59**: 69-71, 2006.

5) Shibata, N., Kurokawa H., Doi Y., Yagi T., Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Kimura K., Ishikawa S., Kato H., Ozawa Y., Shibayama K., Kai K., Konda T. and Arakawa Y. PCR Classification of CTX-M-Type b-Lactamase Genes Identified in Clinically Isolated Gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**: 791-795, 2006.

6) Suzuki S., Yamazaki T., Narita M., Okazaki N., Suzuki I., Andoh T., Matsuoka M., Kenri T., Arakawa Y. and Sasaki T. Clinical evaluation of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae. Antimicrob. Agents Chemother.*, 50: 709-12, 2006.

7) Sasaki Y., Chapter10 Mycoplasmas, in Bacterial Genomes and Infectious Diseases, V. L. Chan, P. M. Sherman and B. Bourke, eds. The Humana Press Inc., NJ, USA, pp. 175-190, 2006.

8) Seki N., Sasaki T., Sawabe T., Sasaki T., Matsuoka M., Arakawa Y., Marui E. and Kobayashi M. Epidemiological studies on *Bartonella quintana* infections among homeless people in Tokyo, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis*. **59**: 31-35, 2006.

9) Fukuda T.,Iwaki M., Hong S. H., Oh H. J., Wei Z.,

Morokuma K., Ohkuma K., Dianliang L., Arakawa Y., and Takahashi M : Standardization of regional reference for mamushi (*Gloydius blomhoffii*) antivenom in Japan, Korea, and China. *Jpn. J. Infect. Dis.* **59**: 20-24, 2006

10） Saidijam, K. Bettaney, G. Szakonyi, G. Psakis, K. Shibayama, et al.: Active membrane transport and receptor proteins from bacteria. *Biochem. Soc. Trans*. **33**:867-72, 2005.

11) S. Mori, S. Kawai, F. Shi, B. Mikami, and K. Murata Molecular conversion of NAD kinase to NADH kinase through single amino acid residue substitution. *J. Biol. Chem.* **280**, 24104-24112, 2005.

12) F. Shi, S. Kawai, S. Mori, and K. Murata. Identification of ATP-NADH kinase isozymes and their contribution to supply of NADP(H) in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS J.* **272**, 3337-3349, 2005.

13) S. Kawai, T. Mukai, S. Mori, B. Mikami, and K. Murata. Hypothesis: structures, evolution, and ancestor of glucokinase in the hexokinase family. *J. Biosci. Bioeng.* **99**, 320-330, 2005.

14) Kurosaki H, Yamaguchi Y, Higashi T, Soga K, Matsueda S, Yumoto H, Misumi S, Yamagata Y, Arakawa Y, Goto M. Irreversible inhibition of metallo-b-lactamase (IMP-1) by 3-(3-mercapto-propionylsulfanyl) propionic acid pentafluorophenyl ester. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. **44**:3861-3864, 2005.

15) Yamaguchi Y, Kuroki T, Yasuzawa H, Higashi T, Jin W, Kawanami A, Yamagata Y, Arakawa Y, Goto M, Kurosaki H. Probing the role of Asp-120(81) of metallo-b-lactamase (IMP-1) by site-directed mutagenesis, kinetic studies, and X-ray crystallography. *J. Biol. Chem.* **280**:20824-20832, 2005.

16) Yamane K, Wachino J, Doi Y, Kurokawa H, Arakawa Y. Global spread of multiple aminoglycoside resistance genes. *Emerg. Infect. Dis*. **11**:951-953, 2005.

17) Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Arakawa Y. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C b-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli. *J. Clin. Microbiol*. **43**:2551-2558, 2005.

2. 和文発表

1) 山根一和、荒川宜親：アミノ配糖体耐性．化学療法の領域，21(9): 1255-1263, 2005.

2) 加藤秀章、西 祐二、大山 展、中村 誠、泉田さゆり、橋本政治、加藤はる：再発を繰り返した *Clostridium difficile* 関連下痢症の1例 ―分離菌株のPCR リボタイピングによる検討―．日消誌，103: 168-173, 2006.

3) 近田俊文（分担執筆）：陸水の事典, 日本陸水学会編, 講談社，2006.

4）佐々木次雄編、新太喜治、上寺祐之、武久正昭、永井勲、中田精三、山際裕一監、ISO 規格に準拠医療機器の滅菌及び滅菌保証、2005、日本規格協会、p.1-579.

5）佐々木裕子、新開・大内史子、川上隆雄、見理　剛、堀野敦子、山河芳夫、荒川宜親、佐々木次雄：*Mycoplasma penetrans* のプロテオミクス．日本マイコプラズマ学会雑誌、第 32 号、47-49、2005

6）見理　剛、山崎　勉、岡崎則男、成田光生、佐々木次雄、マイコプラズマ肺炎患者の血清に見られる菌型特異的な血球吸着阻害活性、日本マイコプラズマ学会雑誌、第 32 号　10-12,2005

7）見理　剛,「マイコプラズマ属」,感染と抗菌薬、8(4), 334-336,　2005

8) 佐々木次雄：日本版「無菌医薬品製造ガイドライン」について、PHARM TECH JAPAN, 21 (7):7-11, 2005.

9) 佐々木次雄、Emmanuelle Charton、棚元憲一、那須正夫、村井敏美、室井哲夫、日本薬局方及びＥＰにおける微生物試験法の動向、PHARM TECH JAPAN 22: 9-16, 2006.

10) 佐々木次雄編：ISO 規格準拠医療機器の滅菌及び滅菌保証、日本規格協会、p.1-579, 2005.

11) 佐々木次雄：日本版無菌医薬品の製造ガイドラインの紹介、クリーンテクノロジー、3-5, 2006

12) 柴山恵吾、荒川宜親、*H. pylori* 感染胃上皮細胞におけるアポトーシス
日本臨床　Vol. 63, Suppl 11, 156-160, 2005 (11 月)

13) 柴山恵吾、荒川宜親、*Helicobacter pylori* おけるアモキシシリン耐性について、日本ヘリコバクター学会誌 7(1):33-36, 2005 (6 月)

14) 蒲地一成：百日咳菌　広範囲血液・尿化学検査・免疫学的検査、p180-183、63 巻増刊号 7、日本臨牀．2005.7

15) 黒木春郎、三上秀男、蒲地一成、荒川宜親：小児一次医療における百日咳菌分離例の検討. 外来小児科、9(1): 17-23, 2005

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1) Kato H.: Direct typing of *Clostridium difficile* from stool specimens by sequencing of the *slpA* gene. 105th General

Meeting of American Society for Microbiology. June 2005, Atlanta, USA.

2) Shibata N.: Present situation of beta-lactamases identified in Japan. 8th Japan-Korea International Symposium on Microbiology (8th JKISM), 2006.

3) Shibata N., Yamane K., Suzuki S., Wachino J. and Arakawa Y.: First Occurrence of Both CTX-M-35 and IMP-1 β-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. 46th ICAAC, Dec. 2005, USA.

4) Yamane K., Suzuki S., Wachino J., Ozawa Y., Shibata N and Arakawa Y.: First Isolation and Characterization of Linezolid Resistant *Enterococcus faecium* in Japan. 105th General Meeting of American Society for Microbiology. June 2005, Atlanta, USA.

5) Yamane K., Suzuki S., Wachino J., Shibata N., Kato H. and Arakawa Y.: Diffuse but Multiforcal Proliferations of 16S rRNA Methylase-Producing Pan-Aminoglycoside Resistant Gram-Negative Bacteria in Japan. 45th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Dec. 2005,Washington DC, USA

6) Suzuki S., Shibata N., Yamane K., Wachino J., Ito K. and Arakawa Y.: Clonal Spread of CTX-M-Type β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Japan. 105th General Meeting of American Society for Microbiology. June 2005, Atlanta, USA.

7) Kawakami, T., and Sasaki, Y. Validation of proteomics data from liquid chromatography/tandem mass spectrometry using probability score-based elution correlation of peptide assignments. The 4th annual world congress of human proteomics organization (HUPO). Aug. 28-Sep.1, 2005, Munich, Germany

8)Sasaki T. and Takahashi M. Vaccines in Japan. Meeting on National Vaccine Immunization Program in North Western Area of China, July 31-Aug. 2, 2005, Heilaer, China.

9) Iwaki, M., Nagata, N., Saegusa, T., Inomata, Y., Komiya, T. and Takahashi, M. Intradermal infection model for nontoxigenic *Corynebacterium diphtheriae*. *12th European Meeting on Bacterial Protein Toxins, June 2005, Canterbury* (United Kingdom)

10) Iwaki, M., Nagata, N., Aaegusa, T., Inomata, Y., Komiya, T., Arakawa, Y. and Takahashi, M. A mouse intradermal model for *Corynebacterium diphtheriae* infection. 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity. September 2005, Hyogo (Japan)

11) Ochiai, M. Evaluation of QC tests data and calibration data of candidate reference standard by using the statistical program, Bioassay assist. Workshop on preparation and standardization of national standard materials for quality control of biological products, Bureau of Food and Drug Analysis, Department of Health, Executive Yuan, R.O.C., June 23, 2005, Taipei, Taiwan

12) Horiuchi Y., Clinical relevance of laboratory tests and its impact on the control system of biological products, at Chung-Hwa children hospital, and at Bureau of Food and Drug Analysis, Department of Health, Executive Yuan, R.O.C., June 23, 2005, Taipei, Taiwan

13) Horiuchi Y., Vaccinology and Japanese experience in DTaP vaccination at Wuhan Institute of Biological Products Wuhan,Hubei 430060 P.R.China November 2, 2005.

2. 国内学会

1) 加藤はる：教育講演；*Clostridium difficile* 関連下痢症／腸炎およびその院内感染の細菌学的検査解析．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．

2) 中村敦、岡本典子、矢野久子、神森恵美子、近藤優子、岡本幸夫、溝上雅史、上田龍三、加藤はる：*Clostridium difficile* 関連下痢症患者に対する原因調査と対策．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．

3) 本田芳宏、小林隆夫、小野寺朋子、千葉潤一、國島広之、加藤はる、目黒美保：呼吸器内科病棟でのクロストリディウムディフィシル *C. difficile* 関連腸炎の検討．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．

4) 中村敦、加藤宗博、加藤高志、沓名健雄、丹羽俊朗、森田博紀、加藤はる：*Clostridium difficile* 関連下痢症患者における臨床背景に関する検討. 第 53 回日本化学療法学会総会、2005 年 5 月．

5) 加藤はる、荒川宜親、横山敏之、加藤秀章：Loop-mediated isothermal amplification 法を用いた糞便検体からの *Clostridium difficile* の toxin B 遺伝子の検出．第 48 回日本感染症学会中部日本地方会総会、2005 年 11 月．

6) 加藤はる、荒川宜親：Loop-mediated isothermal amplification による迅速・簡便な *Clostridium difficile* の toxin B 遺伝子の検出．第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月．

7) 加藤はる：シンポジウム；*Clostridium difficile* 腸炎の臨床と検査 — *Clostridium difficile* の臨床細菌学的検討．第 36 回日本嫌気性菌感染症研究会、2006 年 3 月．

8) 加藤はる：院内感染と日和見感染．化学・生物総合管理の再教育講座、生物総合評価管理学概論、2005 年 4 月．

9) 加藤はる：抗菌薬関連下痢症／腸炎と院内感染と院内

感染～クロストリディウム・ディフィシル感染症について～．第 14 回滋賀院内感染対策懇話会、2005 年 8 月．
10) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症における最近の話題．ラジオ NIKKEI、アボット感染症アワー、2006 年 3 月．
11) 和知野純一、黒川博史、山根一和、柴田尚宏、鈴木里和、池康嘉、荒川宜親：セフェピムを分解する CMY 型 AmpCβ-ラクタマーゼの解析．第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月．
12) 山根一和、和知野純一、鈴木里和、柴田尚宏、加藤はる、荒川宜親：同一の医療施設から分離されたアミノグリコシド高度耐性 16S rRNA メチラーゼ産生菌の解析．第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月．
13) 柴田尚宏、鈴木里和、山根一和、荒川宜親：我が国における CTX-M-型 β-の分布調査．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．
14) 柴田尚宏、荒井由美子、江川雅巳、鈴木里和、山根一和、荒川宜親：我が国で初めて検出された CMY-8 型 β-ラクタマーゼ産生大腸菌の検出症例．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．
15) 小島禎、池戸正成、柴田尚宏、荒川宜親：メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子の LAMP 法による迅速・簡易検出の検討．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．
16) 小原忠博、上岡恵美、重河京子、小勝負恭子、麻奥英毅、岩戸康治、許秦一、有田健一、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患者（17 例 18 株）の患者背景．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．
17) 牟田毅、鶴田伸子、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親：複数例の血液疾患患者から検出された、セフェム耐性 *Citrobacter koseri* の耐性機序及び院内感染の調査．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．
18) 柴田尚宏、和知野純一、鈴木里和、山根一和、荒川宜親：国内臨床分離株から検出された新型メタロ-β-ラクタマーゼ、IMP-19 と IMP-20．第 53 回日本化学療法学会総会、2005 年 5 月．
19) 伊東ひろ子、森慎一郎、小野剛司、樋口晶子、蔵野信彦、飛田卓也、宮原行雄、加藤抱一、柴田尚宏、山根一和、荒川宜親：造血幹細胞移植病棟より検出された多剤耐性緑膿菌の３症例．第 59 回国立病院総合医学会、2005 年 10 月．
20) 柴田尚宏：我が国における ESBL 産生菌とメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌．第１回岩手薬剤耐性菌研究会、2005 年 12 月．
21) 山根一和、鈴木里和、柴田尚宏、加藤はる、荒川宜親：臨床から分離された *Enterococcus faecium* のリネゾリド耐性機序の検討．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．
22) 藤原弘光、太田博美、田仲祐子、山脇範子、千酌浩樹、齋藤源顕、前田直人、齋藤憲輝、清水英治、谷本綾子、岡崎俊朗、鈴木里和、荒川宜親：VRE（バンコマイシン耐性腸球菌）院内感染報告．第 21 回環境感染学会、2006 年 2 月．
23) 山脇範子、藤原弘光、齋藤憲輝、前田直人、千酌浩樹、大草智子、早川幸子、齋藤源顕、清水英治、岡崎俊朗、鈴木里和、荒川宜親：VRE アウトブレイクにおける ICN・感染制御チームの役割と活動．第 21 回環境感染学会、2006 年 2 月．
24) 鈴木里和、久保田眞由美、岡崎則男、見理剛、山崎勉、成田光生、荒川宜親、佐々木次雄：*Mycoplasma pneumoniae* 感染症にマクロライド耐性が及ぼす影響．薬剤耐性菌研究会、2005 年 12 月．
25) 鈴木里和、久保田眞由美、岡崎則男、見理剛、山崎勉、成田光生、荒川宜親、佐々木次雄：マクロライド耐性が *Mycoplasma pneumoniae* 感染症の臨床経過に及ぼす影響．第 32 回日本マイコプラズマ学会学術集会、2005 年 5 月．
26) 鈴木里和、大屋日登美、岡崎則男、山崎勉、成田光生、荒川宜親、佐々木次雄：*Mycoplasma pneumoniae* 感染症におけるマクロライド系抗菌薬の治療効果,マクロライド耐性菌と感性菌との比較．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．
27) 高橋真帆、大屋貴美子、杉山裕、堀永みさ子、鈴木里和、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について．第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月．
28) 伊東ひろ子、樋口晶子、小野剛司、柴田尚宏、荒川宜親：血液培養から *Tsukamurella* 属を分離した１症例．第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月．
29) 西尾小夜子、後藤康仁、大蔵照子、中西由起子、望月まり子、奈田俊、柴田尚宏、荒川宜親、馬場尚志：旅行者下痢症の起炎菌として ESBL を産生する病原大腸菌が分離された２症例．第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月．
30) 本間操、水野裕之、根岸久美子、中島重彦、鈴木智一、設楽美典、柴田尚宏、荒川宜親：急性骨髄性白血病患者から検出された ESBL 産生 *Enterobacter cloacae* の検討．第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月．
31) 畑中公基、吉田順子、鈴木弘子、齋藤武郎、後藤健、三田正行、柴田尚宏、荒川宜親：第三世代セファロスポ

リン耐性の β-ラクタマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae*. 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月.

32) 本間康夫、吉井裕子、柴田尚宏、荒川宜親：在宅医療患者から検出された TEM-型 ESBL 産生 *Providencia stuartii* の検討. 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月.

33) 飯田眞佐栄、柴田尚宏、荒川宜親：Walk-Away Neg Breakpoint Combo 3J パネルによる ESBL 産生株スクリーニングの検討. 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月.

34) 林卓司、竹内千智、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の検出状況. 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月.

35) 小杉貴久、柴田尚宏、荒川宜親：青森県で初めて検出された IMP-1 型 MBL 産生の多剤耐性緑膿菌と背景. 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月.

36) 大貫雅子、岡田真実、春藤ひろみ、森川征彦、柴田尚宏、荒川宜親：小児から検出されたおけるメタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Pseudomonas aeruginosa* の２症例. 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月.

37) 小林治、柴田尚宏、荒川宜親：プラスミド性 Class C β-ラクタマーゼ（CMY-2）産生大腸菌の一例. 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月.

38) 高橋幹夫、柴田尚宏、荒川宜親：VIM-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ（MBL）産生 *Pseudomonas aeruginosa* の院内感染事例の検討. 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月.

39) 佐々木裕子、見理　剛、堀野敦子、荒川宜親、佐々木次雄、2D-HPLC LC-MS による *Mycoplasma penetrans* のリポ蛋白発現ならびに pyruvate 代謝の解析、第 79 回日本細菌学会、2006 年 3 月 29 日-31 日、金沢

40) 佐々木裕子、大内・新開史子、山河芳夫、川上隆雄、荒川宜親、マイコプラズマとヒトの抗原 mimicry についてのプロテオミクス解析の試み、第８回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンテイア」、2006 年３月 3 日-4 日、千葉

41) 川上 隆雄、佐々木 裕子、確率スコアに基づく溶出相関法：液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析から得られるプロテオームデータの評価、日本分子生物学会、2005 年 12 月 7-10 日、福岡

42) 佐々木裕子、新開・大内史子、川上隆雄、見理　剛、堀野敦子、山河芳夫、佐々木次雄、*Mycoplasma penetrans* のプロテオミクス、日本マイコプラズマ学会、第 32 回学術集会、2005 年 5 月 27-28 日、久留米

43) 佐々木裕子、見理　剛、堀野敦子、佐々木次雄、プロテオミクス技術を用いた *Mycoplasma penetrans* の新規抗原蛋白の同定ならびに診断法への応用、第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月、東京

44) 堀野敦子、見理　剛、佐々木裕子、岡村　登、佐々木次雄、*Mycoplasma penetrans* の部位特異的組換え酵素 MipR の同定、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月 4-6 日、東京

45) 見理　剛、瀬戸真太郎、宮田真人、佐々木次雄、*Mycoplasma pneumoniae* の細胞骨格成分 P200 の細胞内局在、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月 4-6 日、東京

46) 堀野敦子、　見理　剛、佐々木裕子、岡村　登、佐々木次雄、*Mycoplasma penetrans* の部位特異的組換え酵素 MipR の同定、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月 4-6 日、東京

47) 見理　剛、山崎　勉、岡崎則男、成田光生、佐々木次雄、「マイコプラズマ肺炎患者の血清に見られる菌型特異的な血球吸着阻害活性」、第 32 回日本マイコプラズマ学会学術集会、2005 年 5 月 27-28 日、久留米

48) 見理　剛、蛍光タンパク質タグ法による *Mycoplasma pneumoniae* の細胞構造観察、日本顕微鏡学会関西支部特別講演会「ソフトマテリアルの無染色観察−見えないものを観る」平成 17 年度生理学研究所研究会共催（岡崎市）、2006 年、1 月 26-27 日

49) 見理　剛、岡崎則男、荒川宜親、佐々木次雄、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、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 3 月 29-31 日、金沢

50) 佐々木次雄：パラメトリックリリースの現状と将来、第 42 回薬剤学懇談会研究討論会、2005 年 6 月 30 日、大津市

51) 山崎勉、佐々木次雄：*Mycoplasma pneumoniae* 感染症における PCR と血清診断法の評価、第 32 回日本マイコプラズマ学会、2005 年 5 月 27-28 日、久留米市

52) 佐々木次雄、久保田眞由美、荒川宜親：*Bartonella quintana* 感染症の疫学調査結果と診断法の検討、第 78 回日本細菌学会、2005 年 4 月 4-6 日、江戸川区

53) 岩城正昭、猪股夢乃、小宮貴子、高橋元秀. ジフテリア菌 20kDa antigen の菌体内局在性。第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

54) 小宮貴子、瀬戸幸路、岩城正昭、福田靖、小崎俊司、高橋元秀. 国内で分離された *Corynebacterium ulcerans* の産生する毒素について。第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

55) 福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、高橋 元秀. 破傷

風毒素構造遺伝子の塩基配列の比較。第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

56) 岩城正昭、堀内善信、小宮貴子、福田靖、荒川宜親、高橋元秀. レーザー粒径測定型血小板凝集計を用いたフロキュラシオンアッセイ系の構築。第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

57) 福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、荒川 宜親、高橋 元秀. ヘモフィルスインフルエンザ B 型菌ワクチンに含まれる破傷風トキソイドの免疫原性の検討。第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

58) 福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、荒川 宜親、高橋 元秀：モンゴル国の土壌より分離された破傷風菌の毒力に関する検討、第 79 回日本細菌学会総会　平成 18 年 3 月金沢市

59) 柴山恵吾、鈴木里和、和知野純一、荒川宜親
ヘリコバクターピロリの□-glutamyl transpeptidase の発現、精製、生化学的解析,、第 78 日本細菌学会総会、東京、4 月 3-6 日、2005 年

60) 森　茂太郎、河井重幸、史　峰、三上文三、村田幸作、立体構造情報に基づく NAD キナーゼから NADH キナーゼへの機能変換、日本農芸化学会関西支部例会・2005 年 6 月

61) 落合雅樹、片岡紀代、山本明彦、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、堀内善信、沈降精製 DPT ワクチン中のエンドトキシン活性について、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

62) 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：ヒト末梢血と相同のエンドトキシン反応性を有する培養細胞による in vitro 安全性管理試験法、第７8 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

63) 内藤誠之郎、今井順一、加藤博史、河村未佳、浜口功、水上拓郎、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、DNA マイクロアレイを応用したワクチンの新しい安全性評価法の開発、第 32 回日本トキシコロジー学会学術年会、2005 年 7 月、東京

64) 蒲地一成、岡田賢司、堀川和美、村上光一、豊泉裕美、落合雅樹、山本明彦、片岡紀代、堀内善信、荒川宜親：百日咳 outbreak から分離された百日咳菌の抗原遺伝子解析. 第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

65) 黒木春郎、三上秀男、蒲地一成、荒川宜親：百日咳菌分離例の検討. 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月、名古屋

66) 中野貴司、庵原俊昭、神谷齊、岩出義人、山内昭則、杉山明、大塚正之、菊池賢、岡田賢司、蒲地一成、荒川宜親：百日咳の家族内伝播に関する検討. 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月、名古屋

67) 蒲地一成、大塚正之、菊池賢、堀内善信、荒川宜親：我が国における百日咳抗原変異株の発生動向について. 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月、名古屋

68) 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、沈降精製 DPT および DPT-IPV ワクチンの安全性、第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

69) 堀内善信、豊泉裕美、片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、蒲地一成、高橋元秀、多屋馨子、佐藤弘、岡部信彦、荒川宜親、倉田毅、ワクチンの安全性・有効性と評価システム、第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

70) 浜口功、今井順一、加藤博史、河村未佳、内藤誠之郎、水上拓郎、前山順一、益見厚子、笠井道之、百瀬暖佳、倉光球、望月雅代、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成、包括的遺伝子発現解析による、百日せきワクチンの新しい安全性評価法の開発、第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

71) 松本めぐみ、小見宏幸、根岸孝至、小林久敏、山本明彦、落合雅樹、高木尚、丹羽允、堀内善信、鈴木政嗣、ファージディスプレイ法によって得られた新規 LPS 結合ペプチドとその応用可能性、第 11 回日本エンドトキシン研究会、2005 年 11 月、東京

72) 落合雅樹、エンドトキシン試験、日局シンポジウム製薬現場における微生物管理手法：最近の話題、2005 年 11 月、東京

特　許

発明の名称：LAMP 法を用いたジフテリア毒素遺伝子検出方法およびこの方法に用いるプライマーセット
発明者：岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親（HS 財団に委託）
出願中（国内および PCT 出願）
国内出願番号：特願 2006- 54058（2006 年 2 月 28 日出願）

6．寄 生 動 物 部

部 長　遠 藤 卓 郎

概　要

本年度の人事異動では 7 月 1 日付けで大前比呂思が第三室の室長として筑波大学から就任した。これにより、寄生動物部の定数 10 名が満たされ､臨時職員ならびに多数の客員研究員、協力研究員の協力を得て研究業務に当たっている。

当該部においては、ミクロスポリジア、クリプトスポリジウム、ジアルジア、ネグレリアなどの病原性アメーバ､マラリア､赤痢アメーバ､エキノコックス､肺吸虫、住血吸虫、アライグマ回虫、アニサキス、広東住血線虫などに関する疫学調査、分子疫学的解析、検査･診断、予測、予防等々に関する広範な研究が行われている。

第一室においては、欧米諸国で免疫不全患者を中心として罹患者が多いミクロスポリジアに関する疫学ならびに抗原分析を含めた検査･診断法の開発など基盤整備が行われている。クリプトスポリジウム等の腸管寄生性原虫類に関する研究は主として水道を含む水系感染防止の観点から進められている。また、病原性を有する自由生活性アメーバに関しては脳炎の起因アメーバ 3 種の鑑別･同定方法（it hybridization）の開発と、細菌第一部との協力のもとでレジオネラ汚染防止に向けた環境水中での宿主アメーバの汚染制御に取り組んでいる。

第二室においては動物由来寄生蠕虫および食品由来の寄生蠕虫対策を中心課題としており、前者ではエキノコックスの汚染拡大防止およびアライグマ回虫幼虫移行症の発生予防と監視に向けた調査研究が行われている。その中で、埼玉県北部で捕獲されたイヌから初の多包条虫感染例を確認した。併せて、エキノコックス症診断法の改良･開発が進められている。また、神奈川県における野生アライグマの増加と分布域拡大に鑑み、幼虫移行症として最も危険視されているアライグマ回虫の汚染調査を継続している。一方、食品由来寄生蠕虫対策の一環として佐賀県で発生したモクズガニの喫食に伴う肺吸虫集団感染の原因解析に当った。また、沖縄における広東住血線虫感染に関して、血清抗体調査群へのアンケート調査を行い生野菜の摂食による感染の危険因子を明らかにした。加えて、本年度は輸入キムチの回虫卵汚染や養殖カンパチのアニサキス汚染等に関連した行政対応に当たった年でもあった。

第三室においてはマラリアや住血吸虫といったベクター媒介性の外来性寄生虫の対策を中心課題としており、地球温暖化が危惧される中でわが国へのマラリアの侵入防止に向けた取り組みを開始した。当面、浸淫地域であるアジア諸国との情報交換に向けたネットワークの整備、隣国からの三日熱マラリア進入防止に向けて侵入と国内流行の数理モデルの開発などに着手した。また、熱帯熱マラリアのクロロキン耐性遺伝子（pfcrt K76T）に関する retrospective 研究を開始し､併せて薬剤耐性試験方法の改良･開発を行っている。また､浸淫地におけるマラリア疫学情報の収集と対策への協力を継続している。赤痢アメーバは 5 類感染症の中で常に増加傾向を示している疾患で、その病原性の解析とともに感染の拡大防止に向けた対策が必要な時期に入っている。

本年度も各室において国際協力への積極的な取り組みがなされ、フィリピン、タイ、中国、ソロモン諸島国、その他多くの東南アジア諸国との共同研究と人材交流が図られた。

業　績

調査・研究

Ⅰ．疫学

1．関東地方におけるイヌのエンセファリトゾーン感染に関する血清疫学的研究：第二報

2003 年に関東地方の 161 頭の飼犬から血清検体を採取し ELISA による抗 *Encephalitozoon cuniculi* IgG 抗体を調べたが OD 1.0 以上を示す検体は僅か 1 例であった（佐々

木ら、2004 年)。今回、1995 年 5 月から 2005 年 8 月末までに埼玉県下で捕獲された 311 頭のイヌ血清検体について同様に ELISA による抗 *E. cuniculi* IgG 抗体を測定した結果、38 検体（11.89%）が OD 1.0 以上を示した。今回の埼玉県下のイヌにおける血清流行の調査結果は人のコンパニオン動物として非常に興味深い所見であり、今後、他の方法による更なる確認試験を行う必要があると思われた。

[山本徳栄（埼玉県衛生研究所)、近真里奈（同)、山口正則（同)、古屋宏二]

２．腸管寄生性ミクロスポリジア *Encephalitozoon intestinalis* に対する各種殺菌・除菌法の効果試験

ミネラルウオーター類の製造規準である 85℃･30 分間加熱する方法と同等以上の効力を有する加熱殺菌以外の方法について原虫を指標菌にして検証することを主な目的に、細胞培養法による胞子感染力価測定法を用いて *E. intestinalis* 胞子に対する各種の殺菌試験及び簡易的フィルターによる除菌試験を行った。$TCID_{50}$ の減衰曲線から３種類の D 値を算出し比較検討した結果、オゾン殺菌については水中オゾン濃度 0.2 ppm で加熱殺菌力と同等以上の効果が期待できると思われた。一方、紫外線殺菌については加熱殺菌力に相応する十分な殺菌効果は得られなかった。フィルター除菌は加熱殺菌と同等以上の効果があると思われた。

[朝倉登喜子、古屋宏二]

３．清涼飲料水の原虫に係わる文献的調査研究

清涼飲料水の規格基準に関する試験検査（厚生労働省医薬品食品安全部）の一環として、調査主題及びキーワードを飲料水（drinking water、特に清涼飲料水）と原虫（protozoan　parasite）に設定して IMIC による情報収集を行った。最終的に国内文献 132 件から 38 件、国外文献 500 件から 131 件を抽出し、“水圏汚染の腸管寄生性原虫”、“飲料水汚染候補微生物”、“新興水系病原体”、“原虫類に対するオゾン処理・紫外線処理・加熱処理等の各種殺菌法の不活化効果”について文献的検索・考察を行った。

[朝倉登喜子、古屋宏二]

４．ニホンザルの腸管寄生性原虫に関する調査研究

ニホンザル飼育コロニーにおける腸管寄生性原虫の感染状況を調査する目的で、平成 16 年度にニホンザル 38 頭から採取した糞便材料を検査に供した。薄層直接塗抹法、ホルマリン・エーテル法、ショ糖遠心浮遊法を併用し、染色にはコーン法、遺伝子診断には Multiplex-PCR 法を用いて検査を実施した結果、15 検体（39.5%）に寄生虫類を検出した。このうち、原虫類は *Entamoeba coli* が 9 検体(23.7%)に、蠕虫類では鞭虫卵が 6 検体(15.8%)に検出された。クロモトロープ染色法によるミクロスポリジア検査は全例陰性であった。

[古屋宏二、山本徳栄(埼玉県衛生研究所)、近真里奈(同)、山口正則（同)、松林伸子（京都大学霊長類研究所)、松林清明（同）]

５．循環式浴槽における浴用水の浄化、消毒方法の最適化に関する研究

(1)宿主アメーバを介しての感染経路

レジオネラに関するこれまでの動物実験において、10^3 cfu 台の菌数により感染・発症することが示されているが、当該の研究により同程度の菌量がアメーバ内で増殖し得ることを明らかにした。さらに菌感染アメーバを取り込んだ場合の感染の可能性を明らかにするために、感染アメーバを用いた動物感染実験を行った。感染アメーバを経鼻的にマウスに投与し、経時的に剖検を行い、肺組織における菌の増殖を調べた。試験にはレジオネラ感受性の A/J マウスと抵抗性の C57B マウスを用いた。結果は、抵抗性の C57B では明確な投与後の菌増殖は確認できなかったものの、感受性のある A/J では投与後の肺内における菌増殖が確認された。この結果は、対照試験の BCYEα 増殖菌を用いた場合の結果とほぼ一致しており、感染アメーバ１つの取り込みがマウス感染成立につながることを示すものと判断された。

[八木田健司、下河原理江子、倉　文明（細菌第一部）]

(2)宿主アメーバ由来のレジオネラの温水中での生残性

浴槽水等における菌の挙動と感染性との関係を明らかにするために、温水中におけるレジオネラの生存性とアメーバに対する感染性を経時的に調べた。モデルは 500ml ボトルに滅菌脱塩素水道水を入れ、感染アメーバ

より分離した菌を添加し、42℃で攪拌して培養保存した。継時的に培養液の一部を回収しレジオネラの活性を評価したところ、培養開始から 2 ないし 3 週間まではほとんど生菌数に変化がなく、4 週目に至り 1 $\log_{10}$ 程度の低下が観察された。これに対して宿主アメーバへの感染性は培養開始後 4 日以内に当初の 1/5 から 1/10 以下にまで速やかに低下した。ところで、レジオネラと宿主アメーバの関係は「培地での増殖能を欠損した（VNC：viable but not culturable）レジオネラは宿主アメーバに感染することでその増殖活性を回復する」と説明されてきたが、今回の結果はこの通説を支持するものではなく、むしろ逆の関係を示す結果となった。現在、引き続き詳細な検討を行っている。

[八木田健司、泉山信司、下河原理江子]

(3)アメーバの増殖と大腸菌消費量

バイオフィルムにおけるレジオネラ宿主アメーバの存在は栄養（餌）となる細菌類の量に依存するものと推測される。実験的にアメーバの増殖に要する菌量を算定した。無栄養寒天プレートに既知濃度の大腸菌を塗布することで、単位面積あたりの菌量を設定した。この大腸菌塗布培地にアメーバを接種するとアメーバの増殖に伴いプラークが形成される。そのプラークは塗布した菌がアメーバよって消費された部分であることから、一定期間中に増殖したアメーバ数を算出し、さらにその間に拡大したプラークの面積を算出することで、アメーバの増殖量に対する菌消費量を計算した。その結果、アメーバの 1 回の分裂を支持する餌の菌量は 10^4 個台と計算された。これを基に、浴槽等の菌量からアメーバ量、さらにレジオネラ菌量の推定を行う予定である。

[下河原理江子、八木田健司、泉山信司]

６．クリプトスポリジウムの水系集団感染に認められる前兆現象

一般に感染事故は病原体の存在と消毒・混入防止の不備が重なり、病原体の暴露につながる。これをクリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物にあてはめると、原水中の病原体の存在、浄水処理の不備、非加熱飲料水の摂取に対応する。水系クリプトスポリジウム集団感染においては専ら浄水処理における問題が強調されてきたが、処理の不備に先駆けて原水中にオーシストの存在する状況を想定する必要がある。すなわち、事故が顕在化する以前に何らかの前兆があってしかるべきと考えられる。過去に報告された集団感染について詳細に検証すると、実際に患者数が増大する以前から、原因不明の下痢症患者が継続的に発生しており、一部はクリプトスポリジウム感染が確認されている。そこで集団感染の前兆現象に焦点を当ててその間の飲料水中のオーシスト量を推計したところ、過去の主要な集団感染においてほぼ類似した値（平均飲水量を 1 L/日と仮定した場合、およそ 0.02 個/L 相当）に収斂していた。現在、この前兆現象の把握に向けた監視方法の確立を目指している。

［泉山信司］

７．クリプトスポリジウムの標的遺伝子と疫学的解像度

クリプトスポリジウムの分子疫学は感染経路やリスク評価を行う 1 つの手法として重要であり、方法の開発と情報の集積を継続的に行う必要がある。本研究では 2004 年の集団感染より得た分離株に対して 18S rDNA、Poly-Threonine 、 HSP 、 COWP 、 Actin 、 GAG repeat Microsatellite、CPGP40/15 遺伝子について直接塩基配列決定を行った。各遺伝子は既存の登録配列との間で 94～100％の相同性を示した。その中で、CPGP40/15 遺伝子の配列において最も高い変異が得られること、また、繰り返し配列に増減が認められることから、当該遺伝子を対象とすることで分子疫学的な解析能力の向上が図れるものと期待される。

[泉山信司、八木田健司]

８．アジアで分離されたクリプトスポリジウム遺伝子型

クリプトスポリジウムは強い塩素耐性を有し水系感染することから工業先進国で問題とされているが、糞口感染であることから食品、接触による感染もあり、熱帯・亜熱帯地域における小児下痢症の重要な病原微生物として認知されている。アジア地域での腸管原虫類の情報共有を目途として研究協力を開始した。欧米ではオーシストの排出源としてウシなどの家畜の重要性が指摘されてきたが、3 国の分子疫学の結果からはヒトを固有宿主とする遺伝子型が主に検出される実態が明らかとなった。また、例数は少ないがタイではトリを主な宿主とする *C.*

meleagridis が *C. parvum* 動物型（genotypeⅡ）より 2 倍の頻度で分離されている。また、他にはあまり例を見ない *C. muris* や *C. parvum* pig genotype の人体感染例も確認された。

[S. Jongwutiwes（Dept. Parasitol., Facl. Med., Chulalongkorn Uni., Thailand）、F. Natividad（Res. Biotech. Div., St. Luke's Med. Cntr., Philippines）、泉山信司、八木田健司、古屋宏二]

９．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

ウ．埼玉県で発見されたイヌの多包条虫感染例

2003 年 11 月の感染症法改正により、包虫症（エキノコックス症）の届出はヒトへの感染源となるイヌの感染例についても義務づけられることになった。これまでの届出状況をみると、イヌでの感染届出は国内唯一の多包条虫常在地である北海道からの報告のみにとどまってきた。しかし、我々が北海道からの移動犬調査で示したように（昨年度年報）、流行地での飼育あるいは滞在歴をもつイヌを介した伝播が存在する。多包条虫の非流行地への拡散に果たすイヌの役割が重要と認識される中、2005 年 6 月、埼玉県北部で捕獲されたイヌ 1 頭（メス、年齢不明）の糞便からテニア科条虫の虫卵が検出された。テニア科条虫卵は形態学的に種の鑑別が困難なため、埼玉衛研の依頼を受けて虫卵から DNA を抽出して 12S rRNA 領域の塩基配列を解読したところ、多包条虫（北海道産）と配列が完全に一致した。本例は、感染症法改正後、北海道以外の都府県から届け出られた初めてのイヌの多包条虫感染例となった。

[森嶋康之、杉山 広、川中正憲、山本徳栄（埼玉県衛生研究所）、近真理奈（同）、山口正則(同)］

(2)アライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視

ウ．平成 17 年度・野生アライグマの糞便内虫卵検査

アライグマ回虫幼虫移行症の発生予防と監視の為に、野生アライグマ捕獲個体の糞便内虫卵検査を実施した。検査にはアライグマ駆除業者、自治体、大学等から送付された糞便を用いたが、今年度の検査サンプルはすべて神奈川県内での捕獲アライグマ由来のものであった。平成 17 年度の検査件数は 227 件であり、その捕獲市別の内訳は捕獲頭数の多い順に横須賀市（96 件）、鎌倉市（73 件）、逗子市（26 件）、横浜市（19 件）、藤沢市（12 件）、不明（1 件）であった。これまで捕獲頭数の最も多い市は鎌倉市であったが、環境省からアライグマ対策モデル事業の指定を受けて平成 17 年 7～8 月に横須賀市内の繁殖地を重点調査域として生態調査を行ったことから、今年度は横須賀市での捕獲獣の検査数が最も多くなった。現在までのところ、野生アライグマ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]

１０．食品由来寄生虫症に関する調査研究

(1)平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒

ア． 事例の発生状況と原因食品に関する調査

佐賀県の某ホテル内にある中華料理店を原因施設として、平成 16 年秋に肺吸虫症が集団発生した。原因施設ではモクズガニの老酒漬を非加熱で 138 食提供し、114 名がこれを喫食した。肺吸虫感染が確認された者（抗体陽性者）は 4 名で、内訳は呼吸器症状を呈する有症者が 2 名，血清反応のみ陽性の無症者が 2 名であった。本事例はウェステルマン肺吸虫による食中毒事例として食品衛生法に基づく届け出(食中毒事件票の提出)が行われた。原因食品となったモクズガニの由来を明かにするために，関係者から聞き取り調査を行ったところ，カニはすべて佐賀県北西部を流れる玉島川で捕獲されたものである事が明らかとなった。

[平野敬之（佐賀県衛生薬業センター）、増本久人（同）、池添博士（佐賀県中部家畜保健衛生所）、杉元昌志（佐賀県唐津保健福祉事務所）、松﨑祐己（佐賀県健康福祉本部生活衛生課）、森田満雄（同）、杉山　広、森嶋康之、川中正憲]

イ． 原因についての寄生虫学的精査

佐賀県の某ホテル内にある中華料理店で、平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫症の原因食品は、県北西部を流れる玉島川で捕獲されたモクズガニである事が、関係者からの聞き取り調査で明らかとなった。そこで玉島川産のモクズガニ（計 69 匹）を入手して，メタセルカリア寄生の有無を検査した。その結果、13 匹（寄生率 19%）が肺吸虫陽性であった。陽性個体の中には、1 匹から 167 個

ものメタセルカリアが検出されたカニも含まれていて、しかも可食部分である胴体部（63 個）や脚部（61 個）の筋肉により多くの寄生が見られた。検出されたメタセルカリア、および試験感染ネコから回収した成虫は、その形態学的特徴から、ウェステルマン肺吸虫(3 倍体型)と判定された。平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒の原因は, ウェステルマン肺吸虫(3 倍体型)である事が確定した。

[杉山　広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之（佐賀県衛生薬業センター)、増本久人（同)、池添博士（佐賀県中部家畜保健衛生所）]

(2)広東住血線虫症の疫学と予防に関する研究

イ．沖縄県における広東住血線虫症の危険因子

好酸球性髄膜脳炎を主徴とする広東住血線虫症は、保虫宿主由来の感染幼虫を経口的に摂取して感染する。本症の国内発生は沖縄県を感染の場とするものが全体の 6 割以上を占め、患者の大部分が保虫宿主に関する摂食・接触歴を持っていた。しかし 1990 年以降、感染源不明の症例が多くなり、従来とは異なる感染源の存在が示唆されてきた。そこで現在における本症感染の危険因子を探るため、既報（平成 15 年度年報）の血清疫学調査の対象者に対してアンケート調査を実施した。抗体陽性者を症例、抗体陰性者を対照と定義し、症例 1 対対照２の比率により年齢と性別でマッチさせて症例対照研究を行い、種々の危険因子候補との関連を検討した。その結果、「野菜への保虫宿主付着の目視経験」が有意な危険因子として抽出された。この危険因子は保虫宿主由来の感染幼虫による食用野菜の汚染機会を表すものと考えられ、今後の本症予防対策では、保虫宿主への注意と共に野菜を介した感染の防止を含めた啓発を行う必要があると考えられた。

[森嶋康之、荒川京子、杉山 広、川中正憲、安里龍二（沖縄県衛生環境研究所)、平良勝也（同)]

１１．首都圏における肺吸虫の発生分布に関する研究

(3) 江戸川・中川流域での大平肺吸虫検出の試み

東京湾に注ぐ河川でカニを採集し、肺吸虫メタセルカリアの検出を試みたところ、荒川と多摩川の河川敷に大平肺吸虫の陽性地区を見出した事は既に報告した（昨年度年報)。本年度は、東京湾に注ぐ河川として、江戸川と中川でも同様の調査を実施した。カニの採集地区は、江戸川流域では江戸川区江戸川（103 匹を検査)、上篠崎（37 匹)、東小岩（103 匹）中川流域では葛飾区高砂（121 匹)、足立区南水元（102 匹）の合計 5 地区（計 466 匹）である。いずれもアシが生い茂り、クロベンケイガニが多数生息しているなど地理要因が荒川・多摩川の陽性地区と合致する事からこれらを調査地区として選定したが、肺吸虫陽性ガニは検出できなかった。カニの採集地区を増して、更に検討を続ける予定である。

[杉山　広、村田浩一（日大)、森嶋康之、川中正憲]

１２．マラリアの疫学

(1)わが国における過去の輸入マラリアの患者発生とその動向の確認

国内への薬剤耐性マラリアの輸入例を明らかにするために、感染研に保存されている 1984 年から 1998 年のマラリア患者薄層標本の種別、地域別区分けを行った。全サンプルは 589 枚で、そのうち熱帯熱マラリアは 231 枚であった。熱帯熱マラリアサンプルの 65%はアフリカでの感染が推定され、25%は東南アジア、９%はインドを中心とする南アジアからの帰国者であった。これは同時期に報告されていた全国のマラリア患者発生数の約半分をカバーしている。熱帯熱マラリアのクロロキン耐性遺伝子として重要な pfcrt K76T 変異は、2000 年に発見されたが、今後上記のサンプルを使用して過去に遡る分子遺伝学的解析をするうえでの基礎的データを得た。

[中野由美子、亀井喜世子（帝京大学医学部）]

(2)マラリア対策の進捗と疫学的指標の変化に関する研究

ソロモン諸島国は、1990 年代、かつて報告マラリア患者数が年間 400/1000 を超える高度浸淫地として知られていた。近年の病院や診療所からの報告マラリア患者数：Passive Case Detection(PCD)は、200/1000 以下に改善しているが、以前と同様熱帯熱マラリアの比率が 80%近くを占めている。2006 年２月に Active Case Detection(ACD)として横断的一斉調査を行った地域では、30%以上のマラリア感染率となり、1996 年の調査と同様に高い感染率となったが、三日熱マラリアが感染者の

60%以上を占め、1990 年代の熱帯熱マラリアの比率と逆転していた。従来、PCD と ACD によって検出される熱帯熱・三日熱マラリアの比率には、大きな差異は認められなかったが、マラリア対策が進捗した後の調査では、ACD によって検出される三日熱マラリアの比率が高くなり両者間での差異が広がった。

[大前比呂思、亀井喜世子（帝京大学医学部）]

１３．東南アジアにおける住血吸虫症の疫学と対策

フィリピン、ボホール島では、ここ数年、日本住血吸虫感染率が、0.1～0.2%となり制圧が間近な状況となったが、1981 年以降の対策と感染率の推移を基に、日本住血吸虫症の伝播と対策に関する数理モデルを作成した。そして、やはり近年成功をおさめているカンボジアの住血吸虫症対策と比較したところ、ベクターとなる感染貝との接触が 1 年に渡って続くフィリピンにおいては、日本住血吸虫症制圧に貝対策が不可欠であったが、感染貝との接触が年間 3-4 ヶ月ほどに限られるカンボジアにおいては、貝対策抜きでも治療に重点を置いた対策によりメコン住血吸虫症制圧が可能であることを示した。

[大前比呂思、松田　肇（獨協医大）、千種雄一（同）、石川洋文（岡山大学）]

Ⅱ．分類

１．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

渡航歴（東アジア、東南アジア、アフリカおよび南米等）のある症例、および国内感染が疑われる症例等、合わせてこれまで 22 例について GDH 遺伝子に関する遺伝子型別を行った。結果は Assemblage A subtype A1 が大半（20 例）を占め、他の 2 例は B3 であった。このうち、国内感染が明らかとなっている 2 例はいずれも Assemblage A であった。これらの遺伝子型はいずれも広範な動物種を宿主とするいわゆる人獣共通型の原虫であった。今回、対象とした症例のうちの 11 名は無症状、即ちシストキャリアーであり、感染防止の観点からはシストキャリアーの把握が大きな課題となる。ちなみに、わが国ではジアルジア症の水系集団感染の報告はないが、国外ではしばしば水泳プールが感染源となっていることが知られており、わが国においてもジアルジア症とプール利用との関係を視野に入れていく必要がある。

[八木田健司、田口一宏(三菱化学ビーシーエル)、加島準子、泉山信司、小村麻子]

２．分子生物学的手法による肺吸虫種の同定・鑑別

(2)PCR-RFLP によるタイ産肺吸虫の種鑑別

タイ産肺吸虫（5 種類）のメタセルカリア由来 DNA をテンプレートとして、我々が開発したマルチプレックス PCR を実施した場合、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、タイ、ハリナスタ、バンコックの各肺吸虫では 520bp の産物が増幅される。これらの結果は既に報告したが（昨年度年報）、タイ、ハリナスタ、バンコックの各肺吸虫については種の鑑別ができていなかった。そこで、これら 3 種から得たマルチプレックス PCR 産物（520bp）を制限酵素（*Scr*FI）で処理したところ、タイ肺吸虫のバンドは切断されず、ハリナスタは 3 本（約 60, 210 および 250 bp）、バンコックは 2 本（約 250 および 270 bp）に切断され、タイ産肺吸虫（5 種類）の種鑑別が可能になった。現在、中国及びインドの肺吸虫についても材料を収集し、本法の有用性を検討している。

[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

１．３．*Encephalitozoon cuniculi* スポアタンパク質のプロテオーム解析：*E. cuniculi* 極管に対するモノクローナル抗体が反応する２－D スポット

Soluble antigen―ELISA を用いたスクリーニングと Whole spore―ELISA を用いたクローニングにより、*E. cuniculi* 極管抗原に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの３系統（NID1、NID2、NID3）を確立した。２－D 免疫ブロット分析において、NID1 及び NID2 モノクローナル抗体は共に酸性側ゲルに偏在した多スポットパターンを与えた。最も強い反応は 55 kDa 前後の 2 つの連続スポットに認められた。これらの同一分子サイズで PI の異なる２つの連続スポットはプロテ

オーム解析で *E. cuniculi* PTP1 スポアタンパク質と同定された。今回のモノクローナル抗体を用いた２－D ブロット分析により PTP1 には少なくとも２つの isoform の存在が示唆された。

[小村麻子、三和　茂(イムノバイオン)、朝倉登喜子、吉川博康（北里大学)、古屋宏二]

２．*Naegleria fowleri* 総タンパク質の部分アミノ酸配列解析と未同定タンパク質の遺伝子解析

これまでに、強い病原性を持つ *Naegleria fowleri* と非病原性の *N. lovaniensis* の総タンパク質の差異について 2D-PAGE 解析を行った。得られた情報をもとに 63 個の *N. fowleri* のタンパク質の部分アミノ酸配列解析や MS/MS 解析を行い、それらの内 14 個を同定した。さらに 2D-PAGE 解析で *N. fowleri* 特異的と考えられた未知タンパク質 2 個について遺伝子のクローニングを行い、それぞれ Glutamate dehydrogenase、Thioredoxin peroxidase と高い相同性があることを認めた。

[小村麻子，泉山信司 ，八木田健司 ，下河原理江子]

３．マラリアの分子生物学

(1)マラリア薄層標本からの DNA の回収ならびに限界感染率の特定

薄層標本のマラリアサンプルから DNA を回収し、分子疫学的解析を行うために、どの程度感染率が低くても回収が可能か、感染率の異なる薄層標本を作製し DNA の回収を行った。回収方法は、以前、先濱ら（2001）によって報告されていた手法に改善を加えた。pfcrt 遺伝子の K76T 変異の検出に適した領域のオリゴヌクテオチドを用いて、原虫感染率 3, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01% の薄層標本から DNA を回収し、ネステッド PCR も含めて全 70 サイクル PCR サイクルを行った結果、0.1%以上のサンプルについて増幅が可能であった。よって、増幅に必要な限界感染率を 0.1%以上と決定し、前述の薄層標本の半分が含まれた。またダイレクトシークエンスにより、クロロキン耐性遺伝子 pfcrt K76T 変異の検出を行った結果、変異遺伝子が野生型遺伝子に比べて 20%以上混合感染してれば検出が可能であることが分かった。

[中野由美子、河津信一郎（医療センター)、石上盛敏（同)、狩野繁之（同)、田辺和裕（大阪工大)、大前比呂思]

(2)マラリアの分子進化速度や薬剤耐性に関する分子生物学的研究

ソロモン諸島国ガダルカナル島におけるメロゾイト表面タンパク質-1：MSP-1 遺伝子（msp1）の遺伝子多様性と組換え頻度を調べ、流行度のより低いタイ及びバヌアツと比較した地域に分布する対立遺伝子の数、異なる対立遺伝子の多重感染率、及び、一人当りの対立遺伝子の数はタイが最高で、ソロモン、バヌアツの順となった。また、クロロキン耐性遺伝子（pfcrt）の多型についても調べて比較した。いずれの地域も 100%耐性型を示したが、耐性遺伝子の型は、タイでは東南アジア型、ソロモンとバヌアツではパプアニューギニア型であった。

[大前比呂思、田辺和裕（大阪工大)、先濱直子（同）]

４．赤内型熱帯熱マラリア原虫 (*Pf*) の増殖、分化を誘導する物質

(1)　無血清培地を用いた熱帯熱マラリアの培養系を用いて原虫の増殖促進因子について解析を進めている。当該年度においては、血清アルブミンとリゾホスファチジルコリン（LPC）の共存下でマラリア固有の多数分裂（schizogony）が進行し、無性生殖世代が完結することを明らかにした。これらの増殖促進物質の作用機序は不明であるが、赤血球への侵入過程に作用するものではなく、赤血球内での分裂過程に作用するものであった。また、LPC に類似の分子構造を持つ LPA（リゾホスファチジン酸）では増殖促進作用が著しく低く、原虫は多数分裂の途中で発育を停止した。

[朝日博子]

(2）熱帯熱マラリアの培養系において、血清アルブミンとリゾホスファチジルコリン（LPC）の共存下で schizont の成熟(多分裂)が促進されることが示されたことから、LPC との結合性を示す虫体蛋白の特定を試みた。Schizont の可溶性分画と LPC との反応物を SDS-PAGE 電気泳動したところ、86kDa 付近の蛋白に結合性があることが確認された。また、in situ での局在の検討からは詳細な結合部位の特定には至らなかったが、発育ステージを問わず赤内系のすべての原虫において結合性部位が存在することが確認された。

[朝日博子、泉山信司、小村麻子]

５．赤痢アメーバにおけるコレステロールの役割

赤痢アメーバは de novo のコレステロール合成系の遺伝子群、メバロン酸経路、非メバロン酸経路をともに欠失しており、一方で、外界からの取り込みならびに細胞内でのコレステロール結合に関与する遺伝子群を複数コードしていることを明らかにした。コレステロール結合タンパク質群には赤痢アメーバ特異的なドメインを有するものがあるため、これらがの細胞機能の解析を進めている。また新たに確立した培養系によってコレステロールが赤痢アメーバの生育に不可欠な因子であることを証明した。さらに主要な病原因子であるシステインプロテアーゼの活性がコレステロールによって濃度依存的に活性ならびに抑制されることを発見し、アメーバポアを含む赤痢アメーバの病原因子の活性機序においてコレステロールが重要な鍵を握っていることを明らかにした。

[中野由美子]

Ⅳ. 検査・診断

１. *in situ* hybridization による *Naegleria*、*Acanthamoeba*、*Balamuthia* の検出・同定

自由生活性アメーバ類に起因する髄膜脳炎には *Naegleria fowleri* の感染に起因する原発性アメーバ性髄膜脳炎と *Acanthamoeba* あるいは *Balamuthia* の感染に起因する肉芽腫性アメーバ性脳炎の２型に大別される。前者は、鼻腔の嗅神経末端からアメーバが侵入し、嗅神経沿いに中枢神経へ到達し、感染から 5～10 日のうちに患者を死に至らしめる。わが国では極めてまれな疾病で、1996 年に佐賀県で本アメーバに起因する原発性アメーバ性髄膜脳炎による死亡例が一例報告されているに過ぎない。*Naegleria fowleri* は従来、温水環境を好む自由生活性のアメーバで、一旦温水環境が汚染されるとその場に定着して長期にわたりヒトへの感染の恐れが生じる。後者の亜急性、慢性の肉芽腫性アメーバ性脳炎は免疫不全者における *Acanthamoeba* の日和見感染とされていたが、近年、健常者での *Balamuthia mandrillaris* による脳炎が報告され、わが国ではこれまでに 4 例のアメーバ性脳炎患者が知られている。しかしながら、*Balamuthia* の感染経路や病原巣などに関しては今後の検討に待たれる状況にある。当該研究ではこれら 3 属に対する ISH プローブの開発を行い、過去の事例の病理組織標本に適用した結果、良好な染色像を得た。

[泉山信司、八木田健司、高橋　均（新潟大学脳研究所病理学分野）、林 森太郎（同）、佐多徹太郎]

２．病原性アメーバ *Balamuthia mandrillaris* によるアメーバ性脳炎の診断

アメーバ性脳炎の疑われた症例について免疫組織学的方法および *in situ* hybridization により診断を行った。現在、アメーバ性脳炎の原因となる病原性アメーバとしては *Acanthamoeba* spp. 、*Naegleria fowleri* ならびに *Balamuthia mandrillaris* が知られる。剖検脳切片病理染色標本中には *B. mandrillaris* に特徴的な核形態を示す細胞が認められたことに加え、免疫組織染色の結果は抗 *B. mandrillaris* 抗体染色で陽性、上記 3 種の病原性アメーバの 18SrRNA オリゴプローブを用いた *in situ* hybridization の結果もこれと一致した。以上の結果より、本症例は *B. mandrillaris* による脳炎と確定した。国内の *B. mandrillaris* 脳炎確定例は本例で 5 例目である。

[八木田健司、泉山信司、廣松賢治（宮崎大学）]

３．キムチからの寄生虫・原虫検出法の開発

本年度、国外産キムチの寄生虫卵汚染の問題が明らかになったことへの行政的対応の一環として、キムチからの迅速かつ定量的な寄生虫卵検出を目的とした検査方法の確立を行った。実用的な方法として 300ｇの材料から 10 個の虫卵を検出する手順を検討し、小型の連続遠心器を用いたキムチ洗浄液からの虫卵濃縮法と厚層塗沫法標本を用いた虫卵検出法を組み合わせた方法を考案した。虫卵添加回収実験の結果から、本検査法の所要時間はおよそ 5 時間、300g 中およそ 100 個の虫卵を添加した場合の回収率は 66.5%、10 個の虫卵に対しても 60%程度の成績が得られた。なお、厚層塗沫法に換えて密度勾配遠心法を用いることで、原虫のオーシスト/シスト検出に適用が可能である。

[八木田健司、泉山信司]

４．LAMP 法を用いた *Cryptosporidium*、*Giardia* 検出系の開発

LAMP 法はわが国で開発された遺伝子増幅方法で、迅速性、簡便性、特異性に優れ、検査施設への導入も容易とされることから、当該研究では *Cryptosporidium* 属および *Giardia* 属を対象とした LAMP 法のプライマーセットの開発を行った。これまでのところ、*Cryptosporidium* 属の 18S rRNA 遺伝子を標的遺伝子とし、部分配列を組み込んだプラスミドを鋳型として感度試験で 6 コピー（6 分子）を最少単位として濁度計で 40 分以内に陽性反応を検知した。同様に 18S rRNA 遺伝子を標的とした *Giardia* 属検出用のプライマーの設計を行い、標的遺伝子領域を挿入したプラスミドを鋳型とした感度試験で 6 コピーのプラスミドを含む反応液で 50 分以内に陽性反応を検知した。

［百田隆祥（栄研化学生物化学研究所）、泉山信司］

５．レジオネラ属菌迅速測定法の有用性の検討

循環水を用いた浴場施設は病原性アメーバにとって好適な増殖環境にあり、さらにアメーバを宿主としてレジオネラ属菌が増殖する好適な環境と言え、衛生上の重要問題となっている。「レジオネラ対策」は即「アメーバ対策」でもある。通常レジオネラ属菌の培養試験は 1 週間を要し、迅速性に欠ける事が問題となっている。当該研究では遺伝子増幅を利用した迅速測定法 2 法（LAMP 法及びリアルタイム PCR 法）の有用性を検討した。LAMP 法及びリアルタイム PCR 法は、採水から前処理を含めて結果判明までに 1 日以内と迅速であった。重要な点は、培養法と他の 2 法での判定結果にはかなりの不一致が存在したが、その原因は DNA 検出法では生菌/死菌を分けずに検出することにあると考えられた。培養陰性でありながら高濃度の DNA が検出される状況は明らかに不自然であり、そのような試料（施設）は少なくとも検査の直前までレジオネラの増殖があったことが強く示唆される。DNA 検査法ではこのような状況を的確に把握することができる。むしろ積極的に活用すべきものと考える。

[荒井桂子（横浜市衛生研究所）、吉川循江（同）、田中礼子（同）、林　宏子（同）、山口　正（同）、泉山信司]

６．回虫卵汚染キムチの検査方法の信頼性に関する検討

2005 年 11 月、厚生労働省は、中国および韓国製造のキムチ等から寄生虫卵が検出されたとの情報を得て、所管検疫所に対してモニタリング検査の実施を指示し、その方法として『食品衛生検査指針・微生物編』に準ずる暫定的な検査方法を指定した。キムチに何らかの処理を施して虫卵を含むサンプル集め、寄生虫卵の検出を光学顕微鏡によって行うという手法は、検出の可否が検査員の習熟の程度に相当程度依存している事は明らかである。この点で、現状の食品衛生に係わる検査機関において、虫卵検査に習熟した検査員を配置する事は容易な事ではない。とは云え、習熟した検査者による本法そのものの検出感度を評価して置く必要がある。そこでヒト回虫と物理学的な性状が類似するブタ回虫卵（未成熟受精卵）を材料とし、キムチへの添加回収実験を行って、上記暫定法の信頼性を評価した。添加虫卵数・回収虫卵数をそれぞれ独立・従属変数として非線形最小二乗法を用いて指数モデルを作成したところ、暫定法の検出限界はキムチ 100 g あたり虫卵 25 個以上と推定された。より簡便かつ高感度な検査法の開発が必要と考えられた。

[森嶋康之、杉山　広、荒川京子、川中正憲]

７．輸入キムチより検出された回虫様卵の分子同定

2005 年 11 月に日本国内で流通している輸入キムチから回虫様の虫卵が検出されたので，リボソーム DNA・ITS1 領域の配列を解読し、虫種同定を試みた。その結果，キムチから検出された虫卵はヒト回虫 *Ascaris lumbricoides* の虫卵と判定された。回虫類の中でもヒト回虫とブタ回虫とは形態鑑別が難しく，加えて今回の検索材料はキムチからの検出虫卵で，鑑別は一層困難であった。このような加工食品由来の寄生蠕虫卵を対象として種同定・鑑別を行う場合には，遺伝子配列に基づく同定が極めて有用と考えられた。

[杉山　広、森嶋康之、川中正憲、赤尾信明（東医歯大）、太田伸生（同）]

８．養殖魚からのアニサキス幼虫の効率的検査法の検討

2005 年 6 月、中国産中間種苗由来の国内養殖カンパチにおけるアニサキス汚染問題が、鹿児島、宮崎、熊本、大分、愛媛、香川、高知の 7 県で発生した。これを契機

に、今後も食品衛生の立場から、養殖魚のアニサキス検査が公的機関などに求められることが想定され、効率的な鮮魚のアニサキス幼虫検査法（特に可食部の魚肉中におけるアニサキス幼虫の検出法）を早急に確立することが必要となった。そこで、まず香川と宮崎の県水産試験場の協力のもとに、米国 FDA 及びカナダの公定検査法である「魚肉の紫外線(UV)照射によるアニサキスの存在確認法」を基に、改良法を案出し試験条件の検討を行った。
[川中正憲、荒川京子、杉山　広、森嶋康之、中村充志（宮崎水試）赤井紀子（香川水試）]

９．エキノコックス症の血清診断法の検討

単包条虫と多包条虫とが混在分布している地域において、ヒトの単包虫症と多包虫症とを鑑別することは、個別患者の予後判定の為にも有病地におけるコントロール対策立案の為にも極めて重要な問題である。両症の鑑別は、確定的には病理検査に依らねばならないが、超音波など画像診断によっても可能とされている。しかし一方で、画像診断を補助或いは補完する手段として特異性の高い血清診断法が求められている。そこで我々は、北海道由来の多包虫症患者血清及び中国青海省由来の単包虫症患者血清を用い、多包虫原頭節抗原(Em16/18)及び単包虫包内液(Ag B)のカクテル抗原を用いて簡易化ウエスタンブロット法を開発し、その診断への応用可能性について検討した。
[川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山　広、古屋宏二]

１０．平成 17 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 17 検体の検査依頼を受けたが、抗体陽性は６件、陰性は 11 件であった。陽性の内訳はウエステルマン又は宮崎肺吸虫症：３件、トキソカラ症：1 件、犬糸状虫症：1 件、日本住血吸虫症：1 例、であった。
[荒川京子、杉山　広、森嶋康之、川中正憲]

１１．日本住血吸虫症の超音波診断と病態

廉価な画像診断法として、途上国でもよく利用される超音波検査の、日本住血吸虫症への応用に関する研究を進めた。網目状パターンといわれる、日本では感染期間の長い高齢者でみられたパターンが、フィリピンの高度浸淫地では進行が早く、若年者において２年程度でみられることを発見した。一方、側副血行がみられ、巨大な脾腫を示すような例であっても、かつての日本の有病地とは異なり、血中のアンモニア値が高くなるような例は少ないことがわかり、両国における病態の違いが明らかになった。
[大前比呂思、朝日博子、松田　肇（獨協医大）、千種雄一（同）]

１２．マラリア原虫の薬剤耐性評価法に関する研究

マラリア原虫の薬剤耐性の動向についての情報を収集する事を目して、筆者らが開発、実用化した熱帯熱マラリア原虫の無血清培地を用いて、薬剤耐性評価方法の改良を試みた。従来のヒト血清培地を用いた評価系との比較から、無血清培地を用いた評価系においても各種抗マラリア剤による原虫の増殖抑制効果および Schizont 形成抑制効果を正当に評価することができることを確認した。これにより、東南アジア、太平洋島嶼地域など開発途上地域で無血清培地の利点を生かした薬剤耐性評価試験の適用が期待される。さらに、現行の顕微鏡観察に替わる測定方法として、フローサイトメトリーおよび原虫の lactate dehydrogenase の定量測定法を検討し、用途に応じた選択を可能にするものと期待される。従来の顕微鏡観察に比べ、フローサイトメーター測定法および lactate dehydrogenase 定量法は原虫に関する形態学的な知識を要求しないことと、多量の検体を扱うことができることから、集団検診などのスクリーニングへの応用が期待される。また、抗マラリア剤のスクリーニングへの応用も期待される。
[朝日博子、泉山信司]

VI. その他

１．二枚貝を用いた水中クリプトスポリジウム除去

下水処理水等の原虫類が混入する可能性が高い地点での生物浄化システムとして、二枚貝のろ過機能の活用を検討した。イケチョウガイは琵琶湖原産の淡水性二枚貝で、世界最大種のひとつとして知られるが、長寿命であり、種苗生産が確立していること、さらに真珠養殖の母貝として用いられていることから、この貝の利用を検討した。実験には 200g の個体を用いたが、そのろ過能力は高く 600ml / hr と算定された。オーシストの添加暴露実験の結果では、浮遊オーシストはイケチョウガイにより速やかに補足され、濃縮されたオーシストが濃い粘液状の糞中に排出されることが観察された。フイールド試験で有用性の検証を計画している。

[泉　敏彦（北海道立衛生研究所）、八木田健司]

２．クリプトスポリジウム対策としての珪藻土を用いたケーキろ過の評価

クリプトスポリジウム等の耐塩素性微生物は水系集団感染がしばしば報告されている。クリプトスポリジウムのオーシストは約 5μm と粒径が小さいことから、除去が困難で、現行の急速凝集沈殿ろ過では 2～3－$\log_{10}$ 程度の除去（99～99.9%除去）とされている。したがって高濃度汚染や処理に問題が生じた際には水道水を介した集団感染に発展する恐れがある。わが国には凝集沈殿ろ過施設を持たない浄水施設が多数存在している。本研究では工業、食品、水泳プールや銭湯などで利用されている珪藻土を用いたケーキろ過に着目し、クリプトスポリジウムの除去性能の評価を行った。珪藻土を用いたケーキろ過は多孔質の珪藻土を積層してフィルター（ケーキ）を形成させ、加圧ろ過する方法である。クリプトスポリジウムのオーシストに模した 3μm のビーズを用いて除去性能評価を行ったところ、珪藻土の使用量を 0.25～1.6kg/m^2 とした場合 0.9～6.4－log10 と高い除去性能を確認した。併せて、ほぼ細菌の短径に相当する 0.5μm のポリスチレンの蛍光粒子を用いて除去率を求めたところ、珪藻土の種類や使用量を調整することで 4－$\log_{10}$ 程度の除去が可能であった。

[泉山信司、関根　寛、小野更生（日本フィルコン（株）生産技術部）、松本英樹（ミウラ化学装置（株）技術部）、山中俊治（同）]

３．源泉の AOC 濃度測定

これまで *Legionella* 症の集団感染は主に循環式浴槽において発生しているが、その傍らで掛け流し式浴槽での汚染も明らかとされている。緊急避難的に導入された塩素消毒は所定の効果を示し、循環式浴槽の宿主アメーバ、ひいては *Legionella* 属菌の検出率を下げた。一方、*Legionella* 属菌は掛け流し式浴槽においても高頻度（60%）に検出されている。掛け流し式浴槽での汚染防止は浴槽、給湯配管、源泉タンクの管理がかかせない。タンクや配管中での増殖のしやすさは、基本的に源泉に含まれる微生物が利用可能な炭素量によって規定される。そこで、源泉の AOC（同化性有機炭素、Assimilable Organic Carbon）濃度の測定を行った。AOC は生物に同化（消化）される有機炭素量を、基準細菌種の増殖を利用して測定する方法であり、水道水の配管中での再増殖の指標として開発された手法である。当該研究の結果として、AOC 濃度で 100μg/L 程度を越えていた源泉と *Legionella* 属菌が検出されている施設が対応した。

[宮川徹也（阪神水道企業団）、泉山信司、烏谷竜哉（愛媛県立衛生環境研究所）、縣　邦雄（アクアス（株）つくば総合研究所）]

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 26 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。赤痢アメーバを中心にクリプトスポリジウム、アニサキスに関する検査体制上の問題点等を議論した。

[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。また、ELISA 用の *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium*, *Giardia* の PCR 用

プライマー及びテンプレート、ならびに *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia* 同定・鑑別のための in situ hybridization 用プローブ等の分与に応じている。
[八木田健司、泉山信司]

３．鮮魚のアニサキス幼虫検査マニュアルの策定

2005 年 6 月、中国産中間種苗由来の養殖カンパチにおけるアニサキス汚染問題が発生した。これを契機に、今後も食品衛生の立場から効率的な鮮魚のアニサキス幼虫検査法を確立することが必要となった。そこで、検査マニュアル案を策定した後、養殖カンパチのアニサキス汚染問題が発生した７県（鹿児島、宮崎、熊本、大分、愛媛、香川、高知）の衛生研究所担当者に依頼し、「検査マニュアル(案)」に基づいた精度評価（添加・回収実験）のための試験を実施してその有効性を検証した。それらの結果を基に「鮮魚のアニサキス幼虫検査マニュアル」を作成した。
[川中正憲、荒川京子、杉山　広、森嶋康之]

国際協力関係業務

１．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のサーベランスを行った。あわせてフィリピンの共同研究者を招き、検査法の実習を行った。
[古屋宏二、泉山信司、八木田健司]

２．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。あわせてタイの共同研究者を招き、分子疫学的調査法の実習を行った。
[Thitiporn laoprasert、八木田健司、下河原理江子、泉山信司]

３．中国青海省におけるエキノコックス症の疫学的調査研究

中国西部の青海省では単包条虫および多包条虫による包虫症（エキノコックス症）が公衆衛生上重要な問題となっている。ヒューマンサイエンス振興財団による外国の研究機関への委託事業として、この地域におけるエキノコックス症の疫学的調査研究を実施した。本年度は、青海省果洛チベット族自治区において、超音波装置による住民検診と血清抗体検査及び終宿主動物としてのイヌなどの調査を行った。
[余森海（中国 CDC）、川中正憲]

４．アジアにおけるマラリア・原虫症の疫学と対策に関する国際会議の主催

アジアにおいて、マラリアや他の原虫症の研究や対策のネットワーク作りを進めるため、感染研において国際会議を行った。韓国、インドネシア、フィリピン、タイ、カンボジアの６カ国から８研究機関、さらに WPRO の担当者の出席を得た。薬剤耐性の熱帯熱マラリアの拡がりは、大きな公衆衛生的な問題であるが、現在流行の中心が、熱帯熱マラリアから三日熱マラリアに移りつつある国も多いことが確認された。今後は、治療的介入を進める一方、現在のマラリア流行と対策評価が的確にできるような疫学的指標の開発も望まれる。
[大前比呂思]

５．東南アジアにおける寄生虫症対策への協力

笹川記念保健協力財団の寄生虫症対策実行委員の１人として、カンボジア王国や東チモール共和国の寄生虫症対策の協力した。独立間もない東チモール共和国において、現地 WHO 事務所と協力して、2005 年度には 2010 年までのフィラリア根絶計画 5 ヵ年計画の策定に協力した。この事業は、WHO の主導のもと、2020 年までに全世界におけるリンパ系フィラリア症の制圧計画の一環として行われる。
[大前比呂思]

研修業務

１．平成 17 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。
[八木田健司、泉山信司]

２．寄生虫類の検査技術研修
[杉山　広、森嶋康之]
・平成 17 年度希少感染症診断技術研修会においてイヌのエキノコックス症の検査法に関する研修を行った。

・イヌのエキノコックス症の検査法の実習を行った：地研担当者（青森県、大阪府）。

・アライグマ糞便及びキムチを材料とした虫卵検査の研修を行った：同（神奈川県）

・アライグマ回虫卵とタヌキ回虫卵との鑑別の為の検査法の実習を行った：同（大阪府）

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1. Itagaki, T., Kinoshita, S., Aoki, M., Itoh, N., Saeki, H., Sato, N., Uetsuki, J., Izumiyama, S., Yagita, K. and Endo T. Genotyping of *Giardia intestinalis* from domestic and wild animals in Japan using glutamate dehydrogenase gene sequencing. Veterinary Parasitology **133**, 283-287, 2005.

2. Oikawa, Y., Kitagawa, K., Yagita, K., Endo, T. Shima, I. and Ikeda. T.: Drug susceptibility of *Acanthamoeba* isolated from 13 Japanese patients with *Acanthamoeba* keratitis. J. Kanazawa Med. Univ. **30**, 67-70, 2005.

3. Kura, F., Amemura-Maekawa, J., Yagita, K., Endo, T., Ikeno, M., Tsuji, H., Taguchi, M., Kobayashi, K., Ishii, E. and Watanabe, H. : Outbreak of Legionnaire's disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pnuemophila* serogroup 5. Epidemiol. Infect. **134**, 385-391, 2006.

4. Yamano K., Yagi K., Furuya K., Sawada Y., Honma H., Sato N.: Active alveolar hydatidosis with sero-negativity for antibody to the 18 kDa antigen. Jpn. J. Infetct. Dis. 58, 122-124, 2005

5. Qian, B-Z. and Sugiyama, H.：ITS2 sequence of *Paragonimus westermani* in Ninghai, Zhejiang. Acta Academiae Medicinae Zhejiang 63, 1-3, 2005.

6. Lin, R., Li, X., Lan, C., Yu, S. & Kawanaka, M. Investigation on the epidemiological factors of *Clonorchis sinensis* infection in an area of south China. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 36 (5), 114-117, 2005.

7. Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K & Kawanaka M. *Echinococcus multilocularis* in dogs, Japan. Emerging Infectious Diseases, 12: 1292-1294. 2006.

8. Qian, B-Z., Sugiyama, H., Waikagul, J. and Zhu, Z-H.：Sequence analysis of ITS2 and COI genes of *Paragonimus harinasutai*. Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases 24, 119-121, 2006.

9. Rangsiruji, A., Sugiyama, H., Morishima, Y., Kameoka, Y., Thawat D., Binchai, S. and Ketudat, P.：A new species of *Paragonimus* other than *P. westermani* in southern Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 37 (Suppl. 1), in press, 2006.

10. Singh, T.S., Singh, D.L. and Sugiyama, H.：Possible discovery of Chinese lung fluke, *Paragonimus skrjabini*, in Manipur, India. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 37 (Suppl. 1), in press, 2006.

11. Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Binchai, S., Ketudat, P. and Kawanaka, M.：Application of multiplex PCR for species discrimination using individual metacercariae of *Paragonimus* occurring in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 37 (Suppl. 1), in press, 2006.

12. 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.

13. Saito-Nakano, Y., Loftus, B.J., Hall, N., Nozaki., T. (2005) The diversity of Rab GTPases in *Entamoeba histolytica*. Exp. Parasitol. 110:244-252. 2005

14. Miitra, B.N., Yasuda, T., Kobayashi, S., Saito-Nakano, Y., Nozaki, T. Differences in morphology of phagosomes and kinetics of acidification and degradation in phagosomes between the pathogenic *Entamoeba histolytica* and the non-pathogenic *Entamoeba dispar*. Cell Motil. Cytoskeleton. 62:84-99. 2005

15. Nakada-Tsukui, K., Saito-Nakano, Y., Ali, V., Nozaki, T. (2005) A retromerlike complex is a novel Rab7 effector that is involved in the transport of the virulence factor cysteine protease in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Mol. Biol. Cell. 16:5294-5303. 2005

16. Asahi, H., Kanazawa, T., Hirayama, N., Kajihara, Y. Investigating serum factors promoting erythrocytic growth of *Plasmodium falciparum.* Experimental Parasitology 109: 7-15, 2005.

17. Sakihama, N., Ohmae, H., Bakote'e, B., Kawabata, M., Hirayama, K., Tanabe, K. Limited allelic diversity of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 gene from population in the Solomon Islands. American Journal of Tropical Medicine &Hygiene 74:31-40, 2006

18. Okada, A., Imase, A., Matsuda, H., Ohmae, H., Hata ,H., Iwamura, Y. Heterogeneity of class Ⅰ and class Ⅱ MHC sequences in *Schistosoma mansoni*. Parasitology Research. 99:21-27. 2006

19. Ishikawa H, Ohmae H, Pangilinan R, Redulla A, Matsuda H Modeling the dynamic and control of *Schistosoma japonicum*: transmission on Bohol island, the Philippines. Parasitology International 55:23-29. 2006

20. Chigusa Y, Otake H, Ohmae H, Kirinoki M, Ilagan EJ, Barzaga NG, Kawabata M, Hayashi M, Matsuda H. Determination of the period for establishment of a liver network echogenic pattern in *Schistosoma japonicum* infection. Parasitology International 55:33-37. 2006

21. Shaohong L, Kumagai T, Qinghua A, Xiaolan Y, Ohmae H, Yabu Y, Siwen L, Liyong W, Maruyama H, Ohta N. Evaluation of the anthelmic effects of artesnate against experimental *Schistosoma mansoni* inefection in mice using different treatment protocols. Parasitology International 55:63-68. 2006.

２．和文発表

1. 古屋宏二、小村麻子、三和茂、朝倉登喜子、下河原理江子、吉川博康、遠藤卓郎：微胞子虫 *Encephalitozoon cuniculi* の極管に対するモノクローナル抗体の確立とプロテオーム解析による相応する抗原ポリペプチドの同定. 日本原生動物学会、39, 102-103, 2006.

2. 古屋宏二、松林伸子、松林清明：サル類におけるミクロスポリジア感染の疫学. 霊長類研究所年報、35, 90, 2005.

3. 八木田健司、泉山信司、遠藤卓郎、クリプトスポリジウムの遺伝子型別と事例解析、病原微生物検出情報、Vol. 26, No. 7, 10, 2005.

4. 岡田美香、河野喜美子、倉 文明、前川純子、渡辺治雄、八木田健司、遠藤卓郎、鈴木 泉. 循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例, Ⅰ. 発症状況と環境調査,感染症学雑誌、79, 365-374, 2005.

5. 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、獣医寄生虫学会誌、3(2)、34、2005.

6. 杉山　広、森嶋康之、A. ラングシルジ、S. ビンチャイ、P. ケツダット、亀岡洋祐、川中正憲：分子生物学的手法によるタイ産肺吸虫の種鑑別・同定:メタセルカリアでの検討、獣医寄生虫学会誌、4(1)、53、2005.

7. 松本ルミネ、宇羽野恵、上坂義和、國本雅也、川中正憲、PET 検査が鑑別の一助となった脳有鉤嚢虫症の１例、神経内科、63 (5) 473-476、2005

8. 山本徳栄、近 真理奈、山口正則、丹野瑳瑛子、小山雅也、前野直弘、東 久、水澤 馨、木村 弘、森嶋康之、川中正憲、埼玉県内の犬の糞便から検出されたエキノコックス（多包条虫）の虫卵、病原微生物検出情報、26, 306-307, 2005

9. 須藤幸喜、杉山　広、森嶋康之、村田浩一、川中正憲：東京・神奈川の多摩川河川敷で採集したクロベンケイガニからの大平肺吸虫メタセルカリアの検出、獣医寄生虫学会誌、4(2)、51、2006.

10. 川中正憲､山本徳栄､イヌのエキノコックス検査法、Medical Technology, 34,338-339, 2006

11. 川中正憲、荒木潤、アニサキス症□発生状況とその予防□、食品衛生研究、56 巻 6 号, 17-22, 2006

12. 川中正憲、杉山広、森嶋康之、荒川京子、カンパチなど養殖魚に寄生したアニサキス幼虫とその検査法について、食品衛生研究、56 巻 6 号、23-34, 2006

13. 遠藤卓郎、黒木俊郎.　クリプトスポリジウム・ジアルジア感染症　－話題の疾患と治療.　感染・炎症・免疫　35(3), 77-79, 2005.

14. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司.　　いま、知っておきたい話題　　クリプトスポリジウム症.　　日本醫事新報　No.4236,　33-36,　2005.

15. 黒木俊郎、泉山信司、遠藤卓郎.　　[話題の感染症]クリプトスポリジウムの最近の知見.　　モダンメディア　51(4), 75-80, 2005.

16. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司.　＜特集　ヒトと動物の新興感染症＞　クリプトスポリジウム症. Medical Science Digest 31(1), 27-30, 2005.

17. 泉山信司、遠藤卓郎，わが国で発生した Cryptosporidium 集団感染に関する考察，Clinical Parasitol., 16, 58-60, 2005.

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1. Yagita, K., Furushima-Shimogawara, R., Izumiyama, S.and Endo, T.: Determining the number of *Legionella* multiplied in a single amoeba cell.　XIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae, Czech Republic, 5-9 Sept, 2005.

2. Endo, T., Yagita, K., Izumiyama, S. Hayashi, S. and Takahashi, H. : Retrospective studies on human amoebic encephalitis in Japan.　XIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae, Czech Republic, 5-9 Sept, 2005.

3. Higashi, K., Hasegawa, S., Hori, H., Otsuka, M., Ishiyama, T. Yagita, K., Izumiyama, S. and Endo, T. : Screening of amoebocidal compounds using paper disk method. XIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae, Czech Republic, 5-9 Sept, 2005.

4. Qian B-Z., Sugiyama, H. and Waikagul, J.: *Paragonimus harinasutai* from China: Morphology and Molecular Biology.　The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.

5. Rangsiruji, A., Sugiyama, H., Morishima, Y., Kameoka, Y., Thawat, D., Binchai, S. and Ketudat, P.：　A new

species of *Paragonimus* other than *P. westermani* in southern Thailand. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.

6. Binchai, S., Rangsiruji, A., Ketudat, P., Morishima, Y. and Sugiyama, H.： Morphological and genetic characteristics of Thai *Paragonimus westermani* matured in cat. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.

7. Singh, T.S., Singh, D.L. and Sugiyama, H.：Possible discovery of Chinese lung fluke, *Paragonimus skrjabini*, in Manipur, India. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.

8. Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Binchai, S., Ketudat, P. and Kawanaka, M.：Application of multiplex PCR for species discrimination using individual metacercariae of *Paragonimus* occurring in Thailand. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.

9. Ohmae, H., Chigusa, Y., Blas, Bl., Socheat, D., Sinuon, M., Kirinoki, H., Matsuda, H., Comparison of schistoaomiasis control programs in Southeast Asia 18th International Congress of Malaria and Tropical Medicine, Sep 11-15. 2005 Marseille, France.

10. Ohmae, H., Asahi, H., Chigusa, Y., Kirinoki, H., Matsuda, H., Management of imported cases of *Schistosomiasis japonicum* infections in Japan, 1st International Congress of Travel Medicine and Infectious Diseases, Nov 17-18. 2005 London, UK.

11. Asahi, H., Investigating factors promoting erythrocytic growth of *Plasmodium faliparum.* American Society of Tropical Medicine and Hygiene 54th Annual Meeting, Dec.11-15, 2005 (Washington, DC, USA).

２．国内学会

1. 古屋宏二、小村麻子、三和茂、朝倉登喜子、下河原理江子、吉川博康、遠藤卓郎：微胞子虫 Encephalitozoon cuniculi の極管に対するモノクローナル抗体の同定、第３８回日本原生動物学会、平成17年10月13日（帯広）

2. 八木田健司、泉山信司、田口一宏、遠藤卓郎．国内でヒトより検出されたジアルジアの遺伝子型別、第65回日本寄生虫学会東日本支部大会、2005年、東京

3. 小村麻子，泉山信司，八木田健司，下河原理江子，遠藤卓郎． *Naegleria fowleri* 総タンパク質の部分アミノ酸配列解析と未同定タンパク質の遺伝子解析 -2D-PAGE データベースの拡充を目指して-
日本原生動物学会　第38回大会（帯広）10月13日～15日

4. 川中正憲、森嶋康之、杉山　広、荒川京子、木白俊哉、旋尾線虫Ｘ型幼虫の生活史と分類学的位置について (1)、第 74 回日本寄生虫学会大会、2005 年 4 月、米子

5. 杉山広、森嶋康之、荒川京子、川中正憲、木白俊哉、旋尾線虫Ｘ型幼虫の生活史と分類学的位置について (2)、第 74 回日本寄生虫学会大会、2005 年 4 月、米子

6. 須藤幸喜、杉山　広、森嶋康之、村田浩一、川中正憲：東京・神奈川の多摩川河川敷で採集したクロベンケイガニからの大平肺吸虫メタセルカリアの検出、第 140 回日本獣医学会学術集会　2005 年 9 月、鹿児島

7. 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、川中正憲：マルチプレックス PCR によるタイ産肺吸虫の種鑑別・同定：メタセルカリアでの検討、第 141 回日本獣医学会学術集会　2006 年 3 月、つくば

8. 中野由美子、津久井久美子、Biswa N. Mitra、岡田麻美、ぬで島麻衣、徳丸文恵、繁田泰男、野崎智義 (2005) 赤痢アメーバのリソソーム形成における EhRab7 ア

イソタイプの解析 (2005) 第 74 回日本寄生虫学会大会 April 8-9, 2005, 米子, 鳥取.

9. 津久井久美子、中野由美子、Vahab Ali、野崎智義 (2005) 赤痢アメーバの病原機構における Rab7A の役割 (2005) 第 74 回日本寄生虫学会大会 April 8-9, 2005, 米子, 鳥取.

10. 朝日博子、泉山信司、高崎智彦、遠藤卓郎. 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。第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、4/8-9、2005.

11. 中野由美子 (2005) ゲノム情報から観る赤痢アメーバの膜輸送 第 13 回分子寄生虫学ワークショップ 2005 年 8 月 1-4 日 トムラ

12. Tanabe K, Sakihama N, Ohmae H, Kaneko A Evolution of antigen polymorphisms of malaria parasites in isolated populations. 第 7 回日本進化学会, 東京, 8/28、2005.

13. 大前比呂思、朝日博子、千種雄一、Blas BL, Socheat D, Sinuon M. 東南アジアにおける住血吸虫感染と血中アンモニア値の関連. 東日本寄生虫学会 2005 年 10 月 東京

14. 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 73 回日本寄生虫学会大会、2004 年 4 月

15. 泉山信司、黒木俊郎、押部智宏、辻英高、八木田健司、遠藤卓郎 クリプトスポリジウム症の潜伏期間の再検討 日本寄生虫学会 2005.4 米子

16. 泉山信司、遠藤卓郎 我が国で発生した Cryptosporidium 集団感染に関する考察 日本臨床寄生虫学会 2005.6 東京

17. 泉山信司、縣 邦雄、遠藤卓郎 浴槽水における有機物汚染の蓄積に関する考察 環境技術学会 2005.9 大阪

18. 泉山信司、八木田健司、藤原正弘、遠藤卓郎 紫外線照射による Cyclospora cayetanensis の発育阻止 寄生虫学会東日本 2005.10 東京

7．感 染 病 理 部

部 長　佐 多 徹 太 郎

概　要

1. 人事等

感染病理部の現定員は 16 名で、戸山庁舎に 3 室 12 名、村山庁舎に 1 室 4 名が在籍している。平成 17 年 4 月 1 日に田中道子研究官と尾崎泰子研究官が主任研究官に昇格し、室長 4 名、主任研究官 6 名、研究官 4 名となった。非常勤職員の奥田薫が 9 月 30 日付、樋口好美は 12 月 30 日付けで都合により退職した。天野朱美子を非常勤職員として 9 月 27 日付で採用した。

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. エイズ関連リンパ腫における Epstein-Barr virus 感染に関する調査
3. 病理検体における起因ウイルスの分子生物学的検索
4. ヘルペスウイルス 1 型および 2 型の検出と型別
5. ウイルス肝炎に関する研究

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. ウエストナイルウイルスに関する研究
4. SARS コロナウイルスに関する研究
5. HIV/SIV に関する研究

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. ワクチン開発における BVDV 混入 FBS の検討
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 由来プリオンの感染性を評価する新規トランスジェニックマウスの開発

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. 村山庁舎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. 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

国内外の医療なら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索した。2005 年度、人体由来の検体数は 121 例であった。検索の結果、EB ウイルス感染 12 例、ヒトヘルペスウイルス 8 型感染 7 例、他に日本脳炎ウイルス、狂犬病ウイルス、肝炎ウイルス感染例、また国内 1 例目の vCJD 症例についても免疫組織学的、あるいは分子病理学的に解析した。（佐藤由子、尾崎泰子、片野晴隆、中島典子、佐多徹太郎）

2. エイズ関連リンパ腫における Epstein-Barr virus 感染に関する病理学的調査

エイズ患者に合併するリンパ腫は、多くの場合、Epstein-Barr virus (EBV)陽性 B 細胞性リンパ腫であり、EBV に感染した B 細胞が宿主の免疫不全に乗じて日和見的に増殖した結果発症するリンパ腫であると考えられてきた。東京地区の３つのエイズ拠点病院におけるエイズ関連リンパ腫について検討した結果、この数年で EBV 陽性率の有意な減少が認められた。バーキットリンパ腫が増加しているなど、組織型の変化も認められ、エイズ関連リンパ腫の病態そのものが変化してきていることが示唆された。（片野晴隆、佐多徹太郎、比島恒和［駒込病院］、小柳津直樹［東大医科研］、藤井丈士［国立国際医療センター］等）

3. 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。4 検体検索した。今後、検出する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）

4．ヘルペスウイルス 1 型および 2 型の検出と型別

HSV 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 を用いて型別を行うのが主だったが、検出・定量・型別をより迅速に行うために Real-time PCR による診断システムを作成した。本年度は、性器ヘルペス感染症が疑われる婦人科検体分離株 100 検体を Real-time PCR 法により調べ、分離培養および MAb を用いた型別の成績と比較した。その結果、この Real-time PCR による診断システムは現在我が国で分離される 1 型と 2 型の株を特異的に判定することが出来、分離培養の感度と同等以上の診断方法であることがわかった。（尾崎泰子、塚越静香［協力研究員］、川名　尚[帝京大溝の口病院]、佐多徹太郎）

5．ウイルス肝炎に関する研究

HCV ゲノタイプと HCV 5'-UTR の IRES 活性に関する研究：HCV IRES は、HCV の翻訳開始に重要な役割を担っているが、各ゲノタイプとの関連は不明である。そこで 5 つの異なったゲノタイプ（1,2,3,4,6 型）間での IRES 活性を検討した。その結果、6a 型は、他のどの型よりも高い IRES 活性を示した。シークエンス解析で 6a は、IRES secondary structure の loop IIIb に 2 個の塩基（CA）挿入を、また 1,3,6 型は loop IV に各型特有の塩基配列が観察された。さらに site mutagenesis にて、1b 型の loop IIIb へ 2 個の塩基（CA）を挿入したところ、IRES 活性の増強をきたしたのに対し、6a 型での CA 塩基欠損は逆に活性下降を認めた。Loop IIIb の塩基配列変化と IRES 活性の関連が示唆された。（Huy Tran[協力研究員]、徳永研三、阿部賢治）

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) ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)の新規検出法に関する研究

我々は、in vitro において GFP-PML 発現細胞株を用いた HCMV の新規検出系を考案、確立した。本検出系は HCMV 前初期遺伝子産物 IE1 による核内 PML body の変化という HCMV 感染に特異的な現象を応用した定量的検出法である。本検出系を用いると迅速、簡便に薬剤感受性試験が可能となると予想されるため、臨床分離ウイルス株を用いて検討したところ、薬剤耐性株の判定が可能であり、迅速な薬剤感受性試験に有用であると考えられた。（後藤希代子［協力研究員］、片野晴隆、佐多徹太郎）

(2)より簡便で迅速な大腸菌内での組み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。我々は近年報告されている、巨大なウイルス遺伝子を大腸菌にクローニングする BAC system を用いて 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、HSV 病原性関連因子の解析及び、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[東大医科研・感染症国際研究センター感染制御部門]、佐多徹太郎)

(3) KSHV/HHV-8 の定量

KSHV 関連疾患の病変部におけるにおけるウイルス量と感染細胞数の把握を目的とし、1995 年から 2004 年に集めた KSHV 関連疾患の病変部組織等を材料として、real-time PCR によりウイルスゲノム量を測定した。さらに、病理組織切片上にて KSHV の潜伏感染タンパク LANA と前初期タンパク ORF50 を免疫組織化学にて検出し、画像解析により全細胞数に対する陽性細胞の比率を算出した。結果、real-time PCR では非感染細胞を含むカポジ肉腫病変部における KSHV のコピー数はおおむね 1 copy/cell であり、PEL や KSHV 関連固形リンパ腫では 10-50 copy/cell のウイルスゲノムが検出された。病理組織における LANA 陽性細胞数の検索では KSHV 関連固形リンパ腫の病変部で８割程度の細胞が陽性であった。real time PCR で得られるウイルスコピー数と画像解析から得られる LANA 陽性細胞数から推定される KS１細胞あたりの KSHV のコピー数は約 3 copies/cell であった。ウイルスゲノム量と LANA 陽性率は高い相関を示し、疾患、病態毎に一定の傾向を認めた。また画像解析の結果から、前初期タンパク ORF50 の発現は MCD 以外ではきわめてまれであることが確認され、病態の違いが改めて確認された。（尾崎泰子、片野晴隆、菅野隆行、佐多徹太郎）

(4) KSHV のコードするヒト Interferon regulatory factor (IRF)

ホモログに関する研究

KSHV 関連疾患はいずれもサイトカインとの関わりが深く、ウイルスゲノム中にヒトサイトカイン関連遺伝子ホモログを多数コードしている。クラスターとして存在する IRF ホモログの中で機能のわかっていない K10 について発現様式、局在を明らかにし、さらに poly(A)-binding protein と特異的に結合することを見いだした。感染細胞における mRNA の安定性、翻訳調節への関与が示唆された。(菅野隆行、佐藤由子、加納基史［研究生］、片野晴隆、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。発症した白血病細胞はＴ細胞由来で IL-2R 等の ATL と共通した表面抗原を発現しその特徴はヒトの ATL と多くの類似性があり ATLL 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[国立医薬基盤研]、倉田　毅、佐多徹太郎）

3. ウエストナイルウイルス(WNV)に関する研究

(1) WNV 抗原・抗体特異的検出 ELISA 法の検討

WNV は日本脳炎ウイルス(JEV)と同一血清型に属する極近縁ウイルスであるため、WNV と JEV の血清診断は極めて難しい。そこで、樹立単クローン抗体を用いた WNV 特異的 ELISA の確立を試みた。その結果、JEV とは全く反応せず WNV のみビリオン蛋白 1ng/ml・感染価 $3x10^4$pfu/ml の感度で検出できる抗原 ELISA の樹立に成功した。本抗体は 20 万倍以上の WNV 中和活性を示した。現在、WNV 抗体 ELISA への活用と一層の高感度化を追求している。

（小島朝人、石川豊数[阪大微研]、佐多徹太郎）

(2) 治療法開発のためのウイルス高病原性機序の解明

ウエストナイル熱・脳炎が日本に侵入した場合に備え、臨床検体の病理学的診断法の確立、およびウエストナイル熱・脳炎の病態解明のための動物モデルの作製を行った。病理学的診断法を目的とした各種抗体の免疫組織化学法は、抗 JEV 抗体は WNV と交差反応を示したが、抗 WNV 抗体は JEV の症例と交差反応性を示さず、WNV に特異的な抗体であることが確認された。また、JEV 動物モデル作製のため、6-8 週齢のマウスを用いて JEV(Beijing または JaTH160 株)を腹腔内、静脈内、皮下接種し、21 日間経過観察した。マウスの JEV 感染実験では、脳、脊髄に神経の急性壊死、グリオーシスおよび単核系細胞を中心とする血管周囲性細胞浸潤がみられた。また神経細胞細胞質に JEV 抗原を検出した。(岩田奈織子、永田典代、佐藤由子、長谷川秀樹、小島朝人、佐多徹太郎）

4. SARS コロナウイルスに関する研究

マウス、ラットを用いた継代による SARS-CoV の病原性の変化

重症急性呼吸器症候群（SARS）の原因である SARS コロナウイルス（SARS-CoV）の病原性発揮機構を解明するために、マウス、ラットを用いて継代しウイルスの性状と病原性の変化について検索した。F 株には quasispicies が存在したが、継代によってマウスでは欠損型が、ラットでは非欠損型が選択され増殖した。また、ラット継代株では S 領域内のレセプター結合領域の 1325 番目の塩基の変異(A→C)とアミノ酸置換（チロシン→セリン）がみられ一方、マウスでは同領域の 1233 番目の塩基の変異(A→G)が存在したが、アミノ酸置換はなかった。継代によって肺、上顎でのウイルス抗原陽性細胞の増加と検出期間の延長が認められ、それに伴う炎症反応は増強し広範囲になった。（永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎、福士秀悦［ウイルス第一部］、西條政幸［ウイルス第一部］、森川茂［ウイルス第一部］）

5. 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

サル胎児脳由来ミクログリア培養系と BPC（brain derived progenitor cells）由来ニューロン・グリア培養系における SIV の感染性を比較した。ミクログリアを SIV 感染 BPC 由来ニューロン・グリア培養系に添加することで、ニューロン or/and グリア細胞に潜伏感染していた SIV がミクログリアに感染し、増幅産出されることがわかった。すなわちニューロン・グリア細胞が SIV のリザーバーとなっていることが示唆された。SIV 感染によってミクログリアに誘導されるケモカイン（IL-10、MIP-1α、MIP1-β）について解析した。

（中島典子、吉田洋明[研究生]、増田圭一郎[実習生]）

(2) HIV-1 ゲノム組換え機構の解析

HIV-1 が宿主免疫系の駆逐から逃れる大きな要因はゲノム RNA の高変異率と高組換え率にある。そこで組換えを in vitro で再現すると共に感染系で組換え効率を測定することにより、組換え機構に影響を及ぼす因子群を明らかにすることを目的とした。宿主 topoisomerase I は in vitro 逆転写アッセイ系において組換えを抑制し完全長 cDNA の合成を促進することが判明した。感染による系で組換えは同一粒子中の RNA ゲノム間で生じ、組換え効率は cDNA 伸長に比例すること、相同なテンプレート間の組換えが主であることが見出された。（高橋秀宗、前田才恵 [慶応大]、飛梅実）

(3) HIV-1 のゲノム RNA 核外輸送機構の解析

HIV-1 のゲノム RNA の核外輸送を含む複製を蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET)を応用した分子プローブを使って観察し、新規抗ウイルス薬開発の標的としていくことを目的とした。FRET を応用しウイルス Rev、Gag、宿主 Crm1、topoisomerase I のプローブを作成し、FRET を観察することができた。Rev, Crm1 は新しく国産蛍光蛋白質を用いることにより、多細胞数を同時に扱えるフローサイトメトリーで解析する系を確立することができ、さらにレプトマイシンＢによる阻害を詳細に解析することができ、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、北川善紀[HS 財団 RR]、松田道行 [大阪大学微生物学研究所]、高橋秀宗）

(4) 宿主因子 APOBEC3G に対する HIV-1 Vif の抑制活性の多様性

宿主因子 APOBEC3G（A3G）は、HIV-1 の感染性を消失させる強力な自然免疫の役割を担っている。この活性を抹殺する HIV-1 側因子 Vif がウイルス複製の鍵となっているが、Vif 蛋白にはサブタイプ間での遺伝子多様性がある。このことから Vif の A3G に対する抑制活性及びその結果としての感染増強能においてサブタイプ間で異なる可能性が考えられる。この仮説をもとに我々は、各 HIV-1 サブタイプ由来の Vif について比較検討を行ったところ、明らかに HIV-1 サブタイプ間で感染性の違い、即ち Vif の抗 A3G 活性の違いが認められた。またこの違いは Vif による A3G のプロテアソーム分解能の違いに起因することが示唆された。更に G→A 変異出現頻度は Vif の抗 A3G 活性と完全に逆相関していることが明らかになった。（徳永研三、木ノ本正信 [協力研究員]、坂本優子[エイズ研究セ]、異正志[エイズ研究セ] 、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）

(5) APOBEC3 ファミリーによる LINE-1 レトロトランスポゾン抑制効果

ヒト全遺伝子の 45%近くを占めるレトロトランスポゾンの中で、非 LTR 型である LINE-1（L1）レトロトランスポゾンが最も多く、総計 50 万コピーの L1 のうち、レトロ転移可能なものは 100 コピーあると言われる。この L1 のレトロ転移と、各種遺伝子疾患との関連性が示唆されており大きな注目が集まっている。抗レトロウイルス宿主因子として知られる APOBEC3G（A3G）が、LTR 型マウスレトロトランスポゾン IAP に対しても抗レトロ転移活性を示すことが先頃報告されたが、今回我々はヒト APOBEC3（A3）ファミリー（A3A～A3G）蛋白がヒト L1 に対しても自然免疫活性を示すか否かを検討した。その結果、ヒト A3 ファミリー蛋白はいずれも、程度は異なるものの L1 レトロ転移抑制効果を示すことが明らかになった。（徳永研三、木ノ本正信 [協力研究員]、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）

(6) G 型肝炎ウイルス産生系の樹立

G 型肝炎ウイルス（GBV-C/HGV；以下 HGV）感染 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 HGV 感染実験系の確立を目指して、昨年度までに HGV 遺伝子の全長クローニングを行った。本年度、Real-time RT PCR の系を確立して、ウイルスの増殖性を検討した。T7RNA ポリメラーゼアデノベクター感染と HGV cDNA のトランスフェクション後の HGV RNA を定量した結果、殆ど増殖が認められないことから、アデノウイルスベクターによる細胞毒性が考えられた。この問題を回避するため T7RNA ポリメラーゼ発現ベクターDNA を構築して、HGV 全長 cDNA と共に細胞株にトランスフェクトした結果、ウイルス RNA の経時的な細胞内増殖が認められ、また培養上清中にもウイルスが産生されていることが明らかになった。（木ノ本正信[協力研究員]、阿部賢治、鈴木哲朗[ウイルス 2 部]、佐多徹太郎、徳永研三）

(7) KSHV と HIV-1 の重感染における分子機構の解明

カポジ肉腫の原因ウイルスである KSHV と HIV-1 の両ウイルス間の相互作用については不明な点が多い。本研究では、KSHV と HIV-1 の重感染メカニズムを明らかにすべく解析を行った。KSHV 持続感染 B 細胞株での KSHV ORF50 蛋白発現により CD4 と CXCR4 の発現が上昇するという米国のグループの報告をもとに、B 細胞株において ORF50 発現を試みたが、HIV-1 感染性の増強は認められなかった。したがって B 細胞に HIV-1 感受性を獲得させるには、他のウイルスタンパクあるいは KSHV 感染により影響を受ける宿主因子が必要である可能性が考えられた。また先頃 KSHV レセプターとして同定された xCT を細胞株において強制発現させたが、KSHV 感染の増強は全く認められず、xCT が KSHV のレセプターとして機能していない可能性が考えられた。（木ノ本正信[協力研究員]、岸上哲士[理化学研究所発生再生科学総合研究セ]、佐多徹太郎、片野晴隆、徳永研三）

(8) CD4+CD38+ T リンパ球における IL-4 の T 細胞指向性 HIV-1 転写制御

AIDS 病態進行に伴う CD4+T 細胞の CD38+/CD38-比の上昇傾向は、病態進行のマーカーとして注目されており、我々はこれまでに CD38+ T 細胞画分は CD38- T 細胞画分に比べ、T-tropic HIV-1 に対して感受性が高いことを報告した。今回その原因として、CD4+T 細胞より産生される IL-4 が、CD38+ T 細胞での T 細胞指向性 HIV-1 感染を転写レベルで促進していることを明らかにし、更に転写因子 AP-1 が IL-4 処理後の CD38+ T 細胞

において発現が高まっていることから、IL-4 依存的な T 細胞指向性 HIV-1 の転写活性上昇においては、AP-1 が必要因子として機能している可能性が示唆された。（李永剛 [阪大微研]、岩部幸枝[阪大微研]、Jiranan Warachit [阪大微研]、木ノ本正信 [協力研究員]、Madiha S. Ibrahim [阪大微研]、辻祥太郎 [阪大微研]、 向井徹 [ハンセン研セ]、亀岡正典 [奈良医大生化学]、徳永研三、佐多徹太郎、生田和良 [阪大微研]）

(9) HIV-1 の細胞侵入過程の検討

HIV は Env とレセプターとの結合・膜融合・脱殻を経て感染が成立するが、侵入の分子機構は未だ不明である。これまでの解析から、HIV-1 のアクセサリー遺伝子産物 Nef がウイルスの標的細胞への侵入過程に影響を与え、結果としてウイルスの感染性を増強させていることが示唆された。Nef＋・－の HIV-1 と各種ウイルスエンベロープを用いて、異なる侵入経路における Nef の影響を検討した。その結果、①吸着・膜融合過程には Nef+/－の差が認められず、②侵入過程をバイパスした VSV-G/HIV の逆転写以降は Nef+/－で同等であった。これらのことから、吸着/融合以降・逆転写前、即ち、脱殻過程に何らかの侵入拘束因子の介在が示唆された。また、Nef によるウイルスの感染性増強効果は HIV-1 粒子特異的であり、HIV-1 の Gag および Pol が必須であった。（飛梅　実、小島朝人）

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) 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。昨年度より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。本年度は、免疫誘導のメカニズムとして TLR7 の発現量の増加が観察された。（田村慎一[客員研究員]、尾崎泰子、長谷川秀樹、佐多徹太郎）

(2) 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 3 (TLR3)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 の発現誘導が見られ、また IFN-α-β-γ の発現がみられ免疫力を増強している事が示唆された。ヒトで安全性が確認されている合成二本鎖 RNA, poly(I:C_{12}U)を用いて実用化を念頭に置いた粘膜ワクチンのアジュバント効果が証明された。（長谷川秀樹、一戸猛志[研究生]、渡邉泉[研究生]、伊藤智史[研究生]、千葉丈[東京理科大学]、田村慎一[大阪大学微生物学研究所]、倉田毅、佐多徹太郎）

2. ワクチン開発における BVDV 混入 FBS の検討

遺伝子導入細胞を活用する組換えワクチン開発では、培養液の牛胎児血清(FBS)に混入する牛ウイルス性下痢症ウイルス(BVDV)の問題をクリアーする必要がある。そこで、培地 100μl から抽出した核酸の RT-PCR でウイルス RNA を同定できる高感度検出法を確立して、市販 FBS を調査した。現在までのところ、ウイルス RNA 陰性 FBS は 2 ロットのみであった。塩基配列解析の結果、報告されている生ワクチン株と同一の配列は見出せなかった。ウイルスゲノム陽性 FBS 中の感染性ウイルスの有無を、継続して調査している。（勇　史行[協力研究員]、小島朝人、佐多徹太郎）

3. ウエストナイルウイルスワクチンの開発

ウエストナイルウイルス（WNV）ワクチン抗原開発のために、中和抗体を誘導するウイルス様粒子(VLP)抗原産生細胞作製を目的とした。日本脳炎ウイルス(JEV)及び JEV VLP の研究より、VLP の産生には E と PrM 蛋白、さらに C 蛋白 C 末端のシグナルシークエンスが不可欠であることが判明している。WNV PrM の上流に配置するシグナルシークエンスについて、粒子産生の効率化という観点から解析した。その結果、シグナルシークエンスが粒子産生効率に大きな影響を与えること、かつ、そのアミノ酸配列長には規則性のあることが判明した。構築された PrM-E cDNA の中で最も発現効率の高い cDNA から産生された WNV VLP は、平衡蔗糖密度勾配遠心法で比重　1.17 の画分にピークを示した。VLP 抗原産生細胞株樹立の基盤を確立できたものと思われる。（高橋秀宗、前田才恵 [慶応大]、田中道子、小島朝人、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

カニクイザルを用いた神経毒力試験の改良あるいは代替法を作製する目的で育成カニクイザル、ミドリザル、リスザル、乳のみラットにムンプスウイルス野外株の脳内接種を行い、その感受性を病理学的に比較検討した。サル類においてはいずれも、脳内接種後 10 日目の脳においてムンプスウイルスの増殖による髄膜炎や脈絡膜炎が認められた。ウイルス抗原陽性細胞はリスザルでのみ認められ、その細胞は形態的に上衣細胞、脈絡上皮細胞および神経細胞であった。一方、乳のみラットにおいては接種後 6 日目をピークとして上衣細胞、脈絡上皮細胞

が抗原陽性であり、接種後 4 週間では水頭症を発症した。今後は他のワクチン株との比較を検討し、試験に適当な動物と接種方法、Lesion Score 法を構築していきたい。（永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、原嶋綾子、佐多徹太郎、加藤 篤［ウイルス第三部］、田代 眞人［ウイルス第三部］、網康至［動物管理室］）

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

現在開発中の Sabin 株由来 IPV の免疫原性を明らかにするため、TgPVR21 にこれを皮下免疫し、感染防御への有効性について検討している。今回は、3 価混合 sIPV (#05J)（Sabin 1, 2, 3 株由来）を免疫し、中和抗体価を経時的に測定した。その結果、2 回免疫で 1 型は 1 匹、2 型 4 匹、3 型 6 匹で 2^4 以上の中和抗体の上昇がみられ、3 回では 1 型は 7 匹、2、3 型は全頭であった。3 価混合 sIPV 免疫後の感染防御について今後検討する。(永田典代、清水博之［ウイルス第二部］、武田直和［ウイルス第二部］、小西恭子［ウイルス第二部］、安部忍［(財)日本ポリオ研究所］)

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. プリオン検出法

(1) 免疫組織化学染色法においてプリオン抗原を検出する方法に化学反応を用いた前処理を行うことで従来の方法よりさらに短時間で結果を出すことができた。またヒト CJD 症例にもこの方法が応用でき、かつ背景の非特異シグナルが減少することがわかった。（佐藤由子、樋口好美[非常勤職員]、佐多徹太郎）

(2) Immuno-AT tailing 法を用いたプリオン蛋白の検出法の開発：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 Envision 法（DAKO 社)を用いて異常型プリオン蛋白質を検出しているが、ウエスタンブロッテイング法と比較して検出感度が劣る。そこでより高感度の免疫組織学的手法を開発するために、高感度 *in situ* 核酸検出法である *in situ* hybridization AT tailing （ISH-AT）法の原理を抗原検出法に適用した Immuno-AT tailing 法を開発した。この方法では Oligo(dA-dT)標識した１次抗体あるいは２次抗体を作製使用する。今年度は抗体の AT 修飾効率の改良、AT 修飾した抗体の精製法の改良、酵素および反応温度の再検討、CSA 法などシグナル増幅法の併用、Immuno-AT(直接法)、Immuno-(AT)２他、３次抗体-AT の使用などを試みた。（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）

2. BSE 由来プリオンの感染性を評価する新規トランスジェニックマウスの開発

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。前回作製したウシ型プリオン・トランスジェニックマウスではプリオンの発現に CAG プロモーターを用いていた。この系では、ウシ型プリオンはマウスのほぼすべての細胞に発現する。しかし生体でのプリオン蛋白の発現には臓器間に差異が存在する。このため新規のトランスジェニックマウスでは、マウスのプリオン遺伝子のプロモーター領域を用いた。クローニングしたマウス由来のプリオンプロモーターの活性は、ヒト・サイトメガロウイルスのプロモーター活性と比較しても、遜色無く蛋白の発現誘導を行えることを確認した。（飛梅　実、高橋秀宗、佐多徹太郎）

Ⅴ. 厚生労働省共同利用機器の運営

1. 高分解能走査電子顕微鏡 S-5200 の運用

平成 17 年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 237 検体で、その内訳は感染研内部 173 検体、外部との共同研究 50 検体、外部のみ 14 検体であった。そのうち元素分析２検体、免疫電顕 36 検体であった。

また、見学者の対応も 19 日、総勢 95 名にのぼった。内訳は外国 40 名、厚生労働省 46 名、財務省 1 名、会計検査院 3 名、議員 3 名、村山市市長ら 2 名となっている。（齋藤典子[臨時職員]）

Ⅵ. 機器管理運営委員会機器の運営

1. 戸山庁舎の透過型電子顕微鏡の運用

総受付件数は 11 件で、ネガティブ染色サンプルは 35 で、Epon 包埋検体は 14、ブロック数は 50 となった。ネガティブ染色サンプルとしては主に HCV 粒子、WNV-VLP、HIV-VLP、P. gingivalis で、エポン包埋検体には B. quintana 感染コロモジラミがあった。前述したように、多くの見学者があった。（田中恵子[非常勤職員]、佐多徹太郎）

2. 村山庁舎の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 16 件、走査電子顕微鏡は 4 件であった（2 件重複）。依頼者は感染病理部の他、細菌二部、ウイルス一部、ウイルス二部、エイズ研究センター、血液安全性研究部であり、昨年度と件数はほぼ変わらない。論文掲載件数は 3 件であった。　（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	研修	BSE の病理診断（動物衛生研究所、OIE）	2005.12
長谷川秀樹	研修	平成 17 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）	2006.2
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	2005.4 - 2006.3

Ⅷ. 検査業務等への参加状況

1. 検定検査

（1）沈降ジフテリア・破傷風トキソイドのジフテリアトキソイド無毒化試験で認められた異常反応の病理組織学的検索を１件依頼された。（永田典代、長谷川秀樹、岩田奈織子、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎）

（2）沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチンの異常毒性否定試験の病理解剖において異常所見の認められた動物の病理組織学的検索を 1 件依頼された。（永田典代、長谷川秀樹、岩田奈織子、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎）

2. 行政検査

2005 年度には 7 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行った。その結果、国内初の和肉牛 BSE 陽性牛を摘発し、しかも非定型例であった。佐世保食肉衛生検査所の協力で諸臓器の検索を行うことができた。（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、菅野隆行、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) Usui Y, Imai S, Saito N, Hanada N, Umematsu H.: Effect of 3.8% Ag(NH3)2F Solution as an Anti-caries Agent on Dentin in Artifical Mouth Model System using Actinomyces naeslundii. J. Dental Health 55; 186-193, 2005.

2) Oka T, Hansman GS, Katayama K, Ogawa S, Nagata N, Miyamura T, Takeda N. Expression of sapovirus virus-like particles in mammalian cells. Arch Virol 2005.

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

4) 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, 86:1391-401, 2005.

5) Takeuchi K, Takeda M, Miyajima N, Ami Y, Nagata N, Suzaki Y, Shahnewaz J, Kadota S, Nagata K.: Stringent requirement for the C protein of wild-type measles virus for growth both in vitro and in Macaques. J Virol. 7838-7844, 2005.

6) Ida-Hosonuma M, Iwasaki T, Yoshikawa T, Nagata N, Sato Y, Sata T, Yoneyama M, Fujita T, Taya C, Yonekawa H, Koike S.: The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. J Virol. 79:4460-9, 2005.

7) 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.

8) Nakajima A, Usui M, Huy TTT, Hlaing NKT, Masaki N, Sata T, Abe K: Full length sequence of hepatitis B virus belonging to genotype H identified in a Japanese patient with chronic hepatitis. Jap J Infect Dis 58: 244-246, 2005.

9) Suwannakarn K, Tangkijavanich P, Theamboonlers A, Abe K, Poovorawan Y.: A novel recombinant of hepatitis B virus genotype G and C isolated from a Thai patient with hepatocellular carcinoma. J Gen Virol 86: 3027-3030, 2005.

10) Okada Y, Suzuki T, Sunden Y, Orba Y, Kose S, Imamoto N, Takahashi H, Tanaka S, Hall WW, Nagashima K, Sawa H. : Dissociation of heterochromatin protein 1 from lamin B receptor induced by human polyomavirus agnoprotein: role in nuclear egress of viral particles. EMBO Rep. 6:452-457, 2005.

11) Katano H, Ito K, Shibuya K, Saji T, Sato Y, Sata T.: Lack of human herpesvirus 8 infection in lungs of Japanese patients with primary pulmonary hypertension. J Infect Dis 191: 743-745, 2005.

12) Morikawa S, Sakiyama T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda A, Kurane I, Maeno G, Kimura J, Hirama C, Yoshida T, Asahi-Ozaki Y, Sata T, Kurata T and Kojima A: An attenuated LC16m8 smallpox vaccine: Analysis of full-genome sequence and induction of immune protection. J Virol 79: 11873-11891, 2005.

13) Katano H, Hogaboam CM. Herpesvirus-associated pulmonary hypertension? Am J Resp Crit Care Med. 172:1485-1486, 2005.

14) Katano H, Cohen JI. Perforin and lymphohistiocytic proliferative disorders. Br J Haematol. 128:739-750, 2005.

15) 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 the Tsukuba Primate Center, Japan. Microbes and Infection 7: 126-131, 2005.

16) Hasegawa H, Ichinohe T, Strong P, Watanabe I, Ito S, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T.: Protection against influenza virus infection by intranasal administration of HA vaccine with chitin microparticles as an adjuvant. J Med Virol, 75:130-136, 2005.

17) Ichinohe T, Watanabe I, Ito S, Fujii H, Moriyama M, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, and Hasegawa H: Synthetic double-stranded RNA [poly (I:C)] combined with mucosal vaccine protects against influenza virus infection. J Virol, 79:2910-2919, 2005.

18) Tanaka M, Nishiyama Y, Sata T, Kawaguchi Y.: The role of protein kinase activity expressed by the UL13 gene of herpes simplex virus 1: The activity is not essential for optimal expression of UL41 and ICP0. Virology 341: 301-312, 2005.

19) Nozawa N, Kawaguchi Y, Tanaka M, Kato A, Kato A, Kimura H, Nisiyama Y.: Herpes simplex virus type 1 UL51 protein is involved in maturation and egress of virus particles. J Virol 79: 6947-6956, 2005.

20) Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JAM, Yokoyama M, Nii-Trebi N, Ugly-Kwame E, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, Sata T, Tokunaga K.: HIV-1 proteases from drug-naive West African patients are differentially less susceptible to protease inhibitors. Clin Infect Dis 41:243-51, 2005.

21) Kinomoto M, Yokoyama M, Sato H, Kojima A, Kurata T, Ikuta K, Sata T, Tokunaga K.: Amino acid 36 in the human immunodeficiency virus type 1 gp41 ectodomain controls fusogenic activity: implications for the molecular mechanism of viral escape from a fusion inhibitor. J Virol 79:5996-6004. 2005.

22) Li YG, Iwabu Y, Warachit J, Kinomoto M, Ibrahim MS, Tsuji S, Mukai T, Kameoka M, Tokunaga K, Sata T, Ikuta K.: Interleukin-4 up-regulates T-tropic human immunodeficiency virus type 1 transcription in primary CD4(+) CD38(+) T-lymphocyte subset. Microbiol Immunol 49:155-65. 2005.

23) Shimura M, Tokunaga K, Konishi M, Sato Y, Kobayashi C, Sata T, Ishizaka Y.: Premature sister chromatid separation in HIV-1-infected peripheral blood lymphocytes. AIDS 19:1434-38. 2005.

24) 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. 114:32-8, 2005.

25) Furuoka H, Yabuzoe A, Horiuchi M, Tagawa Y, Yokoyama T, Yamakawa Y, Shinagawa M, Sata T. : Effective antigen-retrieval method for immunohistochemical detection of abnormal isoform of prion proteins in animals. Acta Neuropathol (Berl). 109:263-71, 2005.

26) Ueda M, Ashida M, Kunisada M, Ichihashi M, Sata T, Matsukura T.: Bowen's carcinoma of the scrotal skin associated with human papillomavirus type 82. J Eur Acad Dermatol Venereol. 19:232-5, 2005.

27) Saijo M, Niikura M, Maeda A, Kurane I, Sata T, Kurata T, Morikawa S.: Characterization of monoclonal antibodies to Marburg virus nucleoprotein (NP) that can be used for NP-capture enzyme-linked immunosorbent assay J Med Virol 76: 111-118, 2005.

28) Kato M, Igarashi H, Takeda A, Sasaki Y, Nakamura H, Kano M, Sata T, Iida A, Hasegawa M, Horie S, Higashihara E, Nagai Y, Matano T.: Induction of Gag-specific T-cell responses by therapeutic immunization with a Gag-expressing Sendai virus vector in macaques chronically infected with simian-human immunodeficiency virus. Vaccine. 23: 3166-73, 2005.

29) Ohnishi K, Sakaguchi M, Kaji T, Akagawa K, Taniyama T, Kasai 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. Jpn J Infect Dis. 58: 88-94, 2005.

30) 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-κB activity in unconditioned NOD/SCID/γcnull mice. Cancer Sci 96: 466–473, 2005.

31) Kohno S, Luo C, Goshima F, Nishiyama Y, Sata T, Ono Y.: Herpes simplex virus type 1 mutant HF10 oncolytic virotherapy for bladder cancer. Urology 66:1116-1121, 2005.

32) Yano A, Onozuka A, Asahi-Ozaki Y, Imai S, Hanada N, Miwa Y, Nisizawa T: An ingenious design for peptide vaccines. Vaccine 23:2322-2326, 2005.

2. 和文発表

1) 田中洋輔、長住留美、青柳恵美子、宮本豊一、二階亮、秋田博伸、和田昭仁、齋藤典子: アメーバ性大腸炎と Brachyspira pilosicoli による腸管スピロヘータ症を合併した１例　－アメーバ性大腸炎と腸管スピロヘータ症の合併例－　日本臨床微生物学雑誌　5:187-195, 2005.

2) 佐多徹太郎、佐藤由子、中島典子：肺感染症の病理 ウイルス肺炎。病理と臨床　23:516-527, 2005.

3) 中島典子、佐多徹太郎：SARS（重症急性呼吸器症候群）（１）肺病変と病態。遺伝　59:43-45, 2005.

4) 一戸猛志、長谷川秀樹：二重鎖 RNA[poly(I:C)]をアジュバントとした経鼻インフルエンザワクチン　臨床免疫、43:647-651, 2005.

5) 田中道子、片野晴隆、佐多徹太郎：HHV-6,7,8 感染の実際。.臨床と研究 82: 1525-1529, 2005.

6) 岩田奈織子、佐多徹太郎：BSE（牛海綿状脳症）とvCJD（変異型クロイツフェルド・ヤコブ病)。遺伝 59: 63-69, 2005.

7) 佐多徹太郎：B ウイルス病。感染症予防必携　第２版　日本公衆衛生協会。pp324-5, 2005.

8) 佐多徹太郎：SARS コロナウイルス検出の新たな手法と病理所見。メディカルトリビューン 2005 年 3 月 10 日.

9) 岩田奈織子、佐多徹太郎：BSE と変異型 CJD。ネオエスカ「感染症・アレルギーと生体防御」同文書院 pp269-274, 2005.

10) 佐多徹太郎：バイオハザードの実例にみる問題点。臨床と微生物 32: 543-548, 2005.

11) 佐多徹太郎：生物テロ。テロに対する法医学の対応。法医学 59:119-125, 2005.

12) 佐多徹太郎：生物テロと医師の役割。日本皮膚科学会雑誌 115:2086-2089, 2005.

Ⅱ．学会発表

1. 国際学会

1) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Asahi-Ozaki Y, Sato Y, Harashima A, Morikawa S, Saijo M, Itamura S, Saito T, Odagiri T, Tashiro M, Ami Y, Sata T. Pathological and virological analyses of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infections in experimental animals. Xth International Nidovirus Symposium: Toward Control of SARS and Other Nidovirus Diseases (2005.6. Colorado, USA)

2) Fujisawa T, Inui A, Sogo T, Abe K: Hepatitis B virus genotype in Japanese children- present and future. 9th Congress of the Asian Pan-Pacific Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. June 2005, Kuala Lumpur, Malaysia

3) Nozawa N, Katano H, Nakamura K, Fukui Y, Yamamoto Y, Tsutsui Y, Kurane I, Inoue N: Construction and application of a recombinant guinea pig cytomegalovirus expressing green fluorescent protein for analyses of the mechanisms of congenital cytomegalovirus infection. 30th International Herpesvirus Workshop, Turku, Finland, July, 2005.

4) Katano H, Sato Y, Kanno T, Kano M, Sata T. Inflammation increases susceptibility of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in the lung of patients with HIV-1 infection. 30th International Herpesvirus Workshop. (Turku, Finland) 2005.7.

5) Kanno T, Sato Y, Sata T, Katano H. Expression of HHV-8 (KSHV)-encoded K10 and K11 proteins, homologues of interferon regulatory factors. 30th International Herpesvirus Workshop. (Turku, Finland) 2005.7.

6) Katano H, Sato Y, Hoshino S, Mori S, Sata T, Weiden MD, Hoshino Y. Integration of HIV-1 caused STAT3-associated B cell lymphoma in an AIDS patient. 2005 Internatioal meeting of the Institute of Human Virology. (Baltimore, MD, USA) 2005.8.

7) Hasegwa H, Sawa H., Lewis M., Orba Y., Sata T., Kurata T., Nagashima K., Sheehy N., Hall W.W.: Development of a Model of Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (ATLL). 12th International Conference on Human Retrovirology Montego Bay, Jamaica June 22-25, 2005

8) Tanaka M, Nishiyama Y, Sata T, Kawaguchi Y.: The role of protein kinase activity expressed by the UL13 gene of herpes simplex virus type 1: the activity is not essential for optimal expression of ICP0 and UL41. 30th International Herpesvirus Workshop, July-August 2005, Finland.

9) Tokunaga K, Kinomoto M, Sakamoto Y, Tatsumi M, Shimura M, Ishizaka Y, Kurata T, and Sata T: Differential anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif in a subtype-dependent manner. 2nd Dominique Dormont International Conference on "Host pathogen interactions in chronic infections". Paris, France, December 2005.

10) Ueno T, Ogawa-Goto K, Katano H, Kurata T, Sata T and Irie S 12th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection "A novel real-time monitoring system of HCMV infected cells by using a GFP-PML expressing cell line" 2005/10/6-8, Osaka

11) Ogawa-Goto K, Ueno T, Tanaka K, Tanaka K, Sata T and Irie S "A novel microtubule binding and bundling domain of a coiled-coil ER protein, p180/ribosome receptor" The American Society for Cell Biology 2005 Annual Meeting

2. 国内学会等

1) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎：SARS コロナウイルスの病原性と発症機序の

解明。第 94 回日本病理学会総会（横浜）2005.4.

2) 片野晴隆、柳澤夕佳、渡辺慎哉、菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎：Primary effusion lymphoma(PEL)の発症機構に関する研究. 第 94 回日本病理学会総会 （横浜）2005.4

3) 菅野隆行、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 94 回日本病理学会総会 （横浜）2005.4

4) 中島典子、花木賢一、樋口好美、佐多徹太郎：新しい免疫組織化学によるウシ脳切片からの BSE プリオンの検出。第 94 回日本病理学会総会、2005 年 4 月、横浜。

5) 岩田奈織子、中島典子、吉田洋明、飛梅　実、佐多徹太郎：分化誘導前後のサル神経幹細胞の特徴. 第 94 回日本病理学会(横浜) 2005. 4.

6) 杉田暁大、南條博、高橋正人、吉田誠、川村公一、佐多徹太郎、新井信隆、増田弘毅：慢性腎不全とスギヒラタケとの関連が疑われる急性脳症の一剖検例。第 94 回日本病理学会総会、2005 年 4 月、横浜。

7) 長谷川秀樹、澤洋文、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/リンパ腫（ATLL）発症モデルマウスの作成　第 94 回日本病理学会　2005 年 4 月　横浜

8）菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎、片野晴隆. HHV-8 のコードする Interferon Regulatory Factor(IRF)ホモログ K10 の細胞内局在と結合蛋白の同定。第 20 回ヘルペスウイルス研究会（名古屋）2005.6

9) 尾崎泰子、佐藤由子、菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆. HHV-8 関連疾患におけるウイルス量と感染細胞数. 第 20 回ヘルペスウイルス研究会（名古屋）2005.6

10）片野晴隆、佐藤由子、菅野隆行、加納基史、佐多徹太郎. エイズ患者肺における慢性炎症を基盤としたカポジ肉腫発症機構. 第 20 回ヘルペスウイルス研究会（名古屋）2005.6

11) 田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口　寧：HSV-1 細胞侵入過程におけるテグメントリリース可視化の試み。第 20 回ヘルペスウイルス研究会、2005 年 6 月、名古屋

12) 上野智規、後藤希代子、片野晴隆、佐多徹太郎、入江伸吉. GFP-PML 発現細胞株を用いた HCMV、HSV-1 感染の検出系－HSV-1 の新規検出系の開発を目指して－. 第 20 回ヘルペスウイルス研究会 (名古屋) 2005.6.

13) 森林敦子、栗原　毅、津田良夫、斎藤典子、土田耕三：チカイエカ幼虫、蛹、成虫に見られる緑青の着色物質について。日本衛生動物学会大会　2005 年 6 月、北海道大学学術交流会館（札幌）

14) 岩田奈織子、佐藤由子、樋口好美、飛梅　実、永田典代、長谷川秀樹、中村優子、萩原健一、山河芳夫、佐多徹太郎：国内 BSE 牛 3 例の体内プリオン分布. 2005 年プリオン研究会 (山形) 2005. 8.

15) 中島典子、佐多徹太郎：サル胎児脳由来の progenitor cells を用いた中枢神経系における SIV の感染動態の研究。「サルを用いた感染症研究の現状と今後」会議　（京都）2005 年 9 月

16) 長谷川秀樹、澤洋文、佐多徹太郎、長嶋和郎、ウイリアム・ホール：HTLV-1 tax トランスジェニックマウスにおける T 細胞性白血病/リンパ腫の発症、第 64 回日本癌学会学術総会 2005 年 9 月　札幌　（シンポジウム・招待）

17) 一戸猛志、尾崎泰子、板村繁之、田村慎一、田代眞人、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹　アジュバント併用経鼻 H5N1 インフルエンザワクチンの有効性の検討　第 9 回日本ワクチン学会学術集会　平成 17 年 10 月　大阪

18) 田村慎一、尾崎泰子、長谷川秀樹、谷本武史、鈴木雄次郎、山本三郎、佐多徹太郎、倉田毅　経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発　第 9 回日本ワクチン学会学術集会　平成 17 年 10 月　大阪

19) 石井孝司、横田恭子、大西和夫、竹森利忠、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、水谷哲也、田口文広、田代眞人、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 SARS ワクチンとしての検討　第 9 回日本ワクチン学会学術集会　平成 17 年 10 月　大阪

20) 永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、加藤篤、網康至、田代眞人、小船富美夫、倉田毅、佐多徹太郎　弱毒生おたふくかぜワクチンの神経毒力試験に用いる動物モデルの開発－各種実験動物におけるムンプスウイルスの感受性についての病理学的検討－第 9 回日本ワクチン学会学術集会　平成 17 年 10 月　大阪

21) 乾あやの、藤澤知雄、阿部賢治：B 型肝炎母子感染防止事業前後における HBV genotype の変遷. 第 9 回日本肝臓学会大会ワークショップ、2005 年 10 月、神戸

22)Ueno T, Tanaka K, Tanaka K, Sata T, Irie S and Ogawa-Goto K, “p180/ribosome receptor could mediate a link between microtubules and the ER membrane” 第 77 回日本生化学会大会 10 月 19 日−22 日 神戸

23) 上野智規、片野晴隆、栄鶴義人、倉田毅、佐多徹太郎、入江伸吉、後藤希代子. GFP-PML 発現細胞株を用いた HCMV 薬剤感受性試験法の確立. 第 53 回日本ウイルス学会総会 （横浜）2005.11.

24) 上野智規、片野晴隆、佐多徹太郎、入江伸吉、後藤希代子. GFP-PML 発現細胞株を用いた HSV 感染細胞の新規検出系の開発. 第 53 回日本ウイルス学会総会 （横浜）2005.11.

25) 野沢直樹, 片野晴隆, 筒井祥博, 倉根一郎, 井上直樹.モルモットサイトメガロウイルス感染動物モデルを利用するための分子生物学的方法の構築と緑色蛍光蛋白質を発現する組換えウイルスの作製. 第 53 回日本ウイ

ルス学会総会 （横浜）2005.11

26) 加納基史、菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆. vIL-6 欠損 KSHV 感染リンパ腫細胞株の解析. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2005.11.

27) 片野晴隆、佐藤由子、星野聡美、立川夏夫、岡 慎一、森下保幸、William N Rom、森 茂郎、佐多徹太郎、Micheal D Weiden、星野仁彦. HIV のインテグレーションにより発症した STAT3 関連リンパ腫の一例. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2005.11.

28) 菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎、片野晴隆. KSHV(HHV-8)のコードする Interferon Regulatory Factor (IRF)ホモログ K10 の細胞内局在と結合蛋白の同定. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2005.11.

29) 尾崎泰子、佐藤由子、菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆. KSHV (HHV-8)関連疾患におけるウイルス量と感染細胞数. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2005.11.

30) 田中道子、片野晴隆、佐多徹太郎、川口 寧：単純ヘルペスウイルス細胞侵入過程におけるテグメントリリース可視化の試み。第 53 回日本ウイルス学会、2005 年 11 月、横浜。

31) 村上恭子、石井孝司、吉崎佐矢香、相崎英樹、田中恵子、小原道法、勝二郁夫、佐多徹太郎、宮村達男、鈴木哲朗：三次元肝細胞培養システムによる C 型肝炎ウイルス(HCV)粒子形成とその応用。第 53 回日本ウイルス学会、2005 年 11 月、横浜。

32) 有田峰太郎、清水博之、永田典代、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 温度感受性弱毒株の神経毒性および抗原性に関する解析。第 53 回日本ウイルス学会、2005 年 11 月、横浜。

33) 北川善紀、飛梅 実、前田才恵、高橋秀宗、佐多徹太郎：FRET による HIV-1 gag と topoisomerase I 相互作用の解析 第 53 回 日本ウイルス学会総会 （横浜）2005.11.

34) 原正幸、中島典子、佐多徹太郎、向井鐐三郎：SRV/D の組織分布と感染源についての解析。第 53 回日本ウイルス学会学術集会 （横浜）2005 年 11 月

35) 中島典子、岩田奈織子、吉田洋明、佐多徹太郎：サル免疫不全ウイルス(SIV)の神経グリア細胞およびミクログリア細胞における感染動態。第 53 回日本ウイルス学会学術集会 （横浜）2005 年 11 月

36) 一戸猛志、田村慎一、千葉丈、小田切孝人、田代眞人、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹 NKT 細胞活性化による粘膜免疫応答の誘導と高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するワクチンへの応用 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 20－22 日 横浜

37) 西條政幸、網康至、永田典代、須崎百合子、緒方ももこ、福士秀悦、水谷哲也、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 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 横浜

38) 山本典生、松本武久、森川茂、長谷川秀樹、永田典代、山本直樹 In silico screening による SARS コロナウイルス増殖抑制薬剤の同定 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 横浜

39) 永田典代、岩田奈緒子、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、ラットを用いた継代による SARS-CoV の病原性の変化 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 横浜

40) 伊波英克、長谷川秀樹、川嶋太郎、田口慎也、山城哲、西園晃、田中勇悦、Jeang Kuan-The, Hall William W Hsp90 阻害剤によるヒト T 細胞白血病ウイルス癌遺伝子産物 Tax の機能抑制 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 20－22 日 横浜

41) 岩田奈緒子、佐藤由子、樋口好美、永田典代、長谷川秀樹、中村優子、萩原健一、山河芳夫、佐多徹太郎 国内で確認された BSE 牛 3 例の脳および全身諸臓器における異常型プリオンタンパク質(PrPSC)の分布 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 20－22 日 横浜

42) 川口晶、一戸猛志、澤洋文、岡田義昭、千葉丈、倉田毅、佐多徹太郎、Hall William 長谷川秀樹 マウス ATL 細胞におけるケモカインの発現の解析 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 20－22 日 横浜

43) 長谷川秀樹、澤洋文、一戸猛志、川口晶、大場靖子、佐多徹太郎、倉田毅、長嶋和郎、William W Hall、SCID マウスを用いた T 細胞白血病発症マウスの解析 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 20－22 日 横浜

44) 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、水谷哲也、森川茂、田口文広、田代眞人、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 SARS ワクチンとしての検討 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 2005 年 11 月 20－22 日 横浜

45) 浅沼秀樹、副岩達哉、田村慎一、倉田 毅、佐多徹太郎、清野 宏：pFL-CpG アジュバントを用いた経鼻接種インフルエンザワクチンの検討。第 53 回日本ウイルス学会、2005 年 11 月、横浜。

46) 木ノ本正信、志村まり、石坂幸人、倉田毅、佐多徹太郎、徳永研三：Live cell imaging による HIV-1 粒子の細胞内動態解析. 第 53 回日本ウイルス学会総会（横浜）2005. 11.

47) 飛梅 実、高橋秀宗、松田道行、佐多徹太郎、宿主細胞シャペロン蛋白質 Crm1 と HIV-1 遺伝子産物 Rev の細胞内での会合をモニターするプローブの開発 第 53 回ウイルス学会総会、横浜、2005 年 11 月

48) 片野晴隆、佐藤由子、星野聡美、立川夏夫、岡 慎

一、森下保幸、William N Rom、森　茂郎、佐多徹太郎、Micheal D Weiden、星野仁彦. HIV のインテグレーションにより発症した STAT3 関連リンパ腫. 第 19 回日本エイズ学会学術集会（熊本）2005.12.

49) 徳永研三、木ノ本正信、坂本優子、巽正志、志村まり、石坂幸人、倉田毅、佐多徹太郎：HIV-1 Vif の細胞性因子 APOBEC3G に対するサブタイプ依存的抑制活性の解析．　第 28 回日本分子生物学会（福岡）2005. 12.

50) 志村まり、立和名博昭、徳永研三、木村圭志、依田欣哉、胡桃坂仁志、佐多徹太郎、花岡文雄、石坂幸人：HIV-1 Vpr によるヘテロクロマチン蛋白消失と早期姉妹染色体分離．第 28 回日本分子生物学会（福岡）2005. 12.

51) 田口崇、志村まり、木ノ本正信、徳永研三、佐多徹太郎、石坂幸人：HIV-1 アクセサリー遺伝子 vpr による M 期の異常．第 28 回日本分子生物学会（福岡）2005.

8．免 疫 部

部 長　竹 森 利 忠

概　要

生体防御の主要な役割を果たす免疫システムは、異なった組織に局在する多数の細胞の協同作用により維持される。従って免疫部において遂行する業務、研究には、その多面性に対応するため、また明確な結論を導きだすために、幅広い領域にわたる有能な免疫学の専門家を必要とする。この形態の維持は、研究費および有能な人材の確保、および、周囲の理解を必要とする。

平成１７年度、免疫部では体外診断薬委員会運営、体外診断薬検査業務、国際協力、検定検査の免疫学的評価、日本脳炎ワクチン副反応の免疫学的評価に多くの部員が参加し、多くの領域で definitive な結果を得た。また体外診断薬検査において、検査の際に外国の市販の血清パネルの購買に頼らず我々独自の血清パネルを整備することが望ましく、この作業に着手した。

研究においては、不活化全粒子インフルエンザワクチン接種により IFNα が産生され、その結果白血球数減少が誘導されること、UV とホルマリンの両者で不活化された全粒子 SARS-CoV が有効なワクチン効果を示すことを動物モデルを用いて明らかにし、さらに新規結核ワクチンの先駆的方向が示され、HIV 感染による免疫不全発症要因が明確な形で提示され、記憶 B 細胞選択に関する主要因子の一つが明らかにされた。また、新型インフルエンザウイルスプロトタイプワクチンの有効性評価に関する研究、劇症型溶連菌感染における宿主防御に関する研究、抗酸菌由来新規免疫誘導遺伝子の同定を目的とした研究が開始された。

免疫部の活動に関して感染研内で有形無形の論議があり、結核部に戻れば良いなどの意見もあり悩まされもした。免疫学の研究者としての質の高い研究活動と内外への発信、感染研の一員として行政的活動への積極的かつ主体性を持った参加に心を砕き、部の発展を祈ったが、果たしてこの願いは成就したのであろうか。ともあれ、長年にわたり多くのディスカッションと多大なベンチワークと努力を持って、種々の問題の解決に勤しんだ職員各位に改めて感謝の意を表する。

人事では、平成１８年３月に竹森利忠部長、赤川清子室長が定年退官、橋本修一、加地友弘、倉岡雅征研究員が退職した。また１２年間免疫部事務を補佐した辻本みゆき非常勤職員が退職した。赤川清子室長は結核部時代を含め３０年以上の長きにわたって国立予防衛生研究所／感染研に勤務され、免疫部の発展に尽力された。

業　績

調査・研究

I. 感染免疫に関する研究

１．ウイルス感染免疫

（１）C 型肝炎ウイルス

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発表した。(J Viral Hepatitis in press)　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目的で、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 が有用か検討した。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%であることから short RNA 検出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（日大医学部、感染研協力研究員）、土方美奈子（国立国際医療セ）、吉倉　廣（ＦＡＯ／ＷＨＯ合同食品規格計画：CODEX））

（２）ヒト免疫不全ウイルス（HIV）

ア. HIVnef遺伝子特異的なshRNAを用いたHIV-1 増殖制御効果

RNA interference(RNAi)による遺伝子特異的なエイズ治療法の開発をめざし、レンチウイルスベクターによる shRNA 発現系を確立した。標的遺伝子として Nef が 3’LTR に重複する Nef 遺伝子の 366 番目の領域の shNef366 を選択し、その RNAi 効果を U937 細胞及び初期培養マクロファージで解析した。その結果、shNef366 はこれらの細胞における HIV-1 増殖を抑制するのみならず、潜伏感染からの活性化も抑制することを明らかにした。更に、Nef

により増強誘導されるマクロファージ由来ケモカイン MIP-1ß の産生抑制効果も認め、shNef366 発現レンチウイルスベクターを用いることにより Nef が関わる病態形成の制御が可能であることが示唆された。(山本拓也（東大医科研博士課程・研究生)、三好浩之（理研バイオリソースセンター)、山本典生（東京医歯大・微生物)、山本直樹（エイズ研究センター)、井上純一郎（東大医科学研究所・ウイルス制御)、横田恭子）

イ．HIV-1 感染における特異的 T 細胞の活性化評価システムの確立

T 細胞の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インディケーターレンチウイルスを作製した。静止期にある PBMC にインディケーターレンチウイルスを感染させると同時にスーパー抗原である SEB で T 細胞を活性化すると、感染２日後には 50%以上のＴ細胞が GFP を発現していた。更に増殖期にある T 細胞では、90%以上の細胞に遺伝子導入が可能であることが示された。従ってこのインディケーターレンチウイルスを用い、HIV-1 感染者の抗原特異的なＴ細胞の動態を多重染色フローサイトメーター(FACS)解析することが可能であることが示唆された。(横田恭子、山本拓也（東大医科研博士課程・研究生)、Brigitte Autran (パリ大学 Pitie Salpetriere Hospital)）

ウ．HIV-Nef 発現による免疫不全発症機構の解明

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マウス(TGM)と、コクサッキー・アデノウィルス受容体 TGM をかけあわせた double TGM を作成した。このマウスより精製した CD4+T 細胞に Nef 発現アデノウィルス、CD4 の発現抑制を起こさない Nef 変異体発現ウイルス(nefΔCD4)を感染させ、FACS を用いて Nef 発現、NefΔCD4 発現、および Nef 非発現 T 細胞を分離後個体に移入し、T 細胞機能を検討した。その結果、Nef 発現細胞は、非発現細胞と比べ抗原刺激に対する活性化が低下し、所属リンパ節への移動も抑制された。さらに、Nef 発現により、二次応答における CD4+T 細胞のヘルパー機能が低下することが示された。しかしこれらの T 細胞の異常は Nef による CD4 発現抑制とは無関係であった。これらの結果から、Nef 発現により CD4+T 細胞の抗原刺激に対する活性化が低下し免疫不全の要因の一つとなる可能性が示唆された。(藤猪英樹（協力研究員)、阿戸学、高橋宜聖、橋本修一、加地友弘、竹森利忠）

エ．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

昨年度 M-tropic HIV-1 に感受性を示すヒト単球由来マクロファージにおいてエリスロマシン(EM)誘導体の一部にウイルス増殖抑制作用があることを報告したが、今回その作用機序について検討した。その結果、ウイルス産生を認めた EM 誘導体を添加した群では、対照群と同様に Hck 蛋白の発現が高く、高分子型 C/EBPb 蛋白の発現を認めるとともに、p38MAPK の強い燐酸化が認められた。一方ウイルス産生の抑制作用を示した EM201 および EM703 を添加した群では、Hck 蛋白の発現が低く、低分子型 C/EBPb 蛋白の発現を強く認めるとともに、p38MAPK の燐酸化の抑制と ERK1/2 の強い燐酸化が認められた。また、p38MAPK の燐酸化阻害剤である SB203580 もウイルスの増殖を抑制した。しかし、ERKI/II の上流の MEK の阻害剤である PD98059 は抑制作用を示さなかった。これらの結果より、M-tropic HIV-1 の増殖抑制には宿主側細胞における p38MAPK の燐酸化の抑制と ERK1/2 の燐酸化が重要な役割を果た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）

（３）新型インフルエンザウイルス

ア．H5N1 型不活化全粒子ワクチンにより惹起される免疫応答の解析

新型インフルエンザの大流行に備え、感染防御効果の優れたワクチン開発が急務とされる。しかし流行が予測される H5N1 型の不活化全粒子ワクチンは、現行のワクチンに比べ抗体惹起能が劣る可能性が示唆され、その原因の究明と免疫原性の改善を促す技術開発が必要である。本研究は、H5N1 型ワクチン株（NIBRG-14 株）と内部タンパクが同一な H1N1 型対照株（PR8）を用い自然免疫賦活能を調べる目的で IFN-α産生誘導能を比較した。その結果、ワクチン接種後短時間内で誘導される IFN-α産生量が H5N1 型のワクチン株で著明に低いことが明らかとなった。(高橋宜聖、阿戸学、倉岡雅征、二宮　愛（ウイルス３部)、小田切孝人（ウイルス３部)、田代眞人（ウイルス３部)、竹森利忠）

（４）重症急性呼吸器症候群（SARS-CoV）

ア．感染によるアポトーシス感受性についての解析

SARS-CoV は VeroE6 細胞で効率よく増殖しアポトーシスを誘導する。我々は SARS-CoV による CPE 効果を規定する細胞因子を明らかにするため、VeroE6 の CPE のないクローン(CP-)と有るクローン(CP+)を確立した。高い

moi(＞0.1)で感染 48 時間後のウイルス産生量は両クローンで大差がない。低い moi(＜0.001)では、CP(-)は感染 4 日後にウイルス産生が最大に達した。(CP-)は ACE2 の発現が低いことから、細胞内に侵入した初期ウイルス量がウイルス増殖速度を決定していると考えられる。しかし最終的な CPE の有無はウイルス産生量ではなく、ウイルスの増殖過程でウイルスと作用する何らかの細胞側の因子が関与することが示唆された。(横田恭子、森島貴義(東京医薬専門学校・実習生)、高木弘隆（バイオセーフティー管理室)、山本拓也、大島正道、水谷哲也（ウイルス 1 部)、森川茂（ウイルス 1 部))

２．細菌

（１）結核菌

ア. 感染ヒト単球由来マクロファージにおける Hck 及び C/EBPb の発現

ヒト単球由来 M 型 Mf は、結核菌の殺菌を、また GM 型Mf は結核菌の増殖を促す。今回、両 Mf におけるチロシンカイネース Hck 及び転写因子 C/EBPf の発現と Mf の結核菌殺菌及び増殖抑制活性の活性化との関連を検討した。その結果、M 型Mφ は、Hck を強く発現しているが、結核菌感染によりその発現はさらに増強が認められた。また、C/EBPβ の発現は、Large アイソフォームの発現が主で Small アイソフォームの発現はほとんど認められないが、結核菌感染により Large および Small の両者の強い発現増強が誘導された。一方、GM 型Mφ は Hck の発現は弱く、C/EBPβ は small アイソフォームの強い発現を認めるが、いずれの蛋白も結核菌感染によって発現変化は認められなかった。しかし、IL-10 処理 GM 型Mφ では、結核菌感染により未処理 GM 型Mφ と異なり Hck および C/EBPβ の強い発現増強を認めた。これらのことより、Hck および C/EBPβ が、Mφ の結核菌の殺菌作用あるいは増殖抑制作用に重要な役割を果たしていることが強く示唆された。(赤川清子、山崎利雄（細菌第一部))

イ．トランスポゾンを用いた抗酸菌由来新規免疫誘導遺伝子の同定

生菌による免疫誘導は、死菌や菌構成成分の投与と比較して強力で、かつ長期にわたるが、未だその分子機構は不明である。本研究は、挿入配列として既知のマウス T 細胞特異的抗原ペプチドをコードするトランスポゾンを挿入した非結核抗酸菌 *Mycobacterium fortuitum* 変異株をスクリーニングし、最終的には宿主免疫応答を促進するのに必要な結核菌遺伝子を同定することを目的とする。マウス CD8 陽性 T 細胞特異的抗原ペプチド群のデータベースを作成し、ペプチドを *M. fortuitum* のコドン読み枠に変換した DNA を含むトランスポゾン配列を精製した。今後、異なるペプチドを発現する変異株群をマウスに感染させ、宿主免疫誘導に障害を持つ変異株のトランスポゾン挿入部位を同定することによって、宿主免疫を修飾する新規抗酸菌遺伝子を同定する予定である。(阿戸学、大西眞（細菌第一部)、渡邉治雄 (細菌第一部)、竹森利忠

（２）劇症型溶連菌

ア．感染における宿主防御機構修飾

A 群溶連菌 (GAS)の劇症型感染は致死率の高い病態を形成する。我々は、劇症株による重症化が宿主の防御機構の障害に依存する可能性を考え、GAS M49 株の中で劇症型感染分離株と通常感染分離株を、GAS に対する主要な防御担当細胞であるヒト好中球、または線維芽細胞株に in vitro で感染させ、貪食能、遊走能、殺菌能をそれぞれ比較解析した。M49 型劇症株の好中球の貪食、遊走に対する阻害作用、また、線維芽細胞株の殺菌抵抗性に関しては、株間の差が大きく、臨床像につながる劇症株の一般的傾向は抽出できなかった。一方、好中球による劇症株の殺菌能は、通常株と比較して有意に障害されていることが明らかとなった。以上より、劇症型感染を引き起こす M49 型 GAS は、好中球に対する殺菌抵抗性を通じて重症化する可能性が示唆された。(阿戸　学、池辺忠義（細菌第一部)、渡邉治雄（細菌第一部)、竹森利忠)

（３）プリオン

ア．免疫系における増殖・伝播機構の研究

食物摂取により生体に侵入した異常プリオンが神経症状を引き起こす過程で免疫系の介在が必須であることが知られている。この感染初期に免疫系でおこる異常型プリオンの伝播機構を知る目的で、プリオン病発症過程に伴う免疫系構築細胞への異常型プリオン蓄積の定量と免疫担当細胞培養系を用いた異常プリオン伝播の試験管内モデルシステムの構築を行っている。BSE トランスジェニックマウス・モデルにおいて、感染後期には、濾胞樹状細胞（FDC）に加えて脾臓 B 細胞にも高濃度で異常型プリオンが蓄積することを免疫学的手法を用いて確認した。この異常型プリオン保持 B 細胞を、ハイブリドーマ法を用いて多数株化した。また、感染マウス脾臓から上皮・内皮細胞、マクロファージ様細胞、FDC 様細胞の株化を進めており、異常プリオン形成に関与する免疫関連因子を探索している。（大西和夫、山口沙由里、樋口好美（感染病理部）、佐多徹太郎（感染病理部）、山河芳夫（細胞化学部））

（４）原虫・寄生虫

ア．内蔵リューシュマニア症防御免疫成立機構の解析

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、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 の活性化と DC からの IL-12 産生が障害された結果、エフェクター期での抑制性サイトカイン IL-10 の産生が亢進し、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、Soombul Zubairi、Paul Kaye(London School of Hygiene and Tropical Medicine)

イ．マラリア感染防御に関与する免疫細胞の同定

マラリア感染防御に必須な免疫因子を同定することを目的とし、マウスマラリア *Plasmodium chabaudi* 感染モデルを用いて、紫外線(UV)照射による抗マラリア免疫応答の抑制機構を解析した。その結果、UV による感染感受性の亢進には脾臓 myeloid 系細胞の機能修飾が関与している可能性が示唆された。一方、UV によるマラリア感染感受性の亢進は、抑制性サイトカイン IL-10 非依存性であることが、IL-10 KO マウスを用いた実験から確定された。今後、この UV によるマラリア感染感受性責任分子の究明が課題である。（山本紀一（協力研究員）、高橋宜聖、藤猪英樹（協力研究員）、阿戸　学、竹森利忠）

ウ．住血吸虫感染防御に関する研究

マラリアに次ぐ重要な国際寄生虫感染症である住血吸虫症の感染防御を誘導する感作方法の確立とワクチンへの応用を目指している。本症は、治療後も何度も再感染をする、獲得免疫が獲られ難い疾患の１つで、感染防御ワクチンの作製が望まれている。実験は、初めに弱毒化幼虫作製が試みられ、DNA 合成阻害剤１種に、マウスへの感染は成立するが発症はしない幼虫の作製を可能にするものの有る事が判明。次にこの弱毒幼虫感作マウスに、住血吸虫の自然感染を行い、感染防御効果が調べられた。結果は、強い防御効果が得られた。この防御効果をより強くする目的で、幾つかのアジュバント併用実験が更に行われ、BCG、PPD には、感作増強効果は認められなかったが、サポニンには増強効果が認められた。この効果をさらに強く（９０－１００%近く）する目的で FK565（藤沢製薬）、水酸化アルミニウムゲルなどの混合アジュバントの実験が進行している。（平山中己、朝日博子（寄生動物部）、吉成正裕（横浜市立大学）、南　陸彦 (横浜市立大学)、金澤　保（産業医科大学）

II．ワクチンに関する研究

１．抗結核菌ワクチン

（１）BCG 発現のための協力プロモーターの検索

BCG での外来性抗原の発現を高めるため、頻繁に使用されている BCG のヒートショック蛋白（HSP６０）プロモーター以外の新規プロモーターをスメグマ菌より検索した。形の如く、*Mycobacterium smegmatis* よりゲノム DNA を抽出し、５００−１２００bp の断片を、xyl 酵素遺伝子の上流に挿入し、プロモーターライブラリーを作成した。このライブラリーで、スメグマ菌および BCG を形質転換し、BCG の HSP６０プロモーターとほぼ同程度の新しいスメグマ菌のプロモーターをクローニングした。このプロモーターは、BCG 内でインターフェロンーガンマーの発現を HSP６０プロモーターと同程度発現することを確認した。（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））

（２）リコンビナント BCG のサルでの抗結核防御効果の検討

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。我々は、BCG 東京株に Mpt64 抗原とサル IFN-γの両者を発現するリコンビナント BCG を作成し、サルを用いた抗結核ワクチン効果を、BCG 東京株と比較した。その結果、リコンビナント BCG をサルに一回投与した群では、BCG 東京株（１回）とほぼ同程度か若干よい効果があった。リコンビナント BCG の３回投与では、BCG 東京株（一回）より強い防御効果を示した。（谷山忠義、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）リコンビナント BCG（Ag85A）と Ag85A ペプチドの投与による強い抗結核防御効果の誘導

我々は、Ag85A を発現するリコンビナント BCG と Ag85A ペプチド投与による抗結核防御効果の誘導について、Ag85A を誘導する DNA ワクチンと比較検討した。その結果、リコンビナント BCG（Ag85A）や Ag85A を誘導する DNA ワクチンの単独より、リコンビナント BCG（Ag85A）と Ag85A ペプチドの併用投与により、強い抗

結核防御効果が得られた。この防御効果は、市販の BCG 東京株の抗結核防御効果より明らかに強かった。（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）、谷山忠義）

２．日本脳炎ワクチン接種による副反応の免疫学的基盤に基づく評価

日本脳炎ワクチン接種後に急性散在性脳脊髄炎(ADEM)の発症例が報告され、ADEM の発症要因として現行ワクチンがマウスの脳成分を含むことが指摘されている。本研究では、日本脳炎ワクチン中の物質により、ADEM 類似の神経系疾患である実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)をマウスに誘導できるかについて、自己免疫感受性である SJL/J 系統マウスを用いて検証した。まず、SJL/J マウスをマウス脊髄破砕物で免疫し誘導された T 細胞を現行ワクチンと共に培養しても、特異的 T 細胞の反応は起こらず、現行ワクチン中には中枢神経成分特異的な T 細胞の反応を誘導する脳由来成分は含まれていないことが明らかとなった。次に SJL/J マウスの EAE モデルにおいて、日本脳炎ワクチンを免疫原として用いた場合にはヒトに用いる１０００倍量のワクチンを投与しても EAE は誘導されなかった。一方百日咳毒素の投与は EAE 発症を亢進させ、これは脳血液関門の透過性の亢進を起因とした血球系細胞の脳組織への侵入が原因とされる。我々の解析ではヒトに用いる１０００倍量の日本脳炎ワクチンを投与した場合、百日咳毒素と同様に EAE 発症を促進する効果を示すことが観察された。これらの結果、日本脳炎ワクチンはアジュバントとして実験的マウス EAE 発症に関与する可能性を有するものの、ワクチン中の物質そのものが免疫原として働くことは無いと考えられる。（橋本修一、阿戸　学、高橋宣聖、倉岡雅征、加地友弘、前田　基、山本紀一(協力研究員)、高崎智彦、倉根一郎（ウイルス第一部）、竹森利忠）

３．インフルエンザワクチン安全性試験として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明らかにするため、ワクチン投与後のマウス各臓器の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、一方、IFN α / β レセプター欠損マウスでは白血球減少が認められなかった。以上より、ワクチンによる白血球減少は、全粒子ワクチンによって産生誘導された IFNα を介して起こることが示された。（阿戸学、高橋宜聖、藤猪英樹（協力研究員）、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）

４．SARS-CoV ワクチン：UV 不活化と UV 不活後ホルマリン処理した SARS-CoV 全粒子のワクチン効果の比較

UV 照射不活化 SARS-CoV(UV-V)と、更にホルマリン処理を加えた SARS-CoV(UV-F-V)をアラムアジュバント混合あるいは単独で２回皮下に免疫しワクチン効果について検討した。両群のマウスともほぼ同程度の血中 IgG 中和抗体産生が誘導され、その産生は６ヶ月以上持続した。また両群においてほぼ同数の Nucleocapsid 特異的骨髄抗体産生細胞が産生された。興味深いことにホルマリン添加した UV-F-V 投与群では IgG2a の産生が抑制され、所属リンパ節Ｔ細胞のウイルス粒子抗原刺激による IL-4 産生が増強していた。従って、ホルマリン添加を加えたワクチンではより Th2 型にシフトすることが示唆された。（横田恭子、阿戸　学、高橋宣聖、橋本修一、加治友弘、倉岡雅征、山本紀一、山本拓也（東大医科研博士課程・研究生）、大島正道、大西和夫、竹森利忠）

５．腸管内ワクチンデリバリー

感染防御の主要な場である粘膜免疫組織、特に腸管をターゲットとしたワクチン・デリバリーシステム（DDS）を開発するために、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。これまでに経口ワクチン DDS の製造過程におけるゲスト分子充填法を改良し、抗原の含有率を飛躍的に高めるとともに、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 DDS の製法を確立し、その免疫賦活化能を評価してきた。今年度は、これらのキトサン・ナノ粒子 DDS に２次ターゲッティング（腸管粘膜移行）能を付与するために、PTD(protein transduction domain)と呼ばれる細胞膜通過能のあるアミノ酸配列群のうち、Oligo-L-lysine を DDS に付加した製剤を作製し、その性能を評価した結果、腸管粘膜に分泌される抗原特異的 IgA の誘導を改善することができた。(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．モノクローナル抗体を用いた SARS-CoV 抗原捕捉検出システムの開発と改良

我々が確立した 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と、高感度蛍光 ELISA 法を組み合わせることにより、数十ピコグラム/mL 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 ELISA システムをすでに構築している。この ELISA システムをさらに最適化するために、蛍光基質、ELISA プレートの素材、血清中の阻害物質などについて検討した。その結果、検出感度については蛍光基質・プレート素材を変えても大きな増感効果を得ることはできず、ELISA 系はほぼ至適化されていると考えられた。血清は５倍希釈濃度以上で阻害効果が認められた。これらの制約を打開し、さらに感度を上げるためには、ELISA 法ではなく磁性マイクロビーズなどを用いたＢ／Ｆ分離法を応用した蛍光酵素免疫測定法を開発する必要があると考えられる。 (大西和夫、横田恭子、磯貝まや、山口沙由理（非常勤職員)、高木弘隆（バイオセーフティー管理室)、竹森利忠)

２．新規結核補助診断法確立

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 産生は、コントロールウイルス感染に比べて有意に低下していた。単球を除去した末梢血単核球ではこの T 細胞応答抑制が認められないことから、Ag85a は単球の機能阻害を介して、T 細胞応答を抑制する可能性が示された。(阿戸　学、藤猪英樹（協力研究員)、竹森利忠）

IV．免疫機能に関する研究

１．免疫記憶に関する研究

（１）記憶 B 細胞選択、維持に関する内在性因子の解析

ア．記憶 B 細胞選択に Ras が関与する

これまでに、記憶 B 細胞が Ras シグナル調節分子（p80）を強く発現することを見いだし、Ras 機能を阻害したマウスでは、二次刺激に対する記憶Ｂ細胞の抗体産生が強く抑制されることを明らかにした。本研究では p80 分子が抗体産生に果たす役割を調べる目的で、p80 を過剰発現した脾臓 B 細胞に抗原刺激を加えたところ、抗体産生細胞への分化が促進され、IgG 抗体産生が増強されることを見いだした。一方、B 細胞の増殖速度やアポトーシスに対する抵抗性には大きな影響は認められず、p80 を介した Ras シグナルの効果は、抗体産生細胞への分化過程に特異的である可能性が示唆された。(高橋宜聖、倉岡雅征、橋本修一、西麻理子（実習生)、小高正広（実習生)、竹森利忠）

イ．記憶 B 細胞機能に関する遺伝子発現

記憶 B 細胞に高発現する遺伝子を種々の方法で同定した。このうち SMN1 については記憶 B 細胞の長期生存に関与する可能性が推察されている。このため SMN1 の機能について詳しく解析し、この遺伝子産物がミトコンドリアの機能の調節に関与し抗レドックス活性を亢進する可能性が示された。(加地友弘、橋本修一、倉岡雅征、高橋宜聖、竹森利忠）

２．プレ B 細胞受容体の機能

抗体の抗原認識多様性を生み出す過程で中心的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。プレ B 細胞受容体は抗体Ｈ鎖と代替軽鎖からなり、Ｂ前駆細胞に発現する。代替軽鎖は非免疫グロブリン領域(non-Ig 領域)と呼ばれる特徴的なドメインを持ち、我々はこの構造が受容体の活性化に重要な働きを担っていることを明らかにしてきた。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 鎖と GFP の融合蛋白質、μH-TM12-GFP を作成した。μH-TM12-GFP を代替 L 鎖と共発現させることによりプレ B 細胞受容体を再構成し、その細胞内挙動を観察した結果、non-Ig 領域の有無で再構成プレＢ細胞受容体の細胞内膜系（おそらくゴルジ体・後期エンドソーム）への集積が大きく変化することから、λ5 の non-Ig 領域で誘導されるプレ B 細胞受容体の自動的な架橋・活性化は後期エンドソーム近傍で起こることが強く示唆された。(柳沢有紀（筑波大・院・生命環境化学)、Lill Martensson（Babraham Institute)、Fritz Melchers（Max Planck Institute for Infection Biology)、山口沙由理（非常勤職員)、大西和夫）

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

BILL カドヘリンは Ca^{2+}依存性細胞接着分子であり、Ｂリンパ球とともに小腸上皮細胞に非常に強く発現している。エルシニアやリステリアは、β1 インテグリンやＥカドヘ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事が知られていることから、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 enterica* serovar Typhimurium (10^7 CFU)の経口投与後の生存日数に野生型との差異（弱い延命効果）が認められたため、GFP 発現 *Salmonella* を用いて遺伝子欠損マウスにおける小腸上皮侵入機構について組織学的方法により検討している。
[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．免疫不全症モデルマウスを用いたウイルス感染症の病態解析

ウイルスの増殖、病原性、持続感染と宿主の感染防御機構との関連を解析するためには、免疫不全症モデルマウスを使用した動物実験が不可欠であると考えられる。Translin 遺伝子を欠損したマウス（TSN KO）では、重症複合免疫不全症モデルマウスと同様に白血球の著しい減少が幼年期に観察される。この原因は、末梢血リンパ球の成熟が未分化な状態 ($B220^-$ $CD43^+$ $IL\text{-}7R^+$)で停止していることに因るものであった。　我々は、TSN KO マウスのコロナウイルス感受性に関する感染実験を行い、ウイルス感染に対する抵抗性や血中抗体価が有意に低下していることを明らかにした。　この結果は、TSN KO マウスにおけるリンパ球減少症と易感染性が密接に関連していることを示している。（福田裕子、石田礼子、田原口元子（動物管理室)、山田　靖子（動物管理室)、葛西正孝）

５．骨髄不全症における造血幹細胞の自己複製に関する研究

骨髄不全症の病因と疾病遺伝子を解析する目的で、Translin 遺伝子欠損マウス(TSN KO)を用いた実験をおこなった。TSN KO マウスは、幼年期に著しいリンパ球減少症を呈するが、約 8-10 ヶ月を経過すると骨髄における造血が低下して重篤な骨髄不全に陥る。　更に、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と肝臓の肥大化を呈することが明らかとなった。　この現象は主に幼若骨髄系細胞の減少に因るものであるが、逆に造血幹細胞(Lin- Sca1+ c-Kit+)の増加をもたらすという事実が判明した。以上の結果は、骨髄における造血幹細胞の複製と前駆細胞への振り分けが、Translin 遺伝子によって制御されていることを示唆している。（石田礼子、福田裕子、中原一彦(大学評価･学位授与機構)　葛西正孝）

V．その他の研究

１．破傷風神経毒素に対する神経細胞表面受容体分子に関する研究

破傷風神経毒素(T.Tn)は、運動神経末端の神経筋接合部に特異的に結合し、神経細胞内に取り込まれ逆行性に輸送され、後根神経節を飛び越えて中枢神経細胞に取り込まれ、宿主の呼吸筋を麻痺させ、宿主を死に至らしめる致死毒素である。この T.Tn の結合する特異的受容体は未だに特定されていない。実験はこの受容体の同定を目的としている。T.Tn と結合する神経細胞株の候補として、トロント大学の Cashman 教授から分与を受けたマウス由来の運動神経系細胞株(NSC-34)を用いた T.Tn 結合実験では、明らかな結合が見られなかった。現在、ソーク研究所の Schubert 教授了解下、国立精神神経センター木村英雄先生から HT22 細胞株の分与を受け、この細胞で同様な実験を行っている。HT22 細胞は、ミトコンドリア外膜に発現するある種の蛋白分子が細胞表面にも発現しているとの報告のある神経系の細胞株で、この蛋白分子と T.Tn との結合性が調べられている。（平山中己）

品質管理に関する業務

I. 急性 A 型肝炎診断薬承認前審査業務

平成17年度より急性A型肝炎診断薬承認前審査業務を担当した。HAV 抗体体外診断薬の承認前検査４件（うち２件は継続審査中）を行った。また欧米での市販の血清パネルに頼らず、我々独自の標準パネルを作成する目的で、陰性コントロール血清および陽性コントロールとして急性肝炎、慢性肝炎患者血清約５００検体を収集した。これらは今後スクリーニング予定である。（大西和夫、大島正道、横田恭子、阿戸　学、高橋宜聖、竹森利忠）

国際協力関係業務

I. インドネシア共和国における鳥インフルエンザ診断のシステム構築

東南アジアを起点とする鳥インフルエンザの流行から人への感染拡大に至ることが危惧され、インドネシアにおける鳥インフルエンザウイルスの感染拡大を未然に防止することが急務と考えられる。２００５年１０月から１１月、ウイルス３部を主体としたインドネシアにたいする国際緊急支援隊が派遣され、ここに専門家として参加した。JICA 外務省の協力のもとインドネシア保健省のR&Dセンターに赴き鳥インフルエンザ診断におけるシステム構築を指導した。（横田恭子、大島正道）

その他

I. 共同大型利用機器管理

平成１７年度細胞自動解析装置の使用は、957 回、2194 時間でその内訳は感染研 873 回、2042 時間、感染研以外

の研究機関 84 回、152 時間であった。機器の使用に関して予約の管理を行い、利用申請書の適切な保存を行った。また、機器を適正に管理・保全し、故障等のトラブルには円滑に対処した。新規使用者に対し講習会を開催するとともに、特殊な操作法に関しては個別に技術指導を行った。（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

1) Sugawara, I., Udagawa, T. and Taniyama, T.: Protective efficacy of recombinant (Ag85A) BCG Tokyo with Ag85A peptide boosting against Mycobacterium tuberculosis-infected guinea pigs in comparison with that of DNA vaccine encoding Ag85A. ***Tuberculosis***, in press (2006)

2) 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*** 11: S32-S36, 2006

3) Tsunetsugu-Yokota, Y., Ohnishi, K., and Takemori, T. Severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus: application of monoclonal antibodies and development of an effective vaccine. ***Rev. Med. Virol.*** 16: 117-131, 2006.

4) Takahashi, Y., Inamine, A., Hashimoto, S., Haraguchi, S., Yoshioka, E., Kojima, N., Abe, R., Takemori, T. Novel role of the Ras cascade in memory B cell response. ***Immunity*** 23: 127-138, 2005.

5) Inamine, A., Takahashi, Y., Baba, N., Miyake, K., Tokuhisa, T., Takemori, T., Abe, R. Two waves of memory B cell generation in the primary immune response. ***Int. Immunol.*** 17: 581-589, 2005.

6) Ato M, Maroof A, Zubairi S, Nakano H, Kakiuchi T, Kaye PM. Loss of dendritic cell migration and impaired resistance to *Leishmania donovani* infection in mice deficient in CCL19 and CCL21.
J Immunol. 176: 5486-5493, 2006.

7) Ohnishi, K., Sakaguchi, M., Kaji, T., Akagawa, K., Taniyama, T., Kasai,M., Tsunetsugu-Yokota, Y., Ohshima, 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. and Takemori, T. Immunological detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus by monoclonal antibodies. ***Jpn. J. Infect. Dis.*** 58: 88-94, 2005.

8) 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.

9) 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. 45: 89-92, 2005.

10) 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.*** 280: 41137-41145, 2005.

11) 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.*** 175: 6900-6908, 2005.

12) Narita, T., Ando, A., Mikami, Y. and Taniyama, T.: Overexpression of CIN85 suppresses the growth of herpes simplex virus in HeLa cells.
Exp. Cell Res. 311: 265-271, 2005.

13) 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.

14) Kasai, M., Fukuda, Y and Ishida, R. A gene-targeted mouse model for bone marrow failure syndrome. ***Blood*** 140b: 4235, 2005.

２．和文発表

1) 橋本修一、高橋宜聖、竹森利忠「二次リンパ組織にお

ける B 細胞分化のダイナミクスとその制御機構」臨床免疫、45：129-133、2006.

2) 横田（恒次）恭子：HIV はどのように免疫系を破壊するのか？特集 HIV と免疫、日本エイズ学会誌、7:171-179、2005.

3) 大西和夫.「免疫学ハンドブック」 196-208頁 （第２部 免疫の分子機構 [２] リンパ球分化）オーム社刊、2006.

4) 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 6 版）——その数値をどう読むか—４、日本臨床、63（Suppl 8）：44-47、2005.

5) 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、日本臨床、63（Suppl 8）：65-67、2005.

6) 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．Annual Review 呼吸器 2005, 17-25, 2005

7) 赤川清子、阿戸 学：感染症．免疫学ハンドブック、オーム社、p360-374, 2005.

8) 赤川清子：結核免疫、結核 第 4 版 （泉 考英 監修）、医学書院、p41-47, 2006.

9) 小室 巌、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 の増殖能に与える影響．Jpn. J. Antibiotics 59 (Suppl A)：25-29, 2006.

10) 小室 巌、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 の増殖能に与える影響について．Jpn. J. Antibiotics 58 (Suppl.A)：54-60, 2005.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Takahashi,Y., Inamine, A., Hashimoto, S., Abe, R., Takemori, T. ”Unique role of the Ras cascade in memory B cell response.” Keystone symposia, B cell development, function and desease, Colorado, USA, Apr. 2005.

2) Yamamoto, T., Isogai, M., Inoue, J.-I., Tsunetsugu-Yokota, Y. Inhibition of HIV-1 replication in primary macrophage by a Nef-specific short hairpin RNA expressing lentivirus vector. Seventh International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, Kobe, July 1-5, 2005.

3) Okado H, Kasai M. A transcriptional repressor, RP58, is essential for cortical lamination and reciprocal connectivity between the cortex and thalamus. "Dynamics of cortical development and neuronal migration" Tokyo, Jan., 2006.

2. 国内学会

1) 阿戸 学、竹森利忠．劇症型 A 群溶連菌の細胞内殺菌からの逃避．第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

2) 山本紀一、阿戸 学、藤猪英樹、高橋宜聖、橋本修一、加地友弘、竹森利忠．不活化インフルエンザウィルス粒子に含まれる白血球数減少活性の解析．第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

3) 藤猪英樹、阿戸 学、高橋宜聖、橋本修一、中山俊憲、谷口克、小安重夫、竹森利忠．HIVnef 発現により誘導される成熟 T 細胞の機能低下．第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

4) 高橋宜聖、加地友弘、稲嶺絢子、橋本修一、広瀬幸子、竹森利忠．マウス記憶憶 B 細胞に発増強するアポトーシス抑制分子の作用機序. 第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

5) 加地友弘、高橋宜聖、竹森利忠. Survival of motor neuron (SMN)蛋白質による抗酸化作用抵抗性の賦与．第 35 回日本免疫学会総会 2005 年 12 月 横浜

6) 柳沢有紀、Lill Martensson、清水健之（札幌医大）、Fritz Melchers、大西和夫．「μH鎖-GFP融合タンパク質と代替L鎖変異体を用いたプレB細胞受容体の可視化による機能解析．第35回日本免疫学会総会 2005年12月 横浜

7) 窪田真澄、高橋宜聖、竹森利忠、大西和夫．B 細胞分化の過程で発現する BILL-cadherin は二次免疫応答におけ

る抗体産生細胞の分化に関与する. 第 35 回日本免疫学会総会　2005 年 12 月　横浜

8) 明間洋子、倉岡雅征、梅田由起子、橋口昌章、伊勢　渉、高橋宜聖、高津聖志、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏志. CD3-IL-R+ Peyer's Patch cells are a novel cell subset which promote IgA production: cell lineage and role in class switch recombination. 第 35 回日本免疫学会総会　2005 年 12 月　横浜

9) 阿戸　学、Engwerda CR、Maroof A、Dianda L、中野英樹、垣内史堂、Kaye PM. *Leishmania donovani* 感染マウスモデルにおける防御免疫誘導機構の解析. 第 74 回日本寄生虫学会大会　2005 年 4 月　米子

10) 赤川清子、金沢裕子、岸　文雄. 結核菌感染ヒト単球由来マクロファージにおける Hck 及び C/EBPb の発現. 第 35 回日本免疫学会総会　2005 年 12 月　横浜

11) 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(2). 第 35 回日本免疫学会総会　2005 年 12 月　横浜

12) 新納宏昭、Siamak Jabbarzadeh、飯野忠史、成田雅、谷山忠義、原田実根、赤司浩一. アダプター蛋白 CIN85 による B 細胞抗原受容体シグナルの制御機構. 第 35 回日本免疫学会総会　2005 年 12 月　横浜

13) Yamamoto, T., Tachikawa-Kawana, A., Iwamoto, A., Autran, B., Tsunetsugu-Yokota, Y. Characterization of virus-specific T cell activation in human by a potent antigen-presenting activity of dendritic cells: an evaluation *in vitro* for the vaccine development. 第 35 回日本免疫学会総会　2005 年 12 月　横浜

14) 橋本和治、橋本直樹、谷山忠義. BCG における蛋白の大量発現のための強力な抗酸菌由来のプロモーターの探索. 第８０回日本結核病学会 2005 年 4 月　大宮

15) 山口昌樹，中野敦行，田原祐助，谷山忠義. 血糖測定に用いる Glucose oxidase 遺伝子組換え酵母の獲得. 第４４回日本 ME 学会　2005 年 4 月　つくば

16) 小室　巌、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 の増殖能に与える影響. 第１２回マクロライド新作用研究会　2005 年 7 月　東京

17) 赤川清子. マクロファージの多様性とその起源（特別講演）. 第１６回日本生体防御学会総会　2005 年 8 月　東京

18) 赤川清子. マクロファージ及び樹状細胞の分化と機能 (シンポジウム). エンドトキシン研究会　2005 年 11 月　東京

19) 岡戸晴生、川野仁、大高-丸山千秋、三輪昭子、葛西正孝. 転写抑制蛋白 RP58 は大脳皮質ニューロンの移動と分化に必要である. 第８３回日本生理学会大会、2006 年 3 月　前橋

20) 山本拓也、井上純一郎、横田（恒次）恭子. HIV-1 nef 発現を抑制する shRNA 発現システムの構築とマクロファージにおける Nef の機能解析. 第 53 回ウイルス学会、2005 年 11 月　横浜

21) 横田（恒次）恭子、高木弘隆、山本拓也、大島正道、水谷哲也、森川　茂. VeroE6 における SARS-CoV の増殖とアポトーシスに関する解析.
第 53 回ウイルス学会、2005 年 11 月　横浜

22) 石井孝司、横田（恒次）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、鈴木哲朗、宮村達男. 高度弱毒化ワクチニアウイルス DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討. 第 53 回ウイルス学会、2005 年 11 月　横浜

23) Okado H, Ohtaka-maruyama C, Miwa A, Kawano H, Kasai M. Cell death and synuclein expression in the embryonic mouse cerebral cortex. "Cell cycle-based unifying approach for neurodegeneration and cancer" The 29th Annual Meeting of Japan Neuroscience Society, Kyoto, July 2006

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 17 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.　新興・再興感染症拠点形成プログラム
VIII.　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（独）科学技術振興機構・振興調整費（新興・再興感染症制圧のための共同戦略）および（独）科学技術振興機構・府省連携施策群（超臨界ハイブリ QD イメージングと治療法）の支援を受けた。さらに、文部科学省（新興・再興感染症拠点形成プログラム）および（たんぱく３０００事業）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。また、その治療方法の開発として、（独）科学技術振興機構・府省連携施策群（超臨界ハイブリ QD イメージングと治療法）の主任者として、新たな創薬をめざした。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。文部科学省（新興・再興感染症拠点形成プログラム）では、本年度４回にわたり、ベトナムを訪問し、拠点形成プログラム実施に向けて、国立バクマイ病院、熱帯病医学研究所、国立小児病院の医師・研究者との情報交換を行い、ベトナム保健省にプロトコルの提出を行った。

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。

国際交流の一環として、鈴木室長は、上記、文部科学省（新興・再興感染症拠点形成プログラム）に加え、（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、（独）科学技術振興機構、振興調整費、文部科学省の支援事業により、Thomas L. Leto 部門長（米国・国立健康衛生研究所）、Karl-Heinz Krause 教授（スイス・ジュネーブ大学病院）、David Jayne 顧問教授（英国・ケンブリッジ大学アッデンブルッグ病院）、David Scott 教授（英国・ケンブリッジ大学アッデンブルッグ病院）、Richard Watts 教授（ケンブリッジ大学アッデンブルック病院）、Seema Ahuja 教授（米国・テキサス大学健康科学センター）、Jim Koopman 教授(米国・ミシガン大学)、Martin Eichner 教授(独・Tubercular 大学)、Niels Becker 教授（濠・オーストラリア国立大学）、Tatyana Novikova 教授（露・Penza Regional Tubercular Prophylsctic Center）、V.D.Krevchik 教授（露・Penza Regional Tubercular Prophylsctic Center）、M.B.Semenov（露・Penza Regional Tubercular Prophylsctic Center）、Rowland Kao（英国・ケンブリッジ大学）、Vu Tuong Van 医師（ハノイ・バクマイ病院）、Van Dink Trang 医師（ハ

ノイ・熱帯医学研究所)、Phung Thi Bich Thuy 研究員（ハノイ・国立小児病院）を招へいし、国際研究交流を推進した。

また、鈴木室長と大川原主任研究官は、文部科学省（新興・再興感染症拠点形成プログラム）の一環としてハノイの国立三病院から１名ずつ合計三研修生の指導にあたり、工藤宏一郎主任研究者（国立国際医療センター国際疾病センター長）から感謝状を授与された。

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

真菌の ABC タンパク質が新規薬剤ボリコナゾールなどを含むアゾール系抗真菌薬を基質として認識し細胞外に汲み出すため菌は耐性化する。このような耐性株の感受性化を指標とし、主要な ABC タンパク質を破壊したアゾール感受性*S. cerevisiae* 株に病原真菌の ABC タンパク質遺伝子を導入しアゾ−ル剤に高度耐性化した株を用いた評価系により排出ポンプ阻害剤の探索を行った。その結果、微生物培養ろ液抽出物の中から cyclodepsipeptides 骨格を有するビューベリシンを見い出した。この物質は FK506 やエニアチンとは異なり *C. albicans* の ABC タンパク質である CaCdr1p および CaCdr2p の両者を阻害することが分った。

[高野幸枝、田辺公一、新見昌一、上原至雅；奥田　徹、星野達雄、田副正明（玉川大学）]

1.　癌細胞のシグナル伝達の解析と制御物質の探索

(1) シグナル伝達阻害物質の探索

A431 細胞に検定物質を加え、EGF 刺激して、SDS-PAGE 用のサンプルを調製した。リン酸化された ERK、p90RSK、Akt、S6R に対する抗体の混合溶液を用いたウエスタンブロットを行い、細胞内シグナル伝達に対する影響を解析し、ある種のセスキテルペンがラパマイシンとは異なる機序で mTOR 経路を遮断することを発見した。mTOR の標的である p70S6K は複数の酵素により複数の残基がリン酸化される。ラパマイシンは調べたすべての部位のリン酸化を抑制したのに対し、セスキテルペンは mTOR の直接のリン酸化部位であるとされる T389 を選択的に抑制し、mTOR に直接作用している可能性が考えられた。

［深澤秀輔、小沢友希（東京理科大学)、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、真菌由来のテルペノイドであるアニセコールの作用を解析し、大腸がん細胞 DLD-1 等に anoikis を誘導する活性を見出したので、アニセコールの標的分子の検索を目的に処理細胞で変化が起きる細胞内蛋白の網羅的解析を行った。その中で、caspase3 の増加とともに、シグナル伝達に関与するいくつかの蛋白に著明な増加や減少が見られたので、それらの蛋白の変動と anoikis の誘導との関連を調べている。

[上原至雅、福田恵子、深澤秀輔；五十嵐康宏、古米　保（富山県立大）]

(3) プロテインキナーゼ阻害物質の探索

文科省総合がん「化学療法基盤情報支援班」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 138 検体の評価を行った。その結果、有効と判定されたのは 10 検体であった。このうち、ホウ酸基含有の化合物に強い VEGFR1 (Flt-1)のプロテインキナーゼ阻害活性が認められたので、阻害剤の選択性をより明らかにする目的で、新たに VEGFR2 (KDR)の活性評価系を作成した。関連構造の化合物についても活性評価を行い、構造活性相関を考察した。

[上原至雅、福山まり、深澤秀輔；中村浩之（学習院大）；矢守隆夫（癌研）]

2.　持続性感染に関わるウイルスに対する抗ウイルス薬を目指した研究

(1) EBウイルスEBNA-1と相互作用をするTAF-Iα、βの解析

これまでの研究で、宿主蛋白質TAF-Iα、βがEBNA-1と結合し、EBNA-1の機能を抑えることが分かったが、今年度は、それぞれの蛋白質の結合ドメインを決定した。大腸菌で作製した各種欠損変異EBNA-1組換え体と全長TAF-I組換え体をin vitroで混合しTAF-1を免疫沈降し、結合部位の解析をしたところ、EBNA-1の核移行シグナルの前にあるGly-Arg repeat領域が結合に関わることが判明し、293T細胞を使ったin vivoの系でも確認された。一方、EBNA-1が結合するTAF-Iα、βの結合領域を293T細胞を使ったin vivoの系で調べたところ、C末端のAcidic regionが結合に関わることが分かった。

[山越　智、村上裕子、上原至雅、深澤秀輔；白形正樹（東京医科歯科大）]

(2) C型肝炎ウイルスコア蛋白質、NS5A蛋白質に結合する宿主蛋白質の解析

HCVのコアあるいはNS5A蛋白質に3xFLAGタグをつけHeLa細胞内で発現させアフィニティ精製後、相互作用をする宿主蛋白質の同定を試みた。細胞質画分、核画分、膜画分に分け精製し、コントロールであるHeLa細胞とSDS-PAGEで比較することでいくつかのタンパク質を見出した。

[山越　智、村上裕子、上原至雅、深澤秀輔；鈴木哲郎（ウイルス２部）]

(3)カポジ肉腫ウイルスの遺伝子 LANA の機能解析

前報で LANA はヒト内皮細胞において Ets-1 依存の VEGF レセプター１の発現を上昇させたことを報告したが、real-time PCR で調べたところ、VEGF レセプター２の発現も上昇させた。このメカニズムを知るため、LANA、Daxx および Ets-1 をヒト 293T 細胞に同時に発現させたところ、LANA と Daxx、Daxx と Ets-1 の結合が見られ、Daxx と Ets-1 の発現量が同じ時は LANA の発現量が増えるほど、Daxx と Ets-1 の結合が減少することがわかった。Daxx に LANA が競合的に結合するために Ets-1 依存の遺伝子発現抑制が減少することが示唆される。またクロマチン免疫沈降法でもこれを支持する結果を得た。LANA は Daxx を通してカポジ肉腫の癌化に寄与していることが示された。

［村上裕子、山越　智、上原至雅、深澤秀輔］

(4)HHV8 LANA と宿主蛋白質 Brd4 の結合についての解析

昨年までの解析で、BET ファミリーに属する Brd4 が LANA と結合すること及びその結合に必要な領域を明らかにした。そこで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詳細に検討した結果、LANA の 1140 番目から 1162 番目までのアミノ酸残基と、Brd4 の 495 番目から 720 番目までのアミノ酸残基が互いの結合に重要であることがわかった。 Brd4 は、PTEFb (Cdk9/CyclinT1) と結合し、RNA polII による転写を安定化していることが報告されている。そこで、HEK293T 細胞に Flag タグを付けた LANA 及び HA タグを付けた Brd4 を発現させ、LANA、Brd4、及び PTEFb が複合体を形成しているか否かを免疫沈降法により調べたところ、LANA、Brd4、PTEFb は複合体を形成することがわかった。

LANA と Brd4 との結合が細胞内の転写に及ぼす影響について検討している。

［髙橋直子、村上裕子、山越　智、野口耕司、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) 分泌小胞を蓄積する出芽酵母の特性

制限温度において分泌小胞を蓄積するような株（AD1-8u-sec6-4 ）を構築し、小胞蓄積の状態を GFP 融合 Sec6p の局在によって観察した。野生型 Sec6p は主に出芽根部分に局在し、37℃の制限温度においてもその局在は変化しなかったが、sec6-4p は 37℃においては細胞内に蓄積するような局在を示した。さらに *sec6-4* 株において、C 末端に RFP を融合させた *Candida albicans* ABC タンパク質 CaCdr1p は 23℃においては主に細胞質膜に局在し、37℃においては一部が細胞質に局在するようになった。

[田辺公一、新見昌一、上原至雅；Erwin Lamping、Brian C. Monk、Richard D. Cannon（オタゴ大学）]

(2) 病原真菌 ABC タンパク質と機能阻害物質との相互作用部位の検討

病原真菌 *C. albicans* の ABC タンパク質 CaCdr1p と、その阻害剤との相互作用を調べ、基質輸送活性との相関を明らかにすることを目的とした。CaCdr1p を高発現したアゾール剤耐性出芽酵母株をポンプ阻害剤である FK506 と基質であるフルコナゾールを含む培地で培養し、FK506 に非感受性の変異株を選別した。FK506 に非感受性化した全ての株の *CaCDR1* 遺伝子の ORF 上にアミノ酸置換を引き起こす点変異が認められた。これらの変異は FK506 非感受性の性質を付与したが、その他の調べた薬剤については、親株との間に感受性の相違は認められなかった。以上の結果より、本実験手法により同定されたアミノ酸置換部位は CaCdr1p と FK506 との特異的相互作用もしくは薬剤感受性化効果において重要な部分であることが推測された。

[田辺公一、高野幸枝、上原至雅、新見昌一]

(3) *Candida albicans* におけるミカファンギン低感受性機構

新規抗真菌薬β-グルカン合成酵素阻害剤ミカファンギンに対する耐性カンジダ株が臨床分離されている。β-グルカン合成酵素(Gsc1p)のアミノ酸変異が耐性化に関与することが知られているため、*C. albicans* ミカファンギン感受性親株から低感受性株を分離し、*GSC1*変異とミカファンギン耐性との関連性をしらべた。この低感受性株は*GSC1* 相同遺伝子の片方にＳ645Ｆのアミノ酸変異を有する heterozygous株であった。*S*/*R*株から*S*/Δ、*R*/Δ、*S*/*S*および*R*/*R* 株を作製して各株のミカファンギン感受性を検討し、Ｓ645Ｆアミノ酸変異の有無とミカファンギン感受性の関連性を確認した。また低感受性化の程度は変異を有する遺伝子のコピー数に依存することも明らかになった。

[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* におけるプロテインキナ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 93 種類のプロテインキナーゼを見出した。そのうち、既に論文等で報告されていた 19 種類を除いた 74 種類のキナーゼについて遺伝子破壊を試み、53 種類についての破壊に成功した。取得できた破壊株について、寒天培地上の形態、および、抗真菌剤フルコナゾールに対する感受性について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。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。

[梅山　隆、臺　由紀、上原至雅、新見昌一]

(5) *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；上田賢志、別府輝彦（日大・生物資源）；普後　晋（東京農工大院・連合農学・生物生産）]

(6) カイコガ幼虫を用いた *Candida albicans* プロテインフォスファターゼの病原性解析

プロテインフォスファターゼは、環境に対する応答や細胞周期、細胞増殖等のシグナル伝達系に重要な役割を有している。*C. albicans* には 29 種類のプロテインフォスファターゼが存在すると推測されている。既報の遺伝子および生育に必須であると推定される遺伝子を除く 20 種の遺伝子を破壊し、増殖や形態変換に関わるプロテインフォスファターゼを見出した。各遺伝子破壊株のカイコガ幼虫に対する感染能を解析した。既知の病原性低下株である *CaSIT4* 破壊株および *CaYVH1* 破壊株は、カイコガ幼虫を用いた場合でも有意に病原性が低下することを確認し、その他のプロテインフォスファターゼ破壊株の中にも有意に病原性の低下を示すものがあった。

[花岡　希、新見昌一；普後　晋（東京農工大院・連合農学・生物生産）]

(7) *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。また、遺伝子破壊株についてマイクロアレイ解析により遺伝子発現を網羅的に解析した。

[梅山　隆、金子亜希、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

マンノースを主要成分とするマンノプロテイン・β-グルカン複合体 (CAWS)を *C. albicans* 培養外液より精製した。マウスに連続投与することによって動脈炎を発症するモデル系を確立し、単回投与後短時間で好中球が活性化されることを報告してきた。今年度、異なる培養条件下で培養した CAWS 投与直後の生体変化を解析し、CAWS 主要構成成分である糖タンパクのマンナンの構造の違いが宿主の免疫反応に与える効果について検討した。pH 2 で培養した CAWS を投与したマウスでは投与後 1 時間で末梢好血球の増加、活性化共に顕著であったが、pH 7 ではそうした効果を認めなかった。血漿中の補体の活性化、IL-6、KC、RANTES 産生についても同様の傾向を認めた。心大動脈局所では内皮組織傷害・活性化のマーカーである ICAM-1、KC の発現が CAWS によって増加し、pH 2 で顕著であった。NMR の解析から、*C. albicans* の細胞壁はマンノプロテイン、β-グルカンで構成され、マンナンの構造は温度、pH などの培養条件、さまざまなストレスによって修飾を受け生物活性が変化することが報告されてい

る。培養条件を変えることによって、CAWS を構成するマンナンが変化することで、生体による CAWS 認識、応答が変ることが示唆された。

[大川原明子、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（東薬大・免疫）；岡田秀親（名古屋市立大・医・分子医学研究所生体高分子部門）；Peter Ward（ミシガン大・医・病理）]

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

昨年にひきつづき、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った。腎炎発症における Th1/Th2 バランスをはじめ、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マップを行った。その染色体マップが特定され、その領域を Man-1 と命名した。

[鈴木和男、大川原明子；濱野慶朋（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。我が国における治療参加各施設での本療法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た。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）；武曾恵理（北野病院）；今井圓裕（大阪大・院医）；山縣邦彦（筑波大・院医）；有村義宏（杏林大学・医）]

(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免疫グロブリン製剤を用いて血管炎の治療効果を検討した。その結果、末梢好中球数が減少し、動脈炎発生率が低下した。

[大川原 明子、鈴木 和男、小林美登里、松村実美子、野津朋子；大原関利章、高橋　啓、山田仁美、直江史郎；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って MPO-ANCA 関連糸球体腎炎を発症する新たなモデル

昨年にひきつづき、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

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 の発現上昇が認められた。この上昇は、Fab 抗体でも同様の反応が見られ、MPO 欠損マウスの血清および糸球体内皮細胞すべて MPO フリーの系でも同様の結果を得た。この結果から、MPO 抗体が直接血管内皮細胞に作用していることが示された。

[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）；荒谷康昭（横浜市大・木原生物研）；中山俊憲（千葉大・院医）]

(7) 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、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。そこで、CD69 欠損マウスの CAWS 誘導による血管炎の発症について検討し、欠損マウスでは、その発症が抑制された。このことは、活性化好中球に発現する CD69 が血管炎発症に関わっていることが示された。

[鈴木和男、長尾朋和、野津朋子；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）]

(8) 肺血管内皮細胞の機能解析－好中球の凝集作用

急性肺障害（acute lung injury:ALI）と急性呼吸促迫症候群（acute respiratory distress syndorome:ARDS）の初期の病態の特徴は好中球の肺への集積と好中球による肺障害である。マウス primary culture から得た血管内皮細胞を用い、in vitro で好中球との凝集による接着分子の発現を検討した。E-selectin の発現は ICAM-1、VCAM-1 と比較すると低レベルであった。また、好中球との凝集によりこれらの発現は増加した。このことにより、血管内皮細胞は炎症性サイトカインによる反応だけでなく、好中球によっても活性化され接着分子の発現が増加することが in vitro でも示唆された。

[鈴木和男、大川原明子、野津朋子、松村実美子、小林美登里；永井厚志（東京女子医大）；長谷川明洋、中山俊憲（千葉大・院医）]

(9) ヒト MPO 分子上の MPO-ANCA 結合部位エピトープ解析

MPO-ANCA 結合部位エピトープは重鎖 N 末端側に位置する Ha、Hb フラグメントに特に強く反応することをこれまでに報告してきた。ヒト MPO 分子上のより精密な MPO-ANCA エピトープ部位を同定する目的でヒト MPO 分子解析を行なった。 その結果、Ha、Hb フラグメント領域で、ヒト MPO 分子上に露出しているアミノ酸残基は V113、N114、E116-P123、P154、G155、N157、 E180-P182、R185、N186、N215-D218 各アミノ酸であった。また、重鎖 N 末端はループを形成しており、ディスサルファイド結合により安定化していることが確認された。これらエピトープ結合部位の領域では正または陰に荷電したアミノ酸が集積している場所でもあることが確認された。

[鈴木和男、富澤一夫；鈴木倫太郎（（独）農業生物資源研・超分子機能研究）；田之倉優（東大院農生科・応生化）]

IV. バイオイメージング解析

(1) 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。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 投与による、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 の培養系でも細胞レベルでの解析も行った。

[鈴木 和男；松村実美子、南谷晴之（慶応大・理工）]

(2) 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；星野昭芳、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（ルイパスツール医学研）；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) *Candida albicans*感染に対する生体防御におけるLECT2の役割

これまでLECT2遺伝子改変マウスの解析により、LECT2はNK細胞、NKT細胞からのインターフェロンγの産生制御に関わっていることが明らかとなっている。また、これら細胞が*C. albicans*感染に対する生体防御に関わることが報告されていることから、LECT2トランスジェニックマウス(BALB/c背景)を用い*C. albicans*の感染実験を行い、LECT2の役割を調べることを試みた。その結果、LECT2トランスジェニックマウスは*C. albicans*感染に対し高感受性の傾向を示した。

[山越 智、金子亜希、梅山 隆、鈴木和男、新見昌一]

(2) マウス関節リウマチモデルにおけるLECT2の役割の解析

関節リウマチの原因は不明であるがEBウイルスを初めとするウイルス感染あるいは細菌感染との関連が考えられている。これまで、LECT2ノックアウトマウスを使い抗２型コラーゲン抗体により発症する関節炎を解析し、LECT2が関節炎の発症を抑えていることを示してきた。今年度はLECT2トランスジェニックマウス（BALB/c背景）を使い同関節炎モデルを解析した。その結果、野生型マウスと発症および病態の進行に差は見られなかった。LECT2トランスジェニックマウスの血中LECT2濃度は野生型マウスの２−３倍であり、野生型マウスのLECT2の量ですでに関節炎の発症抑制に十分働いている可能性が示唆された。

[山越 智、大川原明子、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。この発現と脳機能との関連については、今後解析する予定である。

[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

nocobactin の生合成遺伝子と推定される *nbtABCDEF*、*nfa6190* および *nfa6200* を *Streptomyces avermitilis* に導入し、nocobactin の異種発現を試みた。その結果、nocobactin 生合成の初発物質と推定されるサリチル酸の生産を確認した。しかしながら、*nbtABCDEF* のみではサリチル酸は生産されなかったことから、*nfa6190* および *nfa6200* は nocobactin の生合成に関与してい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) *Nocardia*おける遺伝子解析系の開発

大腸菌ベクターpK18あるいはpK19に*Mycobacterium fortuitum*のプラスミドであるpAL5000の複製領域を連結することにより、*Nocardia*属細菌として初めての実用的なクローニングベクターであるpNV18およびpNV19を開発し、同時に、*Nocardia*属細菌のエレクトロポレーション法による形質転換法を開発した。形質転換効率は10^5/μg DNAほどであった。また、pK18mobsacBを用いて、*Nocardia*属細菌として初めての遺伝子破壊に成功した。

[石川　淳、千葉和宏]

(3) *Nocardia farcinica* IFM 10152のシトクロムP450の機能解析

*N. farcinica*のゲノム中に見出された27個のシトクロムP450遺伝子を大腸菌において発現させ、その基質特異性を解析したところ、Nfa33880およびNfa53110にテストステロンを水酸化する強い活性が見出され、創薬への応用が期待された。

[石川　淳；有澤　章（メルシャン（株））；池田治生（北里生命科学研究所）]

(4) *Nocardia farcinica* IFM 10152 の病原性の解明

N. farcinica IFM 10152 の病原性を解明し、ノカルジアならびに類縁細菌感染症の治療および予防のためのターゲットを明らかにする目的で、ヒト上皮系細胞である HeLa 細胞および A549 細胞、あるいはマウスマクロファージ様細胞 J774.1 細胞を用いた感染実験系の確立を行った。*N. farcinica* に近縁の *Mycobacterium tuberculosis* では、培養細胞外の菌を殺菌するためにアミカシンが用いられるが、*N. farcinica* はアミカシンに感受性であるものの、短時間処理では殺菌できなかったため、アルベカシンを用いた。今後、*N. farcinica* のこれらの培養細胞に対する接着能、細胞侵入能の詳細について解析する予定である。

[石野敬子、石川　淳]

(5) *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全ゲノムショットガン法を用いて行い、10個のcontigからなるゲノム配列を得た。*S. griseus*の染色体は他の*Streptomyces*属細菌と同様に線状であり、両末端に約120kbからなる逆向き繰り返し配列の存在が明らかとなり、さらに、多くの二次代謝産物生合成遺伝子の存在が明らかとなった。

[石川 淳；大西康夫、堀之内末治（東京大学）；池田治生、山下敦士、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) *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*rpoB2*遺伝子の*N. asteroides*へのクローニングおよび*N. farcinica*における遺伝子破壊により、*rpoB2*のリファンピシン耐性への関与を明らかにした。

[石川　淳、千葉和宏]

(2) *Nocardia farcinica* IFM 10152 における monooxygenase のリファンピシン耐性への関与

Nocardia farcinica IFM 10152 のゲノム解析より、*Rhodococcus equi* のリファンピシン monooxygenase 遺伝子と高い相同性を有する遺伝子 *nfa35380* が見出された。この遺伝子の機能解析を行うために、*nfa35380* を大腸菌に導入した結果、リファンピシンに対する耐性が付与された。このことは、*nfa35380* のリファンピシン耐性への関与を示

している。

[星野泰隆、石川淳]

(3) 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株である7-0株の実験室的なアルベカシン耐性化株39株について、耐性化をもたらす要因を解析したところ、3株の耐性化株に二機能酵素遺伝子の上流域における欠失が見出された。現在、これらの欠失と耐性化の関連について解析を行っている。また、7-0株の二機能酵素遺伝子および周辺領域の塩基配列（12kb）を決定した（Acc. No. AB24691）。

[石野敬子、勝又義法、伊豆田任美、石川淳]

(4) 多剤耐性緑膿菌のアミノグリコシド耐性機構の解析

臨床から分離された多剤耐性緑膿菌において、アミノグリコシド抗生物質に対して広範囲に耐性を示す菌株のうち、ゲンタマイシンあるいはアミカシンに対するMICが32 μg/ml以上である45株について、無細胞抽出液を用いて、カナマイシン、アルベカシン、ゲンタマイシンに対するアミノグリコシド修飾酵素活性を調べたところ、顕著なリン酸化（あるいはアデニリル化）活性は見られなかったが、すべての株にゲンタマイシンのアセチル化活性が見出され、そのうち数株に顕著なカナマイシンおよびアルベカシンのアセチル化活性が見出された。

[石川　淳、斉藤文子、石野敬子；山根一和、荒川宜親（細菌第二部）]

VII. 新興・再興感染症拠点形成プログラム

(1) ハノイにおける鳥インフルエンザの病態と治療

文部科学省（新興・再興感染症拠点形成プログラム）では、本年度４回にわたり、ベトナムを訪問し、拠点形成プログラム実施に向けて、国立バクマイ病院、熱帯病医学研究所、国立小児病院の医師・研究者との情報交換を行い、ベトナム保健省にプロトコルの提出を行った。

[鈴木和男；工藤宏一郎（国立国際医療センター）]

(2) ハノイの国立三病院からの研修

文部科学省（新興・再興感染症拠点形成プログラム）の一環としてハノイの国立三病院から１名づつ合計三研修生（Vu Tuong Van 医師（ハノイ・バクマイ病院）、Van Dink Trang 医師（ハノイ・熱帯医学研究所）、Phung Thi Bich Thuy 研究員（ハノイ・国立小児病院）を招へいし、）の Real time PCR およびサイトカイン定量法指導にあたった。

[大川原明子、鈴木和男；亀岡洋祐（医薬基盤研）；工藤宏一郎（国立国際医療センター）]

VIII. **我が国における輸入真菌症のサーベイランス**

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

(1) 輸入真菌症発生動向調査

コクシジオイデス症総症例数 47 例（2005 年 5 例）ヒストプラズマ症 46 例（2005 年 3 例）パラコクシジオイデス症 18 例、マルネッフェイ型ペニシリウム症 2 例（いずれも 2005 年症例なし）であった。新規のコクシジオイデス症例のうち 2 名は在日米国人であり、国内在住外国人にも注意する必要があると思われた。

(2) ヒストプラスマ属菌分離の試み

ヒストプラスマ症の国内発生の可能性を調べるために、起因菌の定着が想定される全国の洞窟・風穴から採取されたコウモリ・グアノ（糞）サンプルから起因菌分離を試みたが、ヒストプラスマ属菌は検出されなかった。

(3) *Trichosporon* 属菌の分離

グアノサンプルの菌相解析により、約 80%の洞窟から *Trichosporon* を分離した。その中に 7 種の新種が含まれていた。

(4) ヒストプラスマ症感染抗体検査を実施

高頻度入洞者を対象に行ったが抗ヒストプラスマ抗体は検出されなかった。入洞後の呼吸器症状既往歴のある個人に抗トリコスポロン抗体価が高い場合があり、洞窟環境中のトリコスポロンの関与が考えられた。

(5) 輸入真菌症に対する遺伝子診断法の開発

コクシジオイデス症起因菌に特異的な遺伝子領域に対してPCR法プライマーを設計し、特異性の優れた遺伝子検出系を開発した。さらにこの検出系は*Coccidioides immitis*と*C. posadasii*を明確に区別することもできた。一方、ヒストプラスマ症起因菌についてはreal-time PCRを用いた定量系を構築し、国内剖検例および海外で分離されたculture collection由来株を検体として、ヒストプラスマ属菌の遺伝的多様性を解析した。

(6) 抗ヒストプラスマ抗体検出法の改良

本症の検査・診断に有用なヒストプラスマ抗原を探索した。Triton-X 100 溶液にて酵母形ヒストプラスマ菌塊の抗原抽出を行ったところ、本症患者血清を用いて複数の抗原を可視化することができた。

[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）、槇村浩一（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) Hanaoka N, Umeyama T, Ueno K, Ueda K, Beppu T, Fugo H, Uehara Y, and Niimi M.: A putative dual-specific protein phosphatase encoded by *YVH1* controls growth, filamentation, and virulence in *Candida albicans*. Microbiology, 151, 2223-2232, 2005.

2) Shimokawa O, Niimi M, Kikuchi K, Saito M, Kajiwara H, and Yoshida S.: Relationship between MIC and minimum sterol 14α-demethylation -inhibitory concentration as a factor in evaluating activities of azoles against various fungal species. Journal of Clinical Microbiology, 43, 5547-5549, 2005.

3) Sugita T, Kikuchi K, Makimura K, Urata K, Someya T, Kamei K, Niimi M, and Uehara Y.: *Trichosporon* species isolated from guano samples obtained from bat-inhabited caves in Japan. Applied and Environmental Microbiology, 71, 7626-7629, 2005.

4) Lamping E, Tanabe K. Niimi M, Uehara Y, Monk BC, Cannon RD.: Characterization of the *Saccharomyces cerevisiae sec6-4* mutation and tools to create *S. cerevisiae* strains containing the *sec6-4* allele. Gene, 361, 57-66, 2005.

5) Igarashi, Y., Ootsu, K., Onaka, H., Fujita, T., Uehara, Y. and Furumai, T. Anicemycin, a novel antitumor substance from *Streptomyces thermoviolaceus* TP-A0648. J. Antibitics 58: 322-326, 2005.

6) Hosoya, T. Yamamoto, Y., Uehara, Y., Hayashi, M., Komiyama, K. and Ishibashi, M. New cytotoxic bisindole alkaloids with protein tyrosine kinase inhibitory activity from a myxomycete *Lycogala epidendrum.* Bioorg. Med. Chem. Lett. 15: 2776-2780, 2005.

7) Kimura H, Katoh T, Kajimoto T, Node M, Hisaki M, Sugimoto Y, Majima T, Uehara Y, Yamori T. Modification of pyrimidine derivatives from antiviral agents to antitumor agents. Anticancer Res. 26: 91-97, 2006.

8) Masumi, A., Aizaki, H., Suzuki, T., DuHadaway, L.B., Prendergast, G.C., 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.

9) Fujieda, M., Suzuki, K., Sato, H., Hattori, M., Wada, N., Tsuchiya, M., Okamoto, N., Murata, T., Matsudaira, M., Shimizu, M., Ohta, K., Naruse, K., Sugihara, S. and Wakiguchi, H.: Epitope analysis of myeloperoxidase-specific antineutrophil cytoplasmic atoantibodies (MPO-ANCA) in childhood onset Graves'disease treated with propylthiouracil. Clinical Nephrology. 63:437-445, 2005.

10) Fujimot, NTS, Uezono, S., Hisanaga, S., Hukudome, K., Kobayashi, S., Suzuki, K., Hashimoto, H. and Nunoi, H.: Incidence of primary renal vasculitis in Miyazaki, Japan., Kidney & Blood Pressure Research , 28.190, 2005.

11) Kobayashi, S., Tamura, N., Ihara, T., Muso, E., Suzuki, K., Yosida, M., Nakabayashi, N., Tsuchiya ,N., Korosawa, M., Inaba, Y., Fujimoto, S., Nunoi, H. and Hashimoto H.: Prevalence of microscopic polyangiitis/Wegener's granulomatosis and the ratio of MPO, PR-3-ANCA in patients with ANCA-associated vasculitis in Japan. Kidney & Blood Pressure Research. 28.190-191, 2005.

12) Suzuki, R., Tomizawa, K., Suzuki, K. and Tanokura, M.: MPO-ANCA binding site on MPO molecule estimated from epitope mapping study and molecular modeling. Bioimages. 12: 85-90, 2005.

13) Matsuki, T., Isoda, K., Horai, R., Nakajima, A., Aizawa, Y., Suzuki, K., Ohsuzu, F.and Iwakura, Y.: Involvement of TNF-α in the development of T cell-dependent aortitis in IL-1 receptor antagonist-deficient mice. Circulation. 112:1323-1331, 2005.

14) Suzuki, K., Yamamoto, K. and Yoshikura, H.: Focusing on Assessment of Risk to Communities in International Symposium on Infectious Agent Transmission Model Building. Jpn J Infect Dis,. 58, S1-S2, 2005.

15) Yasuda, H., Yoshizawa, N. and Suzuki, K.: Modeling on social spread from immunity. Jpn J Infect Dis, 58, S14-S15, 2005.

16) Ito-Ihara, T., Ono, T., Nogaki, F., Suyama, K., Tanaka, M., Yonemoto, S., Fukatsu, A., Kita, T., Suzuki, K. and Muso, E.: Clinical Efficacy of Intravenous Immunoglobulin for Patients with MPO-ANCA-associated Rapidly Progressive Glomerulonephritis. Nephron Clin Pract. 102:c35-c42, 2005.

17) Kageyama, A., Hoshino, Y., Yazawa, K., Poonwan, N., Takeshita, N., Maki, S., and Mikami, Y. *Nocardia cyriacigeorgica* is a significant pathogen responsible for nocardiosis in Japan and Thailand. Mycopathologia. 160:15-19, 2005.

18) Agematu, H., Matsumoto, N., Fujii, Y., Kabumoto, H., Doi, S., Machida, K., Ishikawa, J., and Arisawa, A.

Hydroxylation of testosterone by bacterial cytochromes P450 using the Escherichia coli expression system. Biosci. Biotechnol. Biochem. **70:**307-311, 2006.

2. 和文発表

1) 新見昌一、田辺公一、和田俊一、山崎亜希子、上原至雅、Kyoko Niimi, Erwin Lamping, Ann R Holmes, Brian C. Monk, Richard D. Cannon: 病原真菌の ABC トランスポーター —機能解析に関する最近の知見—、日本医真菌学雑誌 46, 249-260, 2005.

2) 上原至雅、深澤秀輔：細胞がん化のシグナル伝達と新規リード探索、がん研究の今３、中村祐輔/稲澤譲治編、がんの診断と治療（東大出版会）、pp199-208、2006.

3) 鈴木和男：好中球 Myeloperoxidase、感染・炎症・免疫、35 巻 12-23、2005.

4) 鈴木和男：MPO-ANCA 関連血管炎のモデル動物、炎症と免疫、13 巻 473-479、2005.

5) 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、Pharma Medica 23, 92-93、2005.

6) 鈴木和男：感染症を抑え込め：大規模予測モデルの実力－監訳、日経サイエンス 2005 年 6 月号 pp66-75、2005.

7) 鈴木和男：「第一土曜特集：「血管炎の基礎と臨床」６．ANCA 関連血管炎における好中球の関与」医学のあゆみ、214:31-37、 2005.

8) 鈴木和男：血管炎と好中球 Myeloperoxidase、リウマチ科 34:549-258、 2005.

9) 鈴木和男、長尾朋和、中山俊憲、山口正視：真菌分子誘導の好中球活性化の微細構造解析、千葉大学 真菌医学研究センター報告 第 9 巻 p86、 2005

10) 石野敬子：薬剤耐性遺伝子. 畜産技術 8 月号 p35, 2005.

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1) Holmes AR, Tsao S, Niimi K, Lamping E, Niimi M, Kaneko A, Monk BC, Cannon RD.: Amino acid residues critical for drug pump function in *Candida albicans*. 2005 Joint Meeting of New Zealand Microbiology Society and New Zealand Society for Biochemistry and Molecular Biology, 22-25 November, 2005, Dunedin, New Zealand

2) Niimi K, Maki K, Ikeda F, Holmes AR, Lamping E, Niimi M, Monk BC, Cannon RD.: Micafungin is not an efflux pump substrate. 2005 Joint Meeting of New Zealand Microbiology Society and New Zealand Society for Biochemistry and Molecular Biology, 22-25 November, 2005, Dunedin, New Zealand

3) Kikuchi K, Niimi M, Totsuka K, Uchiyama T.: Reduced activity of micafungin against *Candida dubliniensis* strains isolated from blood. 45th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 15-19 December, 2005, Washington DC, USA.

4) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Maeda, N. and Koyama, H.: Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to the host defense against *Cryptococcus neoformans*. 13th Gordon Research Conference, June 12 － 17, 2005, Conecticut, USA.

5) Suzuki, K., Murayama, K., Nagao, T., Oharaseki, T., Hasegawa, A., Ishida-Okawara, A., N. Miura, N., Watanabe, N., Handa, M., Takahashi, K., Ohno, N., Minamitani, H., Nakayama, T. and Arai, T.: Contribution of CD69 to the development of coronary aeteritis induced with a vasculitis Inducer *Candida albicans* water soluble fraction. 13th Gordon Research Conference, June 12－17,2005, Conecticut, USA.

6) Ohno, N., N. Miura, N., Shinohara, H., Sankawa, H., Adachi, Y., I. Okawara, A. and Suzuki, K.: Strain dependency of CAWS-induced coronary arteritis in mice. 12th International ANCA workshop, June 15-18, 2005, Heidelberg, Germany.

7) Muso, E., Ito-Ihara, T., Ono, T., Imai, E., Yamagata, K., Akamatsu, A. and Suzuki, K.: Establishment of the evidence of beneficial effect of Intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy on MPO-ANCA related polyangiitis combining rapidly progressive glomerulonephritis (RPGN) in Japan. 12th International ANCA workshop, June 15-18, 2005, Heidelberg, Germany.

8) Ito-Ihara, T., Uno, K., Hoshino, A., Yamamoto, K., Komiya, T., Ishida-Okawara, A., Fukatsu, A., Kita, T., Suzuki, K. and Muso, E.: Sensitive detection of myeloperoxidase expression on neutrophil of patients with myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis. 12th International ANCA workshop, June 15-18, 2005, Heidelberg, Germany.

9) Fujimoto, S., Uezono, S., Hisanaga, S., Fukudome, K., Kobayashi, S., Tamura, N., Suzuki, K., Hashimoto, H. and

Nunoi, H.: Incidence of primary renal vasculitis in Miyazaki, Japan. 12th International ANCA workshop, June 15-18, 2005, Heidelberg, Germany.

10) Kobayashi, S., Tamura, N., Ihara, T., Muso, E., Suzuki, K., Yoshida, M., Nakabayashi, K., Tsuchiya, N., Kurosawa, M., Inaba, Y., Fujiomoto, S., Nunoi, H.,and Hashimoto, H.: Prevalence of microscopic polyangiitis/Wegener's granulomatosis and the ratio of P-,MPO-/C-,PR-3- ANCA in ANCA-associated vasculitis in Japan. 12th International ANCA workshop, June 15-18, 2005, Heidelberg, Germany.

11) Ishida-Okawara, A., Nagi-Miura, N., Oharaseki, T., Ohno, N., Takahashi, K., Okamura, H., A. Ward, P. and Suzuki, K.: Neutrophil activation as in initial step with CAWS in mouse. 12th International ANCA workshop, Heidelberg, June 15-18, 2005, Germany.

12) Suzuki, K., Murayama, K., Nagao, T., Oharaseki, T., Hasegawa, A., Ishida-Okawara, A., N. Miura, N., Watanabe, N., Handa, M., Takahashi, K., Ohno, N., Minamitani, H., Nakayama, T. and Arai, T.: Contribution of CD69 to the development of coronary aeteritis induced with a vasculitis Inducer *Candida albicans* water soluble fraction. 12th International ANCA workshop, June 15-18, 2005, Heidelberg, Germany.

13) Hoshino, A., Nagao, T., Murayama, K., Ishida-Okawara, A., Ito-Ihara, T., Uno, K., Muso, E., Nagi-Miura, N., Ohno, N., Naoe, S., Tokunaka, K., Yasuhara, M., Yamamoto K. and Suzuki, K.: Trace of antibody to myeloperoxidase (MPO) with nanocrystal quantum dots-labeled antibody recognizing activating neutrophils in glomerulonephritis and a vasculitis inducer CAWS-injected mice. 12th International ANCA workshop, June 15-18, 2005, Heidelberg, Germany.

14) Ito-Ihara, T., Uno, K., Ono, T., Fukatsu, A., Kita, T., Suzuki, K. and Muso, E.: Circulating myeloperoxidase and cytokine profiles in myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis. 3rd World Congress of Nephrology, June 26-30, 2005, Singapore.

15) Suzuki, K.: Trace of Antibody to Myeloperoxidase (MPO) with Nanocrystal Quantum Dots-Labeled Antibody Recognizing Activating Neutrophils in Glomerulonephritis and a Vasculitis Inducer Candida albicans Water-Soluble Glycoprotein CAWS-Injected Mice.The 10th Keihanna Conference on Molecular Biophysics (KCMB 2005): Frontiers of biomedical micro-imaging: How to elucidate key function of bio-world. July 31st (Sunday) -August 2nd, 2005, Keihanna, Kyoto.

16) Kura, F., Kobayashi, S., Amemura-Maekawa, J., Aratani, Y., Suzuki, K. and Watanabe, H.: Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to the host defense against Legionella pneumophila. 6th International Conference on Legionella, Oct. 16-20, 2005, Chicago, USA.

17) Miura, N., Komai, M., Shingo, Y., Adachi, Y., Okawara, A., Oharaseki, T., Takahashi, K., Naoe, S., Suzuki, K. and Ohno, N.: Cytokine synthesis of splenic lymphocytes in murine coronary arteritis model induced by CAWS (*Candida albicans* water-soluble fraction) administration.International Cytokine Society Conference, Oct. 27-31, 2005, Soul.

18) Ohtomi, M., Koshimizu, Y., Yamagoe, S. and Suzuki, K.: Localization of LECT2 mRNA in mouse brain and morphological features of both neurons and astrocytes in LECT2-KO mice. 235th Annual NFS Meeting, Nov. 12-16, 2005, Washington DC.

19) Suzuki, K.: Pandemic Issues from a National Health Perspective in Japan. Global Pandemic Initiative Steering Meet, Nov. 14-15, 2005, New York.

20) Suzuki K.:Estimation of the development of rapid progressive glomerulonephritis (RPGN) by the Quantum Dots. International Symposium on Colloidal Quantum Dots for Bio-Medical Applications and Their Safety, Nov. 26, 2005, Kobe.

21) Suzuki, K.: Introduction and Closing Remark. The 2nd International Symposium on Transmission Models for Infectious Diseases Preparing for Pandemic Influenza, Jan. 19-20, 2005, Tokyo.

22) Yasuda, H., Yoshizawa, N. and Suzuki, K.: Spread of Influenza, in Case of a Suburban Railroad of Tokyo. The 2nd International Symposium on Transmission Models for Infectious Diseases Preparing for Pandemic Influenza, Jan. 19-20, 2006, Tokyo.

23) Hoshino, A., Nagao, T., Fujioka, K., Ihara, T.I., Uno, K., Muso, E., Murayama, K., Okawara, A.I., Miura, N.N., Ohno, N., Naoe, S., Tokunaka, K., Yasuhara, M., Yamamoto, K. and Suzuki, K.: Trace of Antibody to Myeloperoxidase with Nanocrystal Quantum Dot-Labeled Antibody Recognizing Activating Neutrophils in Glomerulonephritis and Vasculitis Inducer *Candida*

albicans Water-Soluble Glycoprotein-Injected Mice（Candida albicans Water-Soluble Glycoprotein-Injected）. International Society for Opitcal Engineering BIOS Meeing, Jan. 21-25 2006, San Jose, USA.

24) Suzuki, K.: MPO-ANCA in the pathogenesis of experimental renal vasculitis: MPO-ANCA stimulation of cultured glomerular endothelial cells in the MPO knock-out mouse. International Forum in Immune-diseases, Feb. 2, 2006, Sendai.

25) Suzuki, K.: Immunomodulatory therapy for vasculitis with synthetic IVIG based on global request. International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

26) Fujimoto, S., Uezono, S., Hisanaga, S., Fukudome, K., Kobayashi, S., Suzuki, K., Hashimoto, H., Nunoi, H.: Incidence of ANCA-associated primary renal vasculitis in Miyazaki Prefecture: The first population-based, retrospective epidemiological survey in Japan. International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

27) Nozu, T., Kondo, M., Suzuki, K. and Nagai, A.: Prevalence and clinical manufestation of pulmonary fibrosis in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

28) Muso, E., Ihara, T.I., Uno, K., Kishida, T., Suzuki, K. and Hashimoto, H.: Clinical Traial for IVIg therapy in MPO-ANCA related microscopic polyangiitis (MPA) with rapidly progressive glomerulonephritis(RPGN). International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

29) Takahashi, K., Oharaseki, T., Yamada, H., Miura, N.N., Ohno, N., Murayama, K., Nozu, T., Matsumura, M., Okawara, A.I., Suzuki, K., Arai, T. and Aratani, Y.: The effect of synthetic immunoglobulin (SyIG) in mice vasculitis model caused by CAWS. International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

30) Ohno, N., Miura, N., Ishibashi, K., Shinohara, H., Adachi, Y., Takahashi, K., Oharaseki, T., Naoe, S., Okawara, A. and Suzuki, K.: Culture condition modulates active moiety of CAWS, vasculitis inducer from *C. albicans*. International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

31) Okawara, A.I., Miura, N.N., Oharaseki, T., Takahashi, K., Okumura, A., Tachikawa, H., Kashiwamura, S., Okamura, H., Ohno, N., Peter A. Ward and Suzuki, K.: Activation of neutrophils in the initial step of arteritis induction by CAWS. International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

32) Ihara, T.I., Uno, K., Komiya, T., Tsujii, T., Tsukamoto, T., Kishida, T., Ono, T., Suzuki, K., Fukatsu, A., Kita, T. and Muso, E.: Circulating levels of IL-12, 23 and IL-18 in patients with MPO-ANCA-associated vasculitis.International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

33) Ono, T., Hiasa, S., Uemura, K., Liu, N., Ihara, T.I., Tokunaka, K., Muso, E., Okawara, A.I. and Suzuki, K.: The relationship between renal lesions and lung vascular lesions in SCG/Kj mice as a model of ANCA-associated crescentic glomerlonephritis.International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

34) Hoshino, A., Yamamoto, K. and Suzuki, K.: Usage of Quantum dots for the evaluation of vasculitis. International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

35) Yamanishi, Y., Oiwa, H., Okazaki, T., Okawara, A.I. and Suzuki, K.: Usefulness of nMPO-ANCA in diagnosing and treating vasculitis-discrepancy between MPO-ANCA and nMPO-ANCA-. International Symposia on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Feb. 7, 2006, Tokyo.

36) Suzuki, K., Yamamoto, K. and Shigematsu, M.: Simulation of infectious disease, Feb. Simulation Conference in the Imperial College of London, 13, 2006, London.

37) Suzuki, K., Yamamoto, K. and Shigematsu, M.: Simulation of infectious disease. Simulation Conference simulation in Health Protection Agency, Porton Down, UK, Feb. 13,

2006.

38) Suzuki, K., Yamamoto, K. and Shigematsu, M.: Simulation of infectious disease. Simulation Conference in Zoology, Oxford University , Feb. 14, 2006.

39) Suzuki, K.: Genes related with MPO-ANCA associated vasculitis. Seminar in vasculitis, Addenbrookes Hospital, Feb. 15,2006, Cambridge, UK.

40) Suzuki, K.: Role of MPO-antibody. Department Seminar, Department of Medicine, March. 8,2006, TUHSC-San Antonio, TX, USA.

41) Suzuki, K.: MPO antibody targets glomerular endothelium. Laboratory Seminar, MTF, University of Iowa, USA, March. 10, 2006, Iowa, USA.

42) Suzuki, K., Akita, K. and Kudo, K.: Treatment for avian flu in Hanoi-Vietmam. Hospital Conference, National Institute of Tropical Medicine, March. 15, 2006, Hanoi, Vietnam..

2．国内学会等

1) 田辺公一、Kyoko Niimi、Erwin Lamping、Richard D. Cannon、Brian C. Monk、上原至雅、新見昌一：病原真菌の ABC タンパク質の作用メカニズムの解明に向けて 第 2 回真菌若手研究会 平成 17 年 9 月 30 日、千葉

2) 村山琮明、梅山　隆、新見昌一、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 49 回日本医真菌学会総会　平成 17 年 10 月 6-7 日、幕張

3)) Niimi K, Maki K, Ikeda F, Holmes AR, Lamping E, Niimi M, Monk BC, Cannon RD.: Micafungin is not an efflux pump substrate. 第 49 回日本医真菌学会総会 平成 17 年 10 月 6-7 日、幕張

4) 菊池　賢、杉田　隆、池田玲子、亀井克彦、槙村浩一、新見昌一、上原至雅: 我が国の洞窟探検家の抗ヒストプラスマ、抗トリコスポロン抗体価と洞窟入洞後の呼吸器症状との関連について 第 49 回日本医真菌学会総会 平成 17 年 10 月 6-7 日、幕張

5) 花岡　希、普後　一、新見昌一: カイコ感染実験モデルを用いた *Candida albicans* プロテインフォスファターゼ破壊株の病原性解析 第 28 回日本分子生物学会 平成 17 年 12 月 7−10 日、福岡

6) 田辺公一、高野幸枝、岡和田敦、上原至雅、新見昌一: 病原真菌 ABC タンパク質と機能阻害物質との相互作用部位の検討 第 79 回　細菌学会大会総会 平成 18 年 3 月 29−31 日 金沢

7) 村山琮明、根岸由美子、梅山　隆、金子亜希、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 DNA アレイ解析 第 79 回　細菌学会大会総会平成 18 年 3 月 29−31 日 金沢

8) 深澤秀輔、上原至雅：プロテインキナーゼ阻害物質の探索。長浜バイオ大学、文部科学省がん特定領域研究・化学療法基盤情報支援班共催シンポジウム「ケミカルゲノミクスから抗癌剤創薬への展開」　平成 17 年 11 月 4 日、長浜

9) 山越　智、白形正樹、橋本ゆき、村上裕子、深澤秀輔：EB ウイルス EBNA1 に結合する TAF-I 蛋白質の作用機構の解析、第 53 回日本ウイルス学会、平成１７年１１月 20-22 日、横浜

10) 荒谷康昭、倉　文明、渡辺治雄、高野幸枝、鈴木和男、小山秀機：真菌感染と好中球機能、第 78 回日本細菌学会総会シンポジウム、平成 17 年 4 月 4 日−5 日、東京.

11) 多田　塁、三浦典子、安達禎之、鈴木和男、大野尚仁：*Candida albicans* 菌体由来多糖画分と LPS（*E. coli* O9）の免疫化学・生物活性の交差反応性の解析、第 78 回日本細菌学会総会、平成 17 年 4 月 4 日−6 日、東京.

12) 西久保敏也、辰巳公平、釜本智之、坂東由香、内田優美子、西野正人、亀岡洋祐、伊東玲子、鈴木和男：Myeloperoxidase 欠損症の 1 新生児例、第 15 回日本産婦人科・新生児血液学会、平成 17 年 6 月 3 日−4 日、奈良市.

13) 鈴木和男：安全なガンマグロブリン製剤−血管炎治療をめざして−、第１２回代替血液学会、平成 17 年６月６－７日、東京.

14) 輿水洋平、山越　智、鈴木和男、大富美智子：脳における LECT2 タンパクの発現解析、生体防御機能ワークショップ 2005 -第２回香川ガレクチンカンファレンス共催、平成 17 年 6 月 9 日−10 日、高松.

15) 原田敏江, 川南裕美, 三浦典子, 安達禎之, 鈴木和男, 大野尚仁：真菌多糖による GM-CSF を介したサイトカイン産生誘導機構、生体防御機能ワークショップ 2005 -第２回香川ガレクチンカンファレンス共催、平成 17 年 6 月 9 日−10 日、高松.

16) 鈴木和男、村山　研、長尾朋和、大川原明子、大原関利章、高橋　啓、長谷川明洋、三浦典子、大野尚仁、渡邊直英、半田　誠、南谷晴之、野津朋子、永井厚志、新井孝夫、中山俊憲：生体防御機能ワークショップ 2005 -第２回香川ガレクチンカンファレンス共催、平成 17 年 6 月 9 日−10 日、高松.

17) 猪原登志子、大川原明子、劉　寧、日浅俊介、雑賀　寛、根本久一、武曾恵理、鈴木和男、北　徹、小野孝彦：

ANCA 関連半月体形成性糸球体腎炎モデル SCG/Kj マウスにおける好中球活性化と凝固系活性化を介した半月体形成機序、第 48 回日本腎臓学会学術総会、平成 17 年 6 月 24 日、横浜.

18) 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、小野孝彦、岸田綱太郎、鈴木和男、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の動態、第 48 回日本腎臓学会学術総会、平成 17 年 6 月 24 日、横浜.

19) 星野昭芳、長尾朋和、村山　研、大川原明子、猪原登志子、武曾恵理、宇野賀津子、三浦典子、大野尚仁、直江史郎、徳中一寛、安原眞人、山本健二、鈴木和男：血管炎発症初期の好中球活性化に関与する血中サイトカインの変動と QD 標識 MPO 抗体の in vivo トレース、第 70 回 日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、平成 17 年 7 月 20-21 日、京都.

20) 長尾朋和、村山　研、大川原明子、大原関利章、高橋啓、長谷川明洋、三浦典子、大野尚仁、渡邊直英、半田　誠、南谷晴之、野津朋子、永井厚志、新井孝夫、中山俊憲、鈴木和男：CD69 関与の血管炎発症に連動する８種サイトカインの挙動、第 70 回 日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、平成 17 年 7 月 20-21 日、京都.

21) 猪原登志子、宇野賀津子、古宮俊幸、辻井知美、塚本達雄、岸田綱太郎、小野孝彦、鈴木和男、深津敦司、北　徹、武曾恵理：ANCA 関連血管炎症候群における IL-12 と IL-18 の動態、第 70 回 日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、平成 17 年 7 月 20-21 日、京都.

22) 武曾恵理、猪原登志子、古宮俊幸、宇野賀津子、岸田綱太郎、鈴木和男：シンポジウム１『生体防御異常が誘発する難治性疾患』難治性血管炎の発症機序と治療戦略、第 16 回日本生体防御学会学術総会、平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

23) 荒谷康昭、倉　文明、渡辺治雄、高野幸枝、赤川久義、鈴木和男、小山秀機：好中球の機能異常が誘発する真菌感染、第 16 回日本生体防御学会学術総会、平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

24) 亀岡洋祐、伊東玲子、笠間　毅、鈴木哲朗、猪原登志子、武曾恵理、鈴木和男：ミエロペルオキシダーゼ遺伝子コード領域の多型（SNP）と炎症性疾患の重篤度との関係、第 16 回日本生体防御学会学術総会、平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

25) 朽津和幸、小笠原よう子、門田康弘、平岡吾朗、耒須孝光、賀屋秀隆、山越　智、鈴木和男：シンポジウム 3『生体防御の役割をになう新ファミリーNOX:　植物－動物』植物の生体防御反応における NOX の機能と Ca^{2+}・リン酸化・細胞周期を介した活性制御、第 16 回日本生体防御学会学術総会、平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

26) 倉文明、小林静史、前川純子、常　彬、荒谷康昭、鈴木和男、渡辺治雄：シンポジウム 3『生体防御の役割をになう新ファミリーNOX:　植物－動物』*Legionella pneumophila* に対する感染防御機構、NOX2 など、第 16 回日本生体防御学会学術総会、平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

27) 鈴木和男：パネルディスカッション『感染症防御－歴史と新しい研究アプローチに向けて』、第 16 回日本生体防御学会学術総会、平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

28) 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 16 回日本生体防御学会学術総会 平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

29) 長尾朋和、村山　研、野津朋子、大川原明子、大原関利章、高橋　啓、長谷川明洋、三浦典子、大野尚仁、渡邊直英、半田　誠、南谷晴之、永井厚志、新井孝夫、中山俊憲、鈴木和男：CD69 分子と活性化好中球による血管炎発症、第 16 回日本生体防御学会学術総会、平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

30) 星野昭芳、長尾朋和、村山　研、大川原明子、猪原登志子、武曾恵理、宇野加津子、三浦典子、大野尚仁、直江史郎、徳中一寛、安原眞人、山本健二、鈴木和男：量子ドット(QD)標識抗マウス MPO 抗体を用いた血管炎発症に関わる活性化好中球 MPO 分子の蛍光による検出、第 16 回日本生体防御学会学術総会、平成 17 年 8 月 4 日～8 月 6 日、東京.

31) 鈴木和男：シンポジウム「バイオイメージングとナノとの融合によるブレークスルー」、第３７回化学工学会、平成 17 年 9 月 15 日～17 日、岡山市.

32) 猪原登志子、大川原明子、劉　寧、日浅俊介、雑賀　寛、根本久一、武曾恵理、鈴木和男、北　徹、小野孝彦：SCG/Kj マウスにおける好中球活性化と糸球体内凝固の進行、第 17 回　腎とフリーラジカル研究会、平成 17 年 9 月 17 日、岡山

33) 鈴木和男：好中球自己抗体による血管炎発症機構解析とその治療、生体防御研セミナー、平成 17 年 10 月 14 日、福岡.

34) 荒谷康昭、倉　文明、渡辺治雄、赤川久義、高野幸枝、

鈴木和男、Nobuyo Maeda、小山秀機：ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのクリプトコッカス感染防御能の低下、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

35) 大野尚仁、篠原弘靖、三浦典子、石橋健一、安達禎之、大川原明子、鈴木 和男、大原関利章、高橋　啓、直江史郎：真菌由来の PAMPs、*Candida albicans* Water-soluble fraction (CAWS) の血管炎惹起能におけるβマンノース残基の影響、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

36) 亀岡洋祐、Amanda S. Persad 、 鈴木和男：ミエロペルオキシダーゼのリーダーペプチドに対する抗体の性状、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

37) 富澤一夫、鈴木倫太郎、田之倉優、鈴木和男：ヒト MPO 分子にける MPO-ANCA エピトープ解析、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

38) 武曾恵理、鈴木進子、岩崎由加子、辻井知美、古宮俊幸、米本智美、塚本達雄、猪原登志子、宇野賀津子、鈴木和男：MPO-ANCA 関連腎炎血管炎に合併する悪性疾患症例の解析と考察、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

39) 猪原登志子、大川原明子、劉　寧、日浅俊介、雑賀　寛、根本久一、北　徹、武曾恵理、鈴木和男、小野孝彦：ANCA 関連半月体形成性糸球体腎炎モデル SCG/Kj マウスにおける好中球 MPO 放出と凝固系活性化を介した半月体形成機序、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

40) 猪原登志子、宇野賀津子、古宮俊幸、辻井知美、塚本達雄、岸田綱太郎、小野孝彦、鈴木和男、深津敦司、北　徹、武曾恵理：ANCA 関連血管炎症候群における IL-12, IL-23 と IL-18 の動態、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

41) 太刀川仁、大川原明子、徳中一寛、相澤義房、鈴木和男：MPO-ANCA 関連半月体形成腎炎モデルマウス（SCG/K j マウス）における Th バランスの検討、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

42) 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 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

43) 鈴木和男、長尾朋和、村山　研、大川原明子、大原関利章、高橋　啓、長谷川明洋、三浦典子、大野尚仁、渡邊直英、半田　誠、南谷晴之、野津朋子、永井厚志、新井孝夫、中山俊憲：好中球血管炎発症にかかわる CD69 分子と活性化好中球」、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

44) 松村実美子、長尾朋和、三川浩輝、村山 研、大川原明子、南谷晴之、鈴木和男：血管炎発症機構の解析：MPO-ANCA と好中球の糸球体内皮細胞への作用、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

45) 猪原登志子、宇野賀津子、古宮俊幸、辻井知美、塚本達雄、岸田綱太郎、小野孝彦、鈴木和男、深津敦司、北　徹、武曾恵理 ：ANCA 関連血管炎症候群における IL-12, IL-23 と IL-18 の動態、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

46) 鈴木和男、星野昭芳、長尾朋和、猪原登志子、宇野賀津子、徳中一寛、大川原明子、三浦典子、大野尚仁：Q ドットによる進行性糸球体腎炎の評価、第 11 回 MPO 研究会、平成 17 年 10 月 15～16 日、福岡.

47) 松村実美子、長尾朋和、三川浩輝、村山 研、大川原明子、南谷晴之、鈴木和男：血管炎発症機構の解析：MPO-ANCA と好中球の糸球体内皮細胞への作用、第 14 回日本バイオイメージング学会、平成 17 年 10 月 26－28 日、東京.

48) 富澤一夫，鈴木倫太郎，田之倉優，鈴木和男：ヒト MPO 分子における MPO-ANCA エピトープ解析、第 14 回日本バイオイメージング学会、平成 17 年 10 月 26－28 日、東京.

49) 鈴木和男：好中球自己抗体ＭＰＯ－ＡＮＣＡの抗原性と病態、第 33 回臨床免疫学会、平成 17 年 10 月 28―30 日、京都.

50) 鈴木和男：血管炎発症機構における CD69 分子を介する好中球・血小板相互反応、第 28 回日本血栓止血学会、平成 17 年 11 月 23－25 日、福岡.

51) 飛田俊介、三浦典子、安達禎之、鈴木和男、中山俊憲、大野　尚仁：βグルカンを用いたコラーゲン誘発関節炎モデルにおける CD69 の発現解析、第 28 回分子生物学会、平成 17 年 12 月 8－10 日 、福岡

52) 亀岡洋祐、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の細胞内局在、第 28 回分子生物学会、平成 17 年 12 月 8－10 日 、福岡.

53) 松村実実子、長尾朋和、三川浩輝、村山 研、大川原明子、南谷晴之、鈴木和男：血管炎発症機構の解析：MPO-ANCA と好中球の糸球体内皮細胞への作用、第 28 回分子生物学会、平成 17 年 12 月 8－10 日 、福岡.

54) 野津朋子、松村実美子、大川原明子、長谷川明洋、中山俊憲、永井厚志、鈴木和男：活性化好中球関与の肺

血管内皮細胞の機能解析、第 28 回分子生物学会、平成 17 年 12 月 8－10 日 、福岡

55) 富澤一夫、鈴木倫太郎、田之倉優、鈴木和男：ヒト MPO 分子上の MPO-ANCA 結合部位エピトープ解析、第 28 回分子生物学会、平成 17 年 12 月 8－10 日 、福岡

56) 長尾朋和、大原関利章、長谷川明洋、大川原明子、三浦典子、野津朋子、高橋啓、大野尚仁、南谷晴之、新井孝夫、中山俊憲、鈴木和男：CD69 contributes to the development of vasculitis、第 35 回免疫学会、平成 17 年 12 月 13－15 日、横浜.

57) 大川原明子、三浦典子、大原関利章、高橋　啓、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、第 35 回免疫学会、平成 17 年 12 月 13－15 日、横浜.

58) 鈴木和男、星野昭芳、長尾朋和、猪原登志子、宇野賀津子、徳中一寛、大川原明子、三浦典子、大野尚仁：血管炎発症初期の好中球活性化に関与する血中サイトカインの変動と QD 標識 MPO 抗体の in vivo トレース、第 35 回免疫学会、平成 17 年 12 月 13－15 日、横浜.

59) 大野尚仁、三浦典子、石橋健一、安達禎之、高橋　啓、大原関利章、直江史郎、大川原明子、鈴木和男：*Candida albicans* 由来の血管炎惹起物質 CAWS の活性部位の解析、第 35 回免疫学会、平成 17 年 12 月 13－15 日、横浜.

60) 鈴木和男：公開シンポジウム－人工血液をつくる（６）「安全な人工ガンマグロブリン製剤の開発の現状 - 血管炎治療をめざして」、平成 18 年 2 月 11 日、東京.

61) 鈴木和男：ベトナムにおける高病原性インフルエンザの発生状況と生体防御機構の関与とその対策、千葉県危機対策講演会、平成 18 年 3 月 23 日、千葉.

62) 鈴木和男：超臨界ハイブリ量子ドットを使ったＤＤＳ、イメージングと治療法、科学技術連携施策群ワークショップ「ナノバイオロジー」、平成 18 年 3 月 29 日、東京.

63) 星野泰隆, 矢沢勝清, 深井俊夫, 三上　襄, 石川　淳：病原性放線菌 *Nocardia farcinica* の生産するシデロフォアについて. 平成 17 年 4 月 4-6 日, 第 78 回日本細菌学会総会, 東京

64) 石川　淳：放線菌ゲノム解析から見える環境適応. 平成 17 年 8 月 26-29 日, 第 7 回日本進化学会, 仙台

65) 向井　啓, 松本優子, 武田健二郎, 矢沢勝清, 深井俊夫, 星野泰隆, 石川　淳, 三上　襄：*Nocardia transvalensis* の生産するサリチル酸構造を有する新規抗微生物活性化合物とその生産に関与する遺伝子. 第 20 回日本放線菌学会大会, 平成 17 年 9 月 7-8 日, 富山

66) 石川　淳, 千葉和宏, 栗田晴代, 武田健二郎：RNA ポリメラーゼ β サブユニット遺伝子の重複による *Nocardia* のリファンピシン耐性. 第三回薬剤耐性菌研究会, 平成 17 年 11 月 25-26 日, 群馬

67) 千葉和宏, 石野敬子, 星野泰隆, 佐藤浩之, 石川淳：*Nocardia* における宿主・ベクター系の開発. 文部省科学研究費補助金・特定領域研究「統合ゲノム」主催, 第 8 回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンティア」, 平成 18 年 3 月 3-4 日, 木更津

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、ウイルス、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、クラミジアにおける脂質代謝、C 型肝炎ウイルス感染における膜脂質代謝、エンドトキシンの構造と機能に関する研究、抗感染症薬を指向した脂質代謝阻害剤の開発研究など、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プロテオーム解析の手法等を用いて行い、着実に成果を挙げた。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 17 年度は 5 件の検査を行い、非定型型の BSE を一件検出した。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」を無事に終了させた。

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。また、科学技術振興事業団（戦略的基礎研究推進事業)「さきがけ研究―代謝と機能制御」の研究総括を担当することになった。

本年度も当研究部の研究に対し、経常研究費に加え、厚生労働省、文部科学省、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．プリオン病に関する研究

（１）非定型的 BSE プリオン（佐世保例）の生体内分布

平成 17 年度（H18.3.31）までに、我が国では２４頭の BSE 感染牛が厚労省の全頭検査（2001 年から実施）及び農産省の死亡牛検査(2003 年から実施)により摘発されている。殆どは乳用のホルスタイン種であるが、２４例目（佐世保例)の陽性牛は肉用の黒毛和種(169ヶ月齢､雌、起立障害)である事に加えてプリオンの糖鎖型が通常の牛異常型プリオンタンパク質が示す 4/2B 型と異なる非定型プリオンであることから注目を集めた。本研究ではウエスタンブロット法によりプリオンの分布に付いて検討した。扁桃、リンパ節、筋肉（肋間筋）及び副腎等からはプリオンは検出されず､従来型と同様に末梢の組織、臓器には蓄積しないと考えられる。プリオンは大脳の前頭葉から頭頂葉にかけて広く分布するが後頭葉での蓄積は極めて少なかった｡小脳にも中程度の蓄積を認めるが、食肉検査で使用される延髄の閂部に多量の蓄積が認められた。今回の試料では視床を含む基底核部分が採材されておらず、脳におけるプリオンの完全な分布様式を示す事は出来なかったが、得られたデータから今回の非定型プリオンの分布は従来型とほぼ同様と考えられ、現行の危険部位の定義及び、検査方法で対処できるものと思われる。

［山河芳夫、中村優子、萩原健一］

（２）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(PrP^{Sc})の産生抑制

PrP^{Sc} を持続的に産生するマウス神経芽腫細胞（ScN2a 細胞)を用いた研究から､昨年度は PrP^{Sc} の産生が 24-DHC 還元酵素の阻害剤（U18666A）により抑制されることを

示した。本年度は、7-dehydrocholesterol (7-DHC)還元酵素の阻害剤（AY-9944）が、PrP^{Sc} の産生を抑えること新たに見出した。AY-9944 の作用機作は、酵素阻害によるコレステロール生合成の直接的阻害に加え、蓄積した 7-DHC がステロール合成の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素の遺伝子転写をフィードバック抑制する相乗効果によって、コレステロール量が減少するためと考えられた。一方、U18666A では、AY-9944 の場合と同様の機作によるコレステロール量の減少も関与するものの、むしろデスモステロールの蓄積による細胞膜の物性変化が主たる作用機作であると推測された。両薬物は、中枢神経系のステロール代謝研究においてラット等へ投与された報告がある。これらの既報に記された投与量に基づき、プリオン感染マウスに U18666A および AY-9944 を投与して抗プリオン薬としての効果を検討したが、薬物非投与のコントロール群と比較してプリオン病発症の遅延は認められなかった。

［萩原健一、中村優子、大内史子、西島正弘、山河芳夫］

（３）選択性に優れた異常型プリオン蛋白質の高感度分析法の開発

現行の BSE 一次検査において用いられているサンドイッチ ELISA は、可溶性の生体分子（ホルモンなど）を対象とした ELISA 法の方法論を踏襲している。しかし異常型プリオン蛋白質を測定対象とする場合、不溶性試料ゆえの測定系の不均一性やアミロイド様凝集体ゆえに適切な抗原部位の露出が困難であるという問題点が存在する。一次検査での疑陽性率をさらに低減させ、かつ陽性試料を高感度に検出するためには、これらの問題点の克服が重要であると考え、異常型プリオン蛋白質に由来するペプチド断片を均一系（可溶性系）において測定する方法の開発に着手した。初期検討の結果、異常型プリオン蛋白質のプロテイナーゼ K 抵抗性の消化断片を完全に変性させた後に、そのシステイン残基のチオール基を介して固相に共有結合させ、適切なエピトープをもつ抗体により検出するという方法が、検出の選択性向上に有用であると期待できた。しかし同時に、固相化効率の向上などの改善すべき点が明らかとなり、今後の条件検討が必要である。

［萩原健一］

（４）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、異常型プリオン蛋白質の蓄積と相関して変動するタンパク質を経時的・網羅的に解析してきた。昨年までに PrPsc の蓄積が顕著になる 100 日目以降で Glial fibrillay acidic protein や抗酸化ストレスタンパク質群の増加および液胞性 ATPase の膜表在サブユニットの減少を明らかにしてきた。本年度は増加の認められた神経軸索の伸展に関与する Collapsin response mediator protein-2 について解析し、Ｃ末端の活性調節部位を含む領域の欠損したアイソフォームが増加していることを明らかにした。

[大内史子、萩原健一、中村優子、山河芳夫、西島正弘]

（５）プリオン蛋白質に結合するタンパク質の検索

プリオンタンパク質(PrP)の機能を知る事を目的として、PrP と相互作用をするタンパク質の同定を試みた。タグ（Myc、TEV プロテアーゼ認識配列、FLAG）を付加した PrP（MEF-PrP）をマウス神経芽細胞（N2a 細胞）に発現させ、タグ部分に対する抗体を用いる免疫沈降法でプリオンタンパクを含む複合体を精製した。複合体に含まれるタンパク質を質量分析で解析した結果、HSP70、actin、neurabin 2、drebrin、peripherin 等のタンパク質が同定された。これらのうち、actin と periferin は細胞骨格構成タンパクであり、neurabin 2 と drebrin は F-actin と結合してシナプスの機能に関与することが知られている。さらに、免疫蛍光抗体法により、PrP が F-actin と共局在することも確認された。これらの結果から、PrP の機能として細胞骨格との相互作用によるシグナル伝達系の調節及び神経細胞の形態と機能の保持に関与する可能性などが考えられた。

［中村優子、萩原健一、大内史子、西島正弘、山河芳夫］

（６）ニューロンへ分化誘導させた培養細胞における PrP 分子間の相互作用

マウス神経芽腫細胞（N2a 細胞）を血清除去およびジブチリルサイクリック AMP（dbcAMP）添加により刺激すると、ニューロン様に分化して軸索が伸長することが知られている。3F4 抗体エピトープ配列をもつ PrP(MHM2-PrP)を安定発現する N2a 細胞を MEF-PrP を安定発現する N2a 細胞と共培養し、血清除去および dbcAMP 添加により分化誘導をかけた後、MEF タグによる免疫沈降を行なった。その結果、MEF-PrP と共に MHM2-PrP あるいは内在性 PrP が共沈殿した。一方、未分化の N2a 細胞においては、このような共沈は認められなかった。この結果から、分化した N2a 細胞においては、発現している PrP 分子間同士の相互作用の親和性が強まると考えられる。

[中村優子、萩原健一、西島正弘、山河芳夫]

（７）プリオン病バイオマーカー探索を目指した血液の

プロテオーム解析

プリオン病における血液中バイオマーカーを探索するため、予備的解析を開始した。病態に依存して組織から血液に侵出する微量なタンパク質を探索しようとする場合、血清中に多量に存在する古典的血清タンパク質が妨害すると予想される。LC-MS を用いたショットガンプロテオミクス法でタンパク質同定する際に、血液試料からイムノアフィニティーカラムによって古典的血清タンパクを事前に除去すると、比較的微量な血清タンパク質が検出しやすくなることを見出した。実際の病態タンパク質の検出にはさらなる検討が必要である。定量比較するために安定同位体を用いる標識法である Isotope-coded affinity tag 法について、標準タンパク質を用いて検討した。２種類の標識試薬によりそれぞれ標識した試料を混合して分析したところ、混合比 1:5 から 5:1 の範囲で適応可能であった。

[大内史子、山河芳夫]

Ⅱ．脂肪滴と C 型肝炎ウイルス(HCV)に関する研究

（１） 細胞内脂肪滴形成におけるアセチル CoA カルボキシラーゼ１の重要性

脂肪滴は全ての細胞に認められる球状オルガネラで、エネルギー産生・膜脂質代謝等に重要な役割を果たすと考えられており、脂肪蓄積を伴う様々な病態にも関与することが知られている。しかし、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株を分離し、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を明らかにしてきた。今回、この変異株にアセチル CoA カルボキシラーゼ１を発現させると脂肪滴形成が回復することから、アセチル CoA カルボキシラーゼ１が細胞内脂肪滴形成に重要であることが示された。

［深澤征義、西島正弘］

（２）Ｃ型肝炎ウイルスコアタンパク質と DDX1、DDX3 分子の共局在と相互作用

HCV コアタンパク質を発現する各種肝培養細胞株（HepG2、Huh7 由来）を用い、脂肪滴構成タンパク質の網羅的解析を行った結果、ATPase/RNA ヘリカーゼである DDX1・DDX3 分子の局在が特徴的に見られた。HCV 全長レプリコン発現肝培養細胞の脂肪滴においても DDX1・DDX3 分子の局在が特徴的に見られた。HCV コアタンパク質と DDX1・DDX3 分子が直接複合体を形成することもわかり、HCV 感染時に脂肪滴上でこれら分子複合体が何らかの機能を果たしていることが示唆された。

［佐藤慈子、深澤征義、山河芳夫、西島正弘: 鈴木哲朗、勝二郁夫、鈴木亮介、宮村達男（ウイルス２部)］

（３）Ｃ型肝炎ウイルスコアタンパク質発現による中間径フィラメントタンパク質の変動

HCV コアタンパク質は細胞内で脂肪滴以外に一部核にも局在し、何らかの病原性機能を発現していると考えられている。この過程に関与する宿主分子を検索する目的で、コアタンパク質発現肝培養細胞の細胞核濃縮画分（界面活性剤不溶性画分）タンパク質像を比較解析した。その結果、細胞核と共に分画されてくる細胞骨格蛋白質のうち中間径フィラメント蛋白質群が最も顕著に変動（上昇あるいは低下）していることが予想外に明らかになった。中間径フィラメント蛋白質と脂肪滴は相互作用することも知られておりその関連も注目される。

［笠原優子、深澤征義、大内史子、山河芳夫、西島正弘: 鈴木哲朗、宮村達男（ウイルス２部)］

（４）HCV のコア蛋白発現が脂肪酸修飾した培養肝細胞の脂質分子種組成に及ぼす影響の解析

HCV のコア蛋白発現が培養肝細胞の脂質組成に影響を及ぼす事が示唆されている。Huh7 培養肝細胞を各種脂肪酸存在下に培養するとその脂肪酸の種類により細胞の各脂質分子種が修飾を受けることを MALDI-QIT-TOF-MS により確認した。また、これらの細胞のうちステアリン酸修飾したコア蛋白発現細胞ではコントロール細胞に比べてホスファチジルエタノールアミンのステアリン酸を含む分子種の増加が観察された。一方、脂肪酸修飾によりコア蛋白の発現量は変動しなかった。これらの結果からコア蛋白発現が肝細胞のステアリン酸の合成系や代謝調節機構に影響を与えている可能性が示唆された。更に解析を進めている。

[田中康仁、小野佑仁、矢部邦章、深澤征義、佐藤慈子、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)]

Ⅲ．エンドトキシンに関する研究

（１）サルモネラ菌抗菌ペプチド感受性のリポポリサッカライド(LPS)脱アシル化による制御

抗菌ペプチドは脊椎動物、無脊椎動物、そして一部の細菌にまで幅広く生物界に存在し、動物では重要な生体防御因子と位置づけられる。抗菌ペプチドに共通した性質は陽性アミノ酸に富むことと疎水性領域を有することである。LPS リピド A リン酸基の修飾欠損サルモネラ菌株は表層電荷をマイナスからプラスへと変換できないために抗菌ペプチド・ポリミキシンに感受性が高い。一方、リン酸基修飾欠損株ではリピド A 脱アシル化が高頻度でみられたがその意義は不明であった。そこでリン酸基修

飾欠損株を親株としてリピド A 脱アシル化酵素 PagL の欠損株を作成し、ポリミキシン感受性への影響を解析した。PagL 欠損株は親株よりもポリミキシン感受性が高かった。従って、脱アシル化はポリミキシン感受性を制御していることがわかった。

[川崎清史、知名光太郎、西島正弘]

（２） エンドトキシンの毒性に関する研究

グラム陰性菌細胞壁由来 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。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。我々は、lipid A はマウスマクロファージの caspase-1 を活性化するが、MPL は LPS と同一のレセプター（TLR-4）を介しながらも活性化しない事などを明らかにした。

[桶本和男、川崎清史、花田賢太郎、西島正弘]

Ⅳ．シンドビスウィルス（SINV）に関する研究

（１） SINV の遺伝子発現におけるホスファチジルセリン（PS）の関与

我々は以前、CHO 細胞 PS 合成変異株と SINV レプリコンを用い、SINV サブゲノムの転写後から翻訳までの過程に、PS が関与することを示唆した。感染時の遺伝子発現における PS の関与を解析する目的で、同変異株に SINV を感染させたところ、細胞の PS 含量の低下により、転写されたサブゲノム量の低下と、同様な翻訳産物量の低下が観察された。この結果は、転写、又は転写前過程への PS の関与を示唆するものであり、レプリコン系で示した転写後過程への関与については、更なる検討が必要である。

[齊藤恭子、西島正弘：久下理（九大理院）]

Ⅴ．スフィンゴ脂質に関する研究

１．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） 小胞体-ゴルジ体間セラミド輸送をつかさどる蛋白質 CERT のリン酸化部位

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、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すでに明らかにしている。本年度は、哺乳動物細胞中で発現している CERT はリン酸化を受けていることを見出し、精製 CERT をトリプシン分解したペプチド断片の質量分析解析などから、リン酸化を受けている部位を決定した。

[熊谷圭悟、大内史子、花田賢太郎]

（２） CERT 機能における FFAT モチーフの役割

CERT はその FFAT モチーフに依存して小胞体膜蛋白質 VAP と相互作用することを昨年度までに見出している。本年度は、CERT の人工膜間セラミド転移活性は FFAT モチーフ変異によって損なわれないが、セミインタクト細胞を用いた小胞体-ゴルジ体間セラミド輸送再構成系におけるセラミド輸送活性は FFAT モチーフ変異によって阻害されることを見出した。よって、FFAT モチーフ依存性 VAP 相互作用は、CERT を効率よく小胞体に会合させるために重要であると示唆された。

[河野美幸, 熊谷圭悟, 花田賢太郎]

（３） 過剰生産するとライセニン耐性を CHO 細胞に賦与するヒト由来 cDNA の探索

ライセニンは SM 結合性の細胞溶解毒素である。レトロウイルスベクター上に構築されたヒト cDNA ライブラリーを導入した CHO 細胞をライセニン処理し、ライセニン耐性を示す５つの細胞株を取得した。分離したライセニン耐性株におけるスフィンゴ脂質代謝の変化を評価するために、[^{14}C]-セリンで代謝標識実験を行った。その結果、ライセニン耐性株 5 株全てが親株に比べて SM 合成量の低下を示した。

[花田賢太郎]

（４） 過剰生産すると SM 生産を阻害するキナーゼの発見

上記ライセニン耐性株に導入されているヒト cDNA を PCR 法で増幅後、回収し、シークエンシングに供した。その結果、タンパク質キナーゼ（タンパク質キナーゼ X と仮に命名する）をコードする cDNA を取得した。キナーゼ X cDNA を CHO 細胞に安定導入すると、導入細胞は、SM 合成量が低下するとともにライセニン耐性を獲得した。当該キナーゼは、SM 合成に関わるタンパク質のリン酸化を通じて、SM 合成を負に制御していると示唆される。今後、本キナーゼをさらに解析する予定である。

[富重斉生、花田賢太郎: 楠田潤（基盤研）]

（５） CERT のセラミド転移ドメインの結晶構造

CERT の膜間セラミド転移活性は、その C 末端領域約 250 アミノ酸が形成する START ドメインが担っている。この START ドメインの結晶化に成功した。さらに、いくつかの異なるセラミド分子種との共結晶の作成にも成

功した。今後、これら結晶のX線構造解析によって、CERTのセラミド認識メカニズムが原子レベルで解明されていくと期待できる。

[花田賢太郎、熊谷圭悟、西島正弘: 工藤紀雄、加藤龍一、若槻壮市（高エネ研）]

（６） 光増感作用処理後のアポトーシス死におけるMnSODの役割

光増感剤を用いた光力学治療(PDT)のよって引き起こされる酸化ストレスは、アポトーシス細胞死をもたらす。マンガンスーパーオキシダーゼ(MnSOD)を過剰生産させるとPDTによる細胞死が減少し、一方、MnSOD遺伝子欠損細胞では、細胞死やセラミド蓄積が増加することを見出した。これらの結果は、PDT出発生するスーパーオキシダーゼが細胞死に関わっていることを示唆している。

[花田賢太郎: Vladislav Dolgachev, Larry W. Oberley, Ting-Ting Huang, Janice M. Kraniak, Michael A. Tainsky, and Duska Separovic (ユージン・アップルバウム薬学衛生科学大学)]

２．クラミジア封入空胞におけるジアシルグリセロールの蓄積

タンパク質リン酸化酵素C デルタ(PKCd)のC1ドメインと蛍光タンパク質との融合タンパク質をジアシルグリセロールの検出プローブとして用いたところ、クラミジア封入空胞に顕著なジアシルグリセロール蓄積が観察された。全長のPKCd自身もクラミジア封入空胞に集まることも見出した。通常、PKCd はミトコンドリアや核において前アポトーシス効果を発揮していると考えられている。よって、ジアシルグリセロール蓄積しているクラミジア封入空胞上にPKCdを奪うことで、クラミジア菌は宿主細胞のアポトーシス死を阻害しているのかもしれない。

[花田賢太郎: Shirley M. L. Tse, David Mason, Roberto J. Botelho, Basil Chiu, Mary Reyland, Robert D. Inman, and Sergio Grinstein (トロント大学)]

３．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系

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る。昨年度までに IPCS 活性の半自動化アッセイ法を開発した。本年度は、探索の効率化を目指し、384 穴プレートを使用したアッセイ系の構築を実施した。96穴プレートと比較し4倍の高密度であるため、分注作業、ロボットによる移送時間の短縮が期待でき、また、放射性廃棄物の削減にも成功した。

[花田賢太郎；田端祐二、山本憲太郎、星子繁（明治製菓）]

（２） IPCS阻害剤探索と候補化合物の予備解析

上記アッセイ法を用いて IPCS 阻害剤のスクリーニングを開始し、合成化学物質ライブラリーを中心に約1万化合物のスクリーニングを行った。一次スクリーニングにおいて、複数のヒット化合物があったものの、阻害活性が強いものはまだ得られていない。放線菌培養ブロスに対するスクリーニングも含めたさらなるスクリーニングを行う予定である。

[富重斉生、西島正弘、花田賢太郎；田端祐二、山本憲太郎、大山真、大澤福市、星子繁（明治製菓）]

VI. 脂質分析法に関する研究

（１）MALDI-QIT-TOF-MSによる主要リン脂質とトリグリセリドの簡便な網羅的分子種分析法の開発

MALDI-QIT-TOF-MS を用いて微量試料中の主要リン脂質とトリグリセリド(TG)の簡便で網羅的な分子種分析法を開発した。脂質抽出後直ちにDHBAマトリックスを用いたポジティブモード測定によりホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、TG の、また p-ニトロアニリンマトリックスを用いたネガティブモード測定によりホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトールの各分子種を計２回の測定で分析できた。各分子種はMS-MS分析により確認した。この方法は精密ではないが短時間で主要脂質分子種の大要がわかるので多くの一次検査等に応用可能と考えられ、改良を進めている。

[田中康仁、西島正弘：田口　良(東京大学医学部メタボローム)]

（２）MALDI-QIT-TOF-MS によるプロスタグランジンE_2定量法の確立と水溶液中での安定性について

0.2μg プロスタグランジン(PG)E_1を内部標準に用いてDHBAマトリックスによる MALDI-QIT-TOF-MS のポジティブモード Low 50+レンジ測定による PGE_2 定量法を確立した。PGE_2、PGE_1 は Na 付加体として各々m/z=375、377 に検出された。シグナルエリア比は少なくとも PGE_2 濃度 0-2μg 間で直線的であり定量的測定が可能であった。Na付加体から18 マス低い分解物PGAのNa付加体等も少量検出されたが PGE_2 分析に影響を与えなかった。2 mM PGE_2 は中性水溶液中において予想外に安定で室温2日間の保存でもおよそ80%が PGE_2 として検出された。

[田中康仁]

VII. 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：１７年４月１日～平成１８年３月３１日

検体数：５件うち一件陽性（非定型型）

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) N. Iwata, Y. Sato, Y. Higuchi, K. Nohtomi, N. Nagata, H. Hasegawa, M. Tobiume, Y. Nakamura, K. Hagiwara, H. Furuoka, M. Horiuchi, Y. Yamakawa and T. Sata: Distribution of PrPSc in the Cattle with Bovine Spongiform Encephalopathy Slaughtered at Abattoirs in Japan. Jpn.J.Infect.Dis., 59, 100-107, 2006

2) K. Furuya, N. Kawahara, Y. Yamakawa, H. Kishida, N. S. Hachiya, M. Nishijima, T. Kirino, K. Kaneko: Intracerebroventricular delivery of dominant negative prion protein in a mouse model of iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease after dura graft transplantation. Neuroscience Letters, 402, 222–226, 2006

3) Y. Hirota, M. Segawa, F. S. Ouchi, Y.Yamakawa, K. Furukawa, K. Takeyasu and T. Horikome: Dissociation of emerin from barrier-to-autointegration factor is regulated through mitotic phosphorylation of emerin in a *Xenopus* egg cell-free system. J. Biol. Chem., 280, 39925-39933, 2005

4) S. Sato, M. Fukasawa, Y. Yamakawa, T. Natsume, T. Suzuki, I. Shoji, H. Aizaki, T. Miyamura, and M. Nishijima: Proteomic profiling of lipid droplet proteins in hepatoma cell lines expressing hepatitis C virus core protein. J. Biochem., in press.

5) M. Fukasawa, Y. Tanaka, S. Sato, Y. Ono, Y. Nitahara-Kasahara, T. Suzuki, T. Miyamura, K. Hanada, and M. Nishijima: Enhancement of de novo fatty acid biosynthesis in hepatic cell line Huh7 expressing hepatitis C virus core protein. Biol. Pharm. Bull., in press.

6) K. Kawasaki, R. K. Ernst, and S. I. Miller: Inhibition of Salmonella enterica serovar Typhimurium lipopolysaccharide deacylation by aminoarabinose membrane modification. J. Bacteriol., 187, 2448-2457, 2005

7) 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., 11, 57-61, 2005

8) R. K. Ernst, K. N. Adams, S. M. Moskowitz, G. M. Kraig, K. Kawasaki, C. M. Stead, M. S. Trent, and S. I. Miller : The Pseudomonas aeruginosa lipid A deacylase: selection for expression and loss within the cystic fibrosis airway. J. Bacteriol. 188, 191-201, 2006

9) K. Okemoto, K. Kawasaki, K. Hanada, M. Miura, and M. Nishijima.: A potent adjuvant monophosphoryl lipid A triggers various immune responses, but not secretion of IL-1beta or activation of caspase-1. J. Immunol., 176, 1203-1208, 2006

10) M. Kobayashi, S. Saitoh, N. Tanimura, K. Takahashi, K. Kawasaki, M. Nishijima, Y. Fujimato, K. Fukase, S. Akashi-Takamura, and K. Miyake: Regulatory roles for MD-2 and TLR4 in ligand-induced receptor clustering. J. Immunol. in press.

11) K. Saito, M. Nishijima, O. Kuge: Phosphatidylserine is involved in gene expression from Sindbis virus subgenomic promoter. Biochem. Biophys. Res. Commun., in press.

12) Y. Inoue, Y. Yamakawa, A. Sakudo, T. Kinumi, Y. Nakamura, Y. Matsumoto, K. Saeki, T. Kamiyama, T. Onodera, and M. Nishijima: Infection Route-Independent Accumulation of Splenic Abnormal Prion Protein. Jpn. J. Infect. Dis., 58. 78-82, 2005

13) Q. Lao, T. Fukamachi, H. Saito, O. Kuge, M. Nishijima, and H. Kobayashi: Requirement of an I□B-□ COOH terminal region protein for acidic-adaptation in CHO cells. J. Cell. Physiol. 207, 238-43, 2006

14) S. M. L. Tse, D. Mason, R. J. Botelho, B. Chiu, M. Reyland, K. Hanada, R. D. Inman, and S. Grinstein: Accumulation of diacylglycerol in the Chlamydia inclusion vacuole. Possible role in the inhibition of host cell apoptosis. J. Biol. Chem. 280, 25210-25215, 2005

15) V. Dolgachev, L. W. Oberley, T.-T. Huang, J. M. Kraniak, M. A. Tainsky, K. Hanada, and D. Separovic: A role for manganese superoxide dismutase in apoptosis after photosensitization. Biochem. Biophys. Res. Commun. 332, 411-417, 2005.

16) K. Hanada: Discovery of the molecular machinery CERT for endoplasmic reticulum-to-Golgi trafficking of ceramide (an invited review). Mol. Cell. Biochem., in press.

17) S. Wang, Ma'In Y. A. Maitah, K. Hanada, D. Kessel, and

D. Separovic: Ceramide response post-photodamage is absent after treatment with HA14-1. Biochem. Biophys. Res. Commun., in press.

18) Z.-J. Cheng, R. D. Singh, D. K. Sharma, E. L. Holicky, K. Hanada, D. L. Marks, and R. E. Pagano: Distinct mechanisms of clathrin-independent endocytosis have unique sphingolipid requirements. Mol. Biol. Cell., in press.

19) S. Grimmer, B. Spilsberg, K. Hanada, and K. Sandvig: Depletion of sphingolipids facilitates endosome to Golgi transport of ricin. Traffic, in press.

20) M. Kawano, K. Kumagai, M. Nishijima, and K. Hanada: Efficient trafficking of ceramide from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus requires a VAP-interacting FFAT motif of CERT. J. Biol. Chem. in press.

2. 和文発表

1) 萩原健一、山河芳夫: 異常型プリオン蛋白質(PrP^{Sc})と感染性, 医学のあゆみ，215, 877-890, 2005

2) 花田賢太郎：膜輸送の新パラダイム：分子引き抜き転移機構による脂質セラミドの小胞体-ゴルジ体間選別輸送，日本細菌学会雑誌，60, 531-537, 2005

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1) M. Nishijima: A genetic approach to the intracellular trafficking of ceramide in mammalian cells: mechanisms of CERT (ceramide trafficking protein) function. Experimental Biology 2005, 2005.3.31-4.5, San Diego, CA, USA

2) K. Hanada: An emerging model for lipid trafficking: non-vesicular transfer of ceramide from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus at membrane contact sites, The 5th Annual Meeting of Japanese Protein Science Society Satellite Symposium, Membrane Dynamics and Cell Regulation, June 29, 2005, Fukuoka, Japan

3) M. Nishijima: Non-Vesicular Intracellular Trafficking of Ceramide by CERT. Gordon Research Conference – Molecular and Cellular Biology of Lipids, 2005.7.24-29, Waterville Valley, NH, USA

4) M. Fukasawa, S. Sato, T. Ohsawa, Y. Yamakawa, T. Suzuki, I. Shoji, R. Suzuki, H. Aizaki, T. Miyamura, and M. Nishijima: Interaction of DEAD box protein 1 with Hepatitis C virus core protein, 12th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2005.10.3, Montreal, Canada

5) M. Shirakura, I. Shoji, T. Ichimura, R. Suzuki, T. Suzuki, K. Fukuda, T. Shimoji, K. Murakami, S. Sato, M. Fukasawa, Y. Yamakawa, M. Nishijima, and T. Miyamura: Identification of E6AP as an E3 ubiquitin ligase for HCV core protein, 12th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2005.10.3, Montreal, Canada

6) K. Kawasaki, R. K. Ernst, M. Nishijima, and S. I. Miller: Rremodeling of bacterial outermembrane and innate immune responses, The 18th Naito conference on Innate Immunity in Medicine and Biology II

7) K. Hanada: Molecular extraction and transfer mechanism of CERT-mediated trafficking of ceramide, Colloquium and Master Class of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, Lipids Moving Center Stage, October 8, 2005, Amsterdam, Netherlands

8) K. Hanada: Discussion leader's comments for the session of sphingolipid biophysics, Gordon Research Conference on Glycolipids and Sphingolipid Biology, January 8, 2006, Ventura, CA, USA

2. 国内学会

1) 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，第７８回日本細菌学会総会，2005.4.4，東京

2) 佐々木裕子、新開・大内　史子、川上隆雄、見理　剛、堀野敦子、山河芳夫、佐々木次雄　：*Mycoplasma penetrans* のプロテオミクス，第 32 回日本マイコプラズマ学会 2005.5.27−28, 久留米

3) 花田賢太郎：細胞内セラミドの細胞内選別輸送，第８２回日本生理学会大会，2005.5.29，仙台

4) 深澤征義、西島正弘：アセチル CoA カルボキシラーゼ活性欠損ＣＨＯ細胞変異株の分離、第４７回日本脂質生化学会, 2005.6.3, 金沢

5) 天野富美夫、梅崎梨紗、保田立二、田中康仁：PGE_2 リポソームによるマクロファージ活性化調節機構の研究、第 47 回日本脂質生化学会、2005.6.3, 金沢

6) 花田賢太郎：脂質セラミドのオルガネラ間選別輸送を仲介する蛋白質 CERT，第５回日本蛋白質科学会年会　2005.6.30，福岡

7) 岩田奈織子、佐藤由子、樋口好美、飛梅実、長田典代、長谷川秀樹、中村優子、萩原健一、山河芳夫、佐多徹太郎： 国内 BSE 牛３例の体内分布, 2005 年プリオン研究会, 2005.8.26, 天童
8) 岡地潔、横山雄市、古岡秀文、堀内基弘、品川森一、山河芳夫、佐多徹太郎：
9) 国内発生 19 頭目 BSE の脳に関する免疫組織化学的研究, 2005 年プリオン研究会,2005.8.26, 天童
10) 山河芳夫: BSE 検査の現状, 特別課程食肉検査コース, 2005.7.8, 国立保健医療科学院
11) 川崎清史：病原細菌の宿主適応と宿主のパターン認識, 第 6 回日本比較３学会合同シンポジウム, 2005.8, 東京
12) 熊谷圭悟、河野美幸、大内史子、西島正弘、花田賢太郎：セラミド輸送タンパク質 CERT に見出された多重リン酸化領域，第 78 回日本生化学会大会，2005.10.20，神戸
13) 河野美幸、熊谷圭悟、西島正弘、花田賢太郎：ER-Golgi間セラミド輸送タンパク質CERTに存在する FFAT モチーフの役割, 第 78 回日本生化学会大会，2005.10.20，神戸
14) 吉村征浩、熊谷圭悟、花田賢太郎、伊東信：ゼブラフィッシュ初期発生系を用いたセラミド輸送装置 CERT の機能解析，第 78 回日本生化学会大会，2005.10.20，神戸
15) 花田賢太郎：CERT の FFAT モチーフは効率的な小胞体-ゴルジ体間セラミド輸送に必要である，第 78 回日本生化学会大会，2005.10.21，神戸
16) 田中康仁、矢部邦章、加藤健吾、佐藤慈子、 深澤征義、 鈴木哲朗、 宮村達男、 田口良 、西島正弘: C 型肝炎ウィルスのコア蛋白発現が Huh7 細胞の脂質プロファイルに及ぼす効果、第 78 回日本生化学会大会, 2005.10.21, 神戸
17) 萩原健一、中村優子、大内史子、西島正弘、山河芳夫： Conversion of PrPC to PrPSc is prevented by inhibition of dehydrocholesterol reductases; the enzymes of the final steps in the cholesterol synthesis. 第 78 回日本生化学会大会, 2005.10.22, 神戸
18) 佐藤慈子、深澤征義、大澤智子 、山河芳夫、鈴木哲朗、勝二郁夫、鈴木亮介、宮村達男、西島正弘：HCV コアタンパク質発現細胞の脂肪滴における DEAD box protein 1 の局在、第 78 回日本生化学会大会, 2005.10.22, 神戸
19) 川崎清史、サム・ミラー: リピド A 脱アシル化酵素 PagL の潜伏化に外膜アミノアラビノース修飾が関与する, 第 78 回日本生化学会, 2005.10，神戸
20) 工藤紀雄、熊谷圭悟、若槻壮市、西島正弘、花田賢太郎､加藤龍一:セラミド輸送を行う CERT START ドメインの X 線結晶構造解析，第 78 回日本生化学会大会，2005.10.22，神戸
21) 白倉雅之、勝二郁夫、市村徹、鈴木亮介、鈴木哲朗、福田浩一郎、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：C 型肝炎ウイルス Core 蛋白の E6AP 依存性分解、第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 2005.11.22, 横浜
22) 桶本和男、川崎清史、花田賢太郎、西島正弘：A potent adjuvant monophosphoryl lipid A triggers various immune responses, but not secretion of IL-1beta or activation of caspase-1, 第２８回日本分子生物学会年会, 2005.12，福岡
23) 工藤紀雄, 熊谷圭悟、若槻壮市、西島正弘、花田賢太郎、加藤龍一: Specificity and flexibility of ceramide recognition by CERT START domain, 第 28 回日本分子生物学会年会，2005.12.8，福岡
24) 花田賢太郎：膜輸送の新パラダイム：分子引き抜き転移機構による脂質セラミドの小胞体-ゴルジ体間選別輸送，第 28 回日本分子生物学会年会，2005.12.10，福岡
25) 佐々木裕子、大内・新開史子、山河芳夫、川上隆雄、荒川宜親: マイコプラズマとヒトの抗原 mimicry についてのプロテオミクス解析の試み, 第８回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンテイア」 2006.3.3-4, かずさアカデミアパーク, 木更津
26) 佐々木裕子、見理 剛、堀野敦子、荒川宜親、佐々木次雄、大内-新開史子、山河芳夫, 川上隆雄: 2D-HPLC LC-MS による *Mycoplasma penetrans* のリポ蛋白発現､pyruvate 代謝の解析, 日本細菌学会, 2006.3.29-31, 金沢
27) 川崎清史 : 感染サルモネラ菌の外膜リモデリングと宿主応答, 日本薬学会 126 年会, 2006.3, 仙台
28) 深澤征義、西島正弘：細胞内脂肪滴形成が欠損した高等動物細胞変異株の分離、日本薬学会第

１２６年会, 2006.3.28, 仙台

11. 昆 虫 医 科 学 部

部 長　小 林　睦 生

概　要

平成 17 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 8 名，協力研究員 6 名，流動研究員 3 名，研究生 2 名，実習生 2 名，臨時職員 2 名の協力で推進された．

研究内容としては，フラビウイルス媒介蚊に関する都市部を中心とした発生状況調査，捕集蚊より培養細胞および RT-PCR 法を併用した日本脳炎(JEV)およびウエストナイルウイルス(WNV)の検出および分離，塹壕熱の病原体である *Bartonella quintana* のコロモジラミからの検出および人工膜吸血装置を用いた感染実験，アカイエカ種群，コガタアカイエカ，シナハマダラカ，アタマジラミ等に関する殺虫剤抵抗性の発達状況調査および分子機構の解析，フンコバエの分類および生態学的研究，高病原性鳥インフルエンザウイルス(HPAI)のオオクロバエ体内での生存時間，オオクロバエの季節移動に関する生態学研究および脂質代謝に関する研究，マダニの唾液由来生理活性物質，蚊体液中のレクチンの分析，ヒトスジシマカの寄生原虫である *Ascogregarina taiwanensis* の熱ショックタンパク質 70(HSP70)のクローニング，地理情報システム(GIS)を用いたヒトスジシマカの分布域拡大要因に関する解析，大阪府，兵庫県におけるセアカゴケグモの分布域および密度と環境に関する解析などである．

媒介蚊の発生状況調査では，高知県の安芸市，大月町での調査において，水田で発生するコガタアカイエカ，シナハマダラカが多数捕集され，また，広島県倉橋町での調査においても，コガタアカイエカの捕集が 4 月から認められ，周辺部にイノシシが多数生息していることから日本脳炎の疫学的解析を媒介蚊側から試みた．アカイエカ種群（アカイエカとチカイエカ）の分子分類が可能となったが，地方衛生研究所等では形態的分類が簡便である．複眼を構成している個眼数による両種の分類に関して，季節的および地理的変異を詳細に検討した．昨年，オオクロバエから高病原性鳥インフルエンザの検出および分離に関して報告したが，このハエの長距離移動に関連して HPAI が流行した山口県の養鶏場の近くでオオクロバエの季節移動を調査した．

媒介蚊からのウイルスの検出の過程で，我が国で採集されたアカイエカから今まで報告のない新規フラビウイルスを分離した．電子顕微鏡によるウイルス粒子の観察，血清学的手法による性状解析を行い，ウイルスゲノムの全塩基配列の決定を行った(10,834 塩基)．このウイルスはほ乳類由来の細胞では増殖せず，昆虫細胞でのみ増殖した．種々の解析からこの新規フラビウイルス(CxFV)はフラビウイルスの起源的なタイプとされる昆虫フラビウイルスに属することが明らかとなった．アカイエカのみならずコガタアカイエカにも同様のウイルスの存在が明らかとなり，共通したウイルスが広く我が国の蚊類に存在する可能性もある．今後，このウイルスの存在が他のフラビウイルスにどのような影響を与えるか，また，このウイルスの伝播様式など解決しなければならない問題が多い．

長崎，富山，高知の 3 県で捕集されたコガタアカイエカから JEV の検出を試みたところ，RT-PCR 法によるプール陽性率は 7〜10%であったが，C6/36 細胞による 3 代盲継代後は 53〜95%と非常に高率となった．分離株の遺伝子構造解析からすべて 1 型の JEV であった．このように，野外捕集のコガタアカイエカに非常に高率に JEV が検出されることから，地域によってはワクチン接種が重要であることが強く示唆された．

2004 年に京都府丹波町で採集されたオオクロバエの消化管から高率に HPAI(H5N1)が検出され，一部のハエから発育鶏卵を用いて分離に成功した．しかし，ハエの消化管内でどの程度の時間ウイルスが活性のある状態で保持されるか分かっていない．弱毒株の H5N1 をオオクロバエに摂食させた実験において，摂食後 14 日目まで消化管および排泄物からウイルス遺伝子を検出した．一方，活性のあるウイルスは摂食後 24 時間まで分離可能であった．オオクロバエは高い移動能力を有することから，近隣の養鶏場などへのウイルスの機械的伝播に貢献する可能性が強く示唆された．また，オオクロバエの構成脂肪酸に関して，シス型のパルミトオレイン酸が全体の 50%に達する特徴があることが明らかとなった．路上生活者から採取したコロモジラミから継続して塹壕熱病原

体の検出を行っているが，今年，回帰熱病原体である *Borrelia recurrentis* の遺伝子の検出を試みた．しかし，現時点では全く検出されなかった．コロモジラミに塹壕熱病原体を実験的に感染させ，*B. quintana* がコロモジラミ体内で対数的に増殖し，大量の病原体が糞に排泄されることがリアルタイム PCR 法および走査電顕による観察で明らかとなった．

日本から米国に移入されたヤマトヤブカは WNV に対して非常に高い感受性を示すことが知られている．しかし，同蚊は室内の継代飼育が成功しておらず，より詳細な生理学的な研究ができなかった．通常のケージの 3 倍の高さ（約 1m）のケージから初めて，飼育条件に検討を加えることによって 2 年以上コロニーを維持することに成功し，ケージ内で 10%以上の自然交尾率が観察されている．今後，フラビウイルスの感受性の検討に供することが可能となった．

アカイエカ種群のピレスロイド系殺虫剤抵抗性系統蚊における 62 種の P450 遺伝子の発現量を感受性蚊と比較したところ, 2 倍以上の発現量比を示す 3 種の P450 遺伝子，48 倍の発現量比を占める P450 遺伝子など過剰発現によって殺虫剤抵抗性に寄与する可能性のある分子種を特定した．また，マイクロアレイ法を用いたネッタイイエカの P450 に関しては，過剰発現している 7 種類の遺伝子の完全長配列を決定し，異種細胞内で発現させ，殺虫剤代謝活性を測定するために，ネッタイイエカ P450 発現ベクターを構築した．また，SNaPshot 法により，アカイエカ種群亜種の同定と殺虫剤低感受性遺伝子型を同時に決定する方法を開発した．WNV の重要な媒介蚊であるアカイエカ種群の対策に有用な方法である．

千葉県の水田で採集したコガタアカイエカとシナハマダラカに関して殺虫剤感受性の試験を行ったところ，フェニトロチオンに 320～510 倍, テメフォスに 180～1,540 倍の抵抗性比を示し，ピレスロイド系のエトフェンプロックスに対しても中程度の抵抗性を示した．同水域に発生する 2 種類の蚊においても殺虫剤感受性に大きな違いがあることが示された．同所的に分布するアカイエカとチカイエカにおける生殖隔離に関して実験的に種間交雑を試みたところ，チカイエカの雄がアカイエカより積極的に交尾をするのが観察されたが，異種間交尾では卵の孵化率が非常に低く，自然界での種間雑種の存在の可能性は相当低いと考えられた．

なお，これらの研究の一部は感染症研究所のウイルス第一部，獣医科学部，細菌第一部，細菌第二部との共同研究によって行われた．

業　績

調査・研究

Ⅰ．衛生昆虫の媒介生態・分類に関する研究

(1)高知県における疾病媒介蚊の発生状況調査

高知県高知市，安芸市，大月町，足摺岬で疾病媒介蚊調査を行い，コガタアカイエカ，シロハシイエカ，ヒトスジシマカ，アカイエカ群，シナハマダラカ，オオクロヤブカ，オオツルハマダラカ，カラツイエカ，トラフカクイカ，ハマダラナガスネカ，キンイロヤブカ，フタクロホシチビカ，ヤマトハマダラカ，リバースシマカの 14 種類が採集された．コガタアカイエカの捕獲数が多いことが種類構成における特徴であった．これは今回調査した地域の周辺に広い水田地帯が現在も存在していることが主な理由であると思われる．

［津田良夫，比嘉由紀子；千屋誠造（高知県衛研）］

(2)広島県呉市倉橋町における疾病媒介蚊の発生状況調査

広島県呉市倉橋町で疾病媒介蚊の発生状況調査を実施した．この地域ではコガタアカイエカの発生量が最も多く，捕獲された 12 種類 787 頭の 68%を占めていた．本種の捕獲数は4月に最も多く6～7月の急激な増加は見られなかったことから，本種によって吸血されるリスクは 4 月に最も高いと考えられた．調査を行った 4 地域の蚊相には違いが見られ，コガタアカイエカあるいはヒトスジシマカの構成割合が高い地域に 2 大別された．今回のサンプルからは日本脳炎ウイルスは検出されなかった．

［津田良夫，比嘉由紀子，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子，小林睦生］

(3)ドライアイストラップを用いた疾病媒介蚊のモニタリング： 3 年間の継続調査結果

2003 年から 2005 年の 3 年間, 国立感染症研究所構内 2 ヶ所にドライアイストラップを設置し捕獲される昆虫類の種類と個体数を調査した．調査期間全体で蚊科合計 2,440 雌，他の昆虫類 10,062 個体が採集された．蚊の優占種はヒトスジシマカとアカイエカ群の 2 種であった．捕獲個体数の年次変動はヒトスジシマカで 0.16～1.02 倍, アカイエカ群では 0.12～1.93 倍であった．これら 2 種について 3 年間の調査結果に基づいた月別平均捕獲個体数を示した．

［津田良夫，比嘉由紀子，林　利彦，倉橋　弘］

(4)個眼数によるチカイエカ・アカイエカ判別法の再検討

成虫の左右複眼の５あるいは６列目の個眼数を数え，

アカイエカ群に属するチカイエカとアカイエカの雌成虫を同定できることを確認した．従来の方法では複眼の左右どちらか一方を対象としていたが，この方法では複眼の左右どちらも 8 個以下の個体をチカイエカと判定する．この場合チカイエカでありながらアカイエカと誤同定される確率は 0.6〜2.5%である．またアカイエカでありながらチカイエカと誤同定される確率は約 30%であった．温度管理が行われていない住居内でチカイエカの個眼数の季節的変化を調べたところ，季節変異は小さかった．
［津田良夫，比嘉由紀子］

(5)アカイエカ群の個眼数に見られる季節変異と地理的変異

実験室系統（チカイエカ 4 系統，アカイエカ 2 系統）で検討した限りでは，複眼の 5 あるいは 6 列目の個眼数が 8 個の個体をチカイエカ，9 個の個体をアカイエカと判定しても大きな問題はないと思われた. しかしながら，季節的に気温が変化する場合は，個眼数は生育温度が低いと少なく，高いと多い傾向が示された． 6 地域のサンプルについて個眼数による同定と分子分類による同定を行ってその判定結果の一致度を調べた結果アカイエカとチカイエカの個眼数に地理的変異が存在することが示された．
［津田良夫，比嘉由紀子，葛西真治，澤邉京子，小林睦生］

(6)動物園，水族館におけるペンギンマラリアの媒介蚊調査

しながわ水族館ならびによこはま動物園で，2005 年 5〜7 月に主としてドライアイストラップによる蚊成虫の調査を行った. しながわ水族館では 3 種類, 合計 375 頭，よこはま動物園では 11 種類, 合計約 1,700 頭が採集され，どちらの調査地でもアカイエカ群とヒトスジシマカが優占種であった．都市域の動物園や水族館におけるペンギンマラリアの媒介蚊としてこれら 2 種が重要であることが示唆された．
［津田良夫，比嘉由紀子，澤邉京子；村田浩一，佐藤雪太（日大）；松本令以，植田美弥（よこはま動物園）；長塚信幸（しながわ水族館）］

(7)イースト発酵を利用した屋内吸血性蚊の採集結果：捕虫網によるすくい取り法との比較およびビルの階数と捕獲個体数の関係

インドネシア・スラバヤ市プテモン地区とアイルランガー大学熱帯病センターの構内でイースト発酵による二酸化炭素トラップを用いた採集を実施した結果，このトラップが屋内吸血性蚊のモニタリングに利用できることが確かめられた．特にトラップ採集が特に蚊の生息密度が低い時に有効であることが示唆された．トラップによる蚊の捕獲数とトラップ設置場所の地上からの高さの間には反比例関係が認められた．分析結果から捕獲個体数がゼロとなる高さを推定したところ 11.1m であった．
［津田良夫］

(8)地球温暖化に伴う東北地方におけるヒトスジシマカ分布域拡大とその要因に関する研究

東北地方のヒトスジシマカ分布域北上に関する調査では，太平洋側は釜石，大船渡，中央部の盆地では盛岡，花巻，北上，日本海側は能代，八森，鰺ヶ沢，弘前，青森で，寺社の墓の花生け，線香たて，手水鉢，市街地や道路沿いではタイヤや発泡スチロールなどの人工容器で，幼虫調査を行った．その結果，ヒトスジシマカは釜石では発見されず，大船渡では市内の広範囲にヒトスジシマカが定着していることが確認された．中央部では盛岡，花巻，北上では採集コロニー数も少なく，ヒトスジシマカの北限は水沢市で昨年と変わらなかった．日本海側では秋田県の最北端の八森町で初めて確認されたが，青森県では発見されなかった. 2000〜2005 年の年毎の気温変動は大きく，高温年と低温年が交互することから，ヒトスジシマカの発育ゼロ点の 11℃を閾値として年毎の年平均気温 11℃以下〜12℃以上の 1℃別の気温分布図，11℃以上の有効積算温度 1350℃日の分布図を作成すると，気温分布図にかなりの変動が見られ，これらはヒトスジシマカの生息地域の分布をよく反映していると考えられた．
［小林睦生，二瓶直子，駒形　修；倉根一郎，高崎智彦（ウイルス第一部）］

(9)大阪府および西宮市におけるセアカゴケグモ分布域の拡大と防除活動による分布拡大の抑制

1995 年にオーストラリアから移入されたセアカゴケグモの生息域は大阪湾の沿岸部から内陸部に急速に拡大している．大阪府北部内陸部の茨木市郊外の新興住宅団地(34 ° 50’ N; 135 ° 31’E)の造成地ではその入り口付近から，幼児や子供達の集まる遊園地や学校周辺まで多数のセアカゴケグモの生息を確認し，次第にブリスベンの生息状況に近づいてきており，毒グモ咬症の危険が増していることが明らかとなった．

一方，西宮市では 2000 年秋にセアカゴケグモが多数発見されて以来，定点調査や住民の通報などによって，

直ちに調査し駆除した結果，徐々に生息域は拡大するものの，生息密度を抑え，封じ込めに成功している地域もある．詳細な駆除活動の結果を GIS でまとめ，また空中写真や衛星画像を用いて，セアカゴケグモ生息場所の環境を解析して，駆除活動の影響を評価する試みを行っている．

［二瓶直子，小林睦生；吉田政弘（いきもの研究社）；岡田邦宏，平良常弘（西宮市環境衛生課）；金田弘幸（パスコ GIS 研究所）］

(10)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研究

グローバリゼイションの結果，近年各国で死亡率の高い感染症が流行し，輸入拡散されて危険性が増大する傾向が認められている．宇宙航空研究機構と国立感染症研究所の共同研究で衛星画像の医療分野での利用を試みているが，粗い地図より入手できなかった中国長江周辺の日本住血吸虫症浸淫地やメコン川流域の水系感染症，および，より新しい情報を要求される，日本脳炎媒介蚊のコガタアカイエカの九州諫早市における調査に, Landsat, Spot の画像を用いることができた．この結果は，新興・再興感染症の迅速かつ広域で正確な環境解析手法の研究に役立つものと考えられる．また来るべき陸域探査衛星 ALOS のデータ解析による将来の媒介昆虫対策の基礎資料としても有用である．

［二瓶直子・小林睦生；島田政信（宇宙航空研究機構）；中村　哲(国立国際医療センター研究所)；望月貫一郎(パスコ GIS 総合研究所)］

(11)無弁翅ハエ類の分類・生態学的研究

日本産フンコバエ類のうち，家畜の糞から大量に発生するケブカフンコバエ属について従来記録の無かった琉球列島産の種類を調べた. 1 新種を含む 9 種が確認され，ロハーチェクケブカフンコバエは東洋区から初めての記録であった．また海岸地域でしばしば大発生し，不快昆虫となるススバネフンコバエ属について調べたところ, 8 種を確認し，北海道からは 1 新種 1 新記録種を見いだした．新記録種は千島列島からのみ知られている種であった．また，8 種に対する検索表を作成した．

[林　利彦]

(12)オオクロバエの季節的移動に関する研究：予研式トラップ改良型によるモニタリング

オオクロバエの季節的移動を監視し，併せて繁殖状況を明らかにするために，予研式トラップ改良型による定期調査を開始した．調査地として，我国で高病原性トリインフルエンザの流行が最初に確認された山口県阿武郡阿東町生雲中を選び，2 ヶ所にトラップを設置した．この地域ではオオクロバエの季節移動は 10 月末から 11 月にかけて観察された．また，これまでにオオクロバエをはじめとして，クロバエ科 9 種類，ニクバエ科 15 種類，イエバエ科15種類, ヒメイエバエ科2種類が捕獲された．

［林　利彦，津田良夫，倉橋　弘］

(13)医学・法医学上重要な日本産ニクバエの雌外部生殖器の比較形態学

ニクバエ亜科は医学，法医学上重要な種を含むので，種の分類同定は研究上重要になっている．これまで，日本産ニクバエの種の分類同定には,もっぱら，オスの外部生殖器の特徴が用いられてきた．体全体がよく似ているニクバエのメスでは極めて同定が難しく，メスの検体標本は放置されてきたものが多い．交尾中の雌雄個体，一頭のメスから産仔させ，飼育して得られた雌雄個体でオスの同定が確実に出来たもののメス，または専門家が自信を持って同定したメス標本を材料に，雌外部生殖器の形態を再検討した．その構造の単純さから，種の同定には不向きとされてきた雌外部生殖器ではあるが，細部を比較することにより種の同定にもかなり有効であることがわかった．

［倉橋　弘］

(14)オオクロバエの卵巣発育の変異

高病原性トリインフルエンザの機械的伝播の可能性を有するオオクロバエは晩秋に大陸方面から九州地方に飛来してくるのが観察される．一方，国内で越夏して大陸との間で長距離移動していない個体群も本土の高山地帯で見られる．雌成虫の羽化から産卵までの期間から，個体群の生理生態的特徴をしらべた．長距離移動してきたと思われる飛来直後採集された福岡の系統では，11L, 20℃の条件下で 7 週間以上と長く，釜山の系統では 3 週間と短いことがわかった．東京，長崎の系統では 3 週間と短いものの割合が多かった. オオクロバエの個体群間，個体群内で広く卵成熟までの期間に変異があることが推察された．

［倉橋　弘，主藤千枝子，森林敦子，林　利彦，津田良夫］

II. 衛生昆虫類の生理・生化学・遺伝的研究

１．節足動物からの病原体検出

(1)本邦野外捕集蚊から分離された新規フラビウイルス

の性状解析

平成 15 年より野外捕集蚊からのフラビウイルスの検出および分離を実施し，その過程で新規フラビウイルスの存在を見出した．アカイエカから分離された本ウイルスの 1 株について，形態学的，血清学的手法による性状解析，さらにウイルスゲノムの全塩基配列の決定を行った．これらの結果から本ウイルスはフラビウイルスの起源的なタイプとされる昆虫フラビウイルスに属し，また多くの新たな特徴を有する新規ウイルスであることが明らかとなった．

［星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，比嘉由紀子，矢野和彦；油田正夫（三重大）；高崎智彦(ウイルス第一部)；小林睦生，澤邉京子］

(2)平成 17 年国内捕集コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルスの検出および系統解析

国内の野外蚊集団における最新の日本脳炎ウイルス（JEV）感染状況を把握するために，国内 4 県で捕集したコガタアカイエカから JE ウイルス遺伝子の検出とウイルス分離を行った. 蚊ホモジネートからの逆転写（RT）-PCR の結果，長崎，富山，高知の 3 県から得られた蚊集団での JEV 遺伝子陽性プール率は 7～10%, C6/36 細胞による 3 代盲継代後は 53%～95%と非常に高率であり，分離株の遺伝子構造解析により 1 型であることが判明した. ブタが JEV に感染している地域では蚊のウイルス保有率も高く, ヒトへ伝搬する可能性も否定できないことから，ワクチン接種事業の継続が必要であることを結論した．

［中口　梓，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，比嘉由紀子，津田良夫，斎藤一三；高崎智彦，小滝　徹(ウイルス第一部)；井上真吾，森田公一，川田　均，高木正洋(長崎大熱研)；永野博昭，藤井猪一郎(長崎県中央家畜保健衛生所)；千屋誠造(高知県衛研)；渡辺　護（富山県衛研）；澤邉京子，小林睦生］

(3)蚊からのデング熱ウイルスの型判別法の確認および東チモール由来の蚊からのデング熱ウイルス型判別の試み

既知のデング熱ウイルスの型判別法を参考に蚊からのデング熱ウイルスの型判別法の確認を行った．さらに，WHO の依頼で 2005 年デング熱アウトブレークのあった東チモール由来の蚊からのデング熱ウイルスの型判別を試みたが，蚊からデング熱ウイルスを検出することができなかった．

［佐々木年則，星野啓太，伊澤晴彦，津田良夫，澤邉京子，小林睦生］

(4)オオクロバエ体内における H5N1 インフルエンザウイルスの生存に関する研究

2004 年京都府丹波町での鳥インフルエンザ流行時に採集されたクロバエ類の消化管から高率に H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスが検出，分離されたことを受け，本年は人為的に H5N1 亜型インフルエンザウイルス（弱毒株）をオオクロバエに摂食させ，ハエ体内でのウイルスの生存期間を調査した．その結果，クロバエ摂食後 14 日までの消化管および排泄物のほぼすべてからウイルス遺伝子は検出されたが，活性のあるウイルスは，摂食後 24 時間以内の消化管からだけ分離された．本ウイルスはオオクロバエの体内で少なくとも 24 時間は生存することが示されたが，本クロバエの移動能力を考慮すると，近隣の鶏舎などへのウイルスの伝播，拡散に貢献する可能性は高いと考察された．

［澤邉京子，佐々木年則，星野啓太，伊澤晴彦，倉橋弘，主藤千枝子；棚林　清，堀田昭豊，山田章雄(獣医科学部)；小林睦生］

(5)再興感染症としての塹壕熱および回帰熱に関する疫学調査

日本の路上生活者において塹壕熱に関しては，*Bartonella quintana* 遺伝子のみならず抗体が検出されたことから，塹壕熱の流行が起こっていることが示唆された．一方，回帰熱に関してはコロモジラミから *Borrelia recurrentis* の遺伝子を検出しなかったことから，現時点でわが国において回帰熱の流行は起こっていないことが示唆された．

［佐々木年則；川端寛樹(細菌第一部)；伊澤晴彦，星野啓太，比嘉由紀子；矢口　昇(豊島区池袋保健所)；澤邉京子；佐々木次雄，荒川宜親(細菌第二部)；小林睦生］

(6)人工膜吸血装置によるコロモジラミへの *Bartonella quintana* 感染実験

塹壕熱病原体である *Bartonella quintana* のコロモジラミにおける増殖動態を明らかにするため，ヒト血液による人工膜吸血装置を利用し，感染実験を行った．1 週間培養された *B. quintana*（H 株）をヒト血液と十分に懸濁させ，人工膜吸血装置を使ってコロモジラミ成虫に吸血させた．その後これらのコロモジラミを非感染血液で 3 週間飼育し，定期的に虫体と排泄物を採取し，経時的な *Bartonella* 増殖動態を Real time Polymerase Chain Reaction 法で調べた．コロモジラミ体内の増殖は *Bartonella* intergenic spacer region DNA の増幅量をコロモジラミの

ナトリウムチャンネル DNA の増幅量との比で算出した．また排泄物中の *Bartonella* 菌体数を 1 頭当り 24 時間の排泄量として測定した．

コロモジラミ体内における *Bartonella* DNA は感染吸血後 3 日目にまで一時的に低下し，その後 17 日目まで対数的に増加した．排泄物から検出された *Bartonella* は 15 日目に最大数の 800 万個に達した．

［関なおみ，葛西真治，佐々木年則，冨田隆史，小林睦生；佐々木次雄（細菌第二部）］

(7)ヒトスジシマカ寄生原虫*Ascogregarina taiwanensis*の熱ショック蛋白質70遺伝子の解析

ヒトスジシマカに寄生する原虫 *Ascogregarina taiwanensis* の熱ショック蛋白質 70(HSP70)遺伝子のクローニングを行い，蛋白質コード領域の一部ならびに遺伝子上流域を得た．この蛋白質の部分アミノ酸配列を解析したところ，アピコンプレクサ門に属する原虫類の HSP70 蛋白質との間に高い相同性が認められた．また，遺伝子上流域には HSP70 遺伝子プロモーターに特徴的な塩基配列が確認された．

［Rhoychoudhury, S.，伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，澤邉京子，小林睦生］

２．吸血源動物種の同定

(8)蚊の吸血嗜好性に関する室内実験および野外調査

都市部に生息する3種蚊（アカイエカ，チカイエカ，ヒトスジシマカ）の吸血嗜好性を，野外捕集蚊からの遺伝子解析による吸血源動物種の同定と，実験室内において実施したほ乳類（マウス）と鳥類（ウズラ）を吸血誘引動物とした2者選択試験により検討した．その結果，アカイエカおよびチカイエカは鳥類を好む傾向にあるが，その吸血嗜好性は柔軟性が高く，環境条件に依存してほ乳類と鳥類との間で容易に吸血源を変えることができると考えられた．また，ヒトスジシマカはほ乳類を嗜好することが判明した．これらの結果から，ウエストナイルウイルスのヒトへの媒介種としてはアカイエカがより重要な役割を果たすであろうことが明らかになった．

［横山紘子，斉藤康秀(麻布大)；澤邉京子，津田良夫，二瓶直子，小林睦生］

(9)首都圏動物園および水族館で捕集されたアカイエカ種群吸血蚊

近年，国内の動物園および水族館において飼育・展示されている鳥類の鳥マラリア原虫の感染による死亡が留意すべき問題となってきている．平成 16 年首都圏動物園および水族館の飼育下にあるシロフクロウ，ペンギン類，シギダチョウなどから *Plasmodium* 属マラリア原虫が検出されたことを受け，媒介昆虫種を特定する目的で蚊の捕集調査を実施し，吸血蚊からの吸血源動物種の同定を行った．いずれの施設においてもアカイエカ種群の蚊が最も多く捕集され，分子判別法によりアカイエカ種群の約 6%はチカイエカであることが判明した．アカイエカ種群の蚊はいずれも施設内の野鳥を吸血しており，それらの野鳥種から *Plasmodium* 属のマラリア原虫が検出されたことは興味深い．施設内でのマラリア原虫の感染環解明に繋がる結果が得られた．

［澤邉京子，比嘉由紀子，津田良夫，葛西真治，伊澤晴彦；村田浩一，佐藤雪太(日大)；長塚信幸(しながわ水族館)；松本令以，植田美弥(よこはま動物園ズーラシア)；遠藤智子(サンシャイン国際水族館)］

３．生理学的基礎的研究

(10)フタトゲチマダニ唾液腺由来生理活性物質に関する研究

フタトゲチマダニ唾液腺から，Kunitz 型プロテアーゼインヒビター構造を有する新規蛋白質を同定し，これが血液凝固第 XII/XIIa 因子および高分子キニノゲンに特異的に結合して，接触相活性化を強く阻害することを明らかにした．さらに，この唾液腺蛋白質の詳細な阻害機構を解明することを目的とし，分子を構成する各ドメイン（N, C-末端ドメイン）の接触相活性化に対する影響を検討した．その結果，接触相活性化阻害には両ドメインが関与するが，C-末端ドメインがより強く影響していることが明らかとなった．

［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）］

(11)蚊体液中に含まれるシアル酸特異的レクチンの質量分析による解析

ベクター（蚊）におけるマラリア原虫制御機構を明らかにする目的で，マラリア原虫認識分子と考えられるシアル酸特異的レクチンのアミノ酸配列を液体クロマトグラフィー (LC)/マススペクトロメトリー(MS)/MS でデノボシークエンシングを行って解析し，既知レクチンに類似した配列を認めた．

［佐々木年則，星野啓太，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生］

(12)ヤマトヤブカ *Ochlerotatus japonicus* コロニーの樹立

ヤマトヤブカはウエストナイルウイルスや日本脳炎ウ

イルスに対する感受性を有することが報告されており，ベクターとして重要であると考えられるが，実験室内での継代維持が困難であることから本種蚊の情報はほとんど得られていない．そこで本種の実験室コロニーの樹立を試みた．飼育条件などに詳細な検討を加え継代を続けた結果，飼育条件に馴化させることに成功し，2 年以上に亘って安定してコロニーが維持された．本コロニーが樹立されたことで，本種蚊の発育プロフィール，成虫の寿命，配偶行動および吸血習性などに関する基礎的な知見を得ることができた．

［星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子, Sudipta Roychoudhury，小林睦生，比嘉由紀子，津田良夫］

(13)オオクロバエの成育について

オオクロバエの脂質含量，脂肪酸組成等について検討しているが今年度は，飼育温度の違いによる特徴を検討した．飼育温度は，20℃と 10℃で行った.20℃においては脂肪酸組成からすると 10 日で安定するが，10℃では 15 日くらいを要することがわかった. 10℃でも 20℃でも成熟個体の体重，脂質含量，脂肪酸組成に差は見出されなかった．

［森林敦子，主籐千枝子，澤邉京子，倉橋　弘，津田良夫］

(14)オオクロバエの脂質について

野外から捕獲したオオクロバエや飼育したオオクロバエにおいても共に脂質に含まれる構成脂肪酸の特徴は，シス型パルミトオレイン酸（C16:1）だけで 50%にも達することである．この脂肪酸がどのような脂質中に含まれているかをマスーマス分析を通して検討した．その結果リン脂質の PE や PC にまた中性脂質の TG にも取りこまれていることが明らかになった．PE や PC に結合している脂肪酸が 2 ケとも C16:1 のものもあり，また TG においては 3 ケ共に C16:1 のものも確認できた．これらのことは，冬季の低温下に活動期を迎えるオオクロバエに適応した特徴と考えられ，今後詳細に検討したい．

［森林敦子；田中康仁（細胞科学部）］

(15)ナミニクバエの低温処理について

北海道，北広島市より捕獲したナミニクバエを使用し低温処理期間の長さの羽化率に対する影響について検討した．休眠導入の条件下において飼育した幼虫から休眠蛹を得る． その蛹を 2 ヶ月間 20℃に置きその後一定期間 4℃に置き羽化率を調べた．その結果 17 週間から 22 週間の低温処理が高率の羽化率を示した．北広島の平均気温が 5℃を下るのは，11 月から 4 月にかけてである．その間 20 週間から 21 週間であるので実験で得られた値と非常に良く一致していた．これらの結果は，気象条件に対する地域個体群の生活史適応の結果と考えられる．

［森林敦子，津田良夫，倉橋　弘］

４．殺虫剤の有効性と抵抗性機構に関する研究

(16)オリゴマイクロアレイ法によるアカイエカ種群蚊のピレスロイド代謝性 P450 分子種の探索

終齢幼虫の抵抗性比が概ね 10^3 倍レベルを示す 6 つのエトフェンプロックス抵抗性系統蚊における 62 種の P450 遺伝子発現量を殺虫剤感受性蚊と比較した．抵抗性系統に共通して 2 倍以上の発現量比を示す 3 種の P450 遺伝子，1 つの抵抗性系統で 48 倍の発現量比を示す 1 つの P450 遺伝子，感受性系統蚊でもハウスキーピング遺伝子 RPS3 に匹敵する大きな発現量があり，かつ 4 つの抵抗性系統で 2 倍以上の発現量比を示す 1 つの P450 遺伝子などが，過剰発現によりピレスロイド抵抗性に寄与する可能性のある分子種として示された．

［駒形　修，葛西真治，正野俊夫，冨田隆史］

(17)殺虫剤抵抗性系統で過剰発現するシトクロム P450 遺伝子の完全長解析および大腸菌発現ベクターの構築

62 種のネッタイイエカ由来シトクロム P450 を搭載したマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析によって，ピレスロイド剤抵抗性系統で過剰発現していることが確認された 7 種の分子種(#4, 4b, 14, 32, 54, 55, 56)について，遺伝子の完全長配列を決定した．いずれもヘム結合領域や NADPH シトクロム P450 リダクターゼ認識領域など P450 に特徴的な配列を有しており，psudogene ではないことが推測された．さらにこれら完全長配列を異種細胞内で発現させ，殺虫剤代謝活性を測定するために，ヒト P450 リダクターゼ遺伝子を導入済みのプラスミド pCW ベクターへ組み込み，ネッタイイエカ P450 発現ベクターを構築した．

［葛西真治，駒形　修，冨田隆史］

(18)アカイエカ種群蚊のシトクロム P450 過剰発現とその機構

ピレスロイド抵抗性蚊において mRNA レベルの増大がマイクロアレイ解析により示された 6 つの P450 分子種を選び, cDNA とゲノム DNA のそれぞれを対象とする定量 PCR 解析を行った．P450 遺伝子#14 と#32 は，6 つの抵抗性系統のいずれにおいても, 感受性系統と比べて，幼虫における発現量が増大していた．そのうち，エトフ

ェンプロックスに 4000 倍以上の抵抗性比を示す JPal-per 系統の幼虫では，#14 が 16 倍，#32 が 330 倍という特に大きな発現量比を示した．P450#32 の過剰発現機構には遺伝子量が 6 倍となる DNA 増幅が含まれていた．
［冨田隆史，駒形　修，葛西真治］

(19)アカイエカ種群蚊の亜種と殺虫剤抵抗性の分子判別法

アカイエカ，チカイエカ，ネッタイイエカの室内系統を試料とし，SNaPshot 法に基づき，アカイエカ種群亜種と殺虫剤作用点低感受性に関わる遺伝子型を同時に決定する方法を開発した．亜種判別にはアセチルコリンエステラーゼ(AChE)遺伝子(*Ace1*)を標的とし，有機リン・カーバメイト剤およびピレスロイド剤の作用点に関する抵抗性遺伝子型決定には，それぞれ，別の AChE 遺伝子(*Ace2*)およびナトリウムチャンネル遺伝子(*SC*)を標的とした．蚊種および *Ace2* の G119S 置換, SC の L993F/S と V999G 置換に関する同時遺伝子型識別を可能にした．
［小原秩美，駒形　修，葛西真治，冨田隆史］

(20)アカイエカ種群蚊の殺虫剤抵抗性遺伝子の検出

SNaPshot 法により，関東地方から九州地方にかけての 21 地点で採集した 151 頭を使い，亜種と殺虫剤作用点抵抗性に関する分子判別を行った．採集蚊はすべてアカイエカまたはチカイエカで，海外のトビイロイエカでカーバメイト抵抗性要因となっている *Ace2* の G119S 置換，およびネッタイイエカのピレスロイド抵抗性に関連づけられている *SC* の V999G 置換は検出されなかった．*Ace2* の L993 座位に関しては，チカイエカとアカイエカからは，それぞれ，Phe と Ser 置換のみが検出され，両亜種には自然環境条件下でほとんど交雑が生じていないことが示された．
［小原秩美，駒形　修，葛西真治，冨田隆史］

(21)水田に同所的に発生した主要蚊種幼虫の殺虫剤感受性

コガタアカイエカ(*Cx.t.*)とシナハマダラカ(*An.s.*)はわが国の水田で最も大量に発生する蚊種である．2005 年 7 月に千葉県酒々井町の一牛舎で採集した各種の吸血蚊約 100 頭の次世代終齢幼虫の殺虫剤感受性を *Cx.t.*殺虫剤感受性系統と比較した. 酒々井町由来の *Cx.t.*と *An.s.*は有機リン系のフェニトロチオンに対し，それぞれ，510 倍と 320 倍の抵抗性比を，テメフォスに対し 1540 倍と 180 倍の抵抗性比を，また，ピレスロイド系のエトフェンプロックスに対し 5.7 倍と 60 倍の抵抗性比を示した．共通する殺虫剤散布歴を有する蚊群の間でも殺虫剤感受性に大きな違いがあることが示された．
［冨田隆史，駒形　修，葛西真治］

(22)ネッタイイエカのグルタチオン S 転移酵素遺伝子のクローニングとスプライシング解析

アカイエカ種群蚊の殺虫剤抵抗性機構を解明するため，解毒酵素グルタチオン S 転移酵素（GST）の構造解析を行った. 昆虫 GST の相同性をもとにデザインされた縮重プライマーを利用してネッタイイエカ GST のクローニングを試みたところ, 最終的に 19 種類の配列を明らかにした．ホモロジー検索の結果，これらのうち 4 種については同一の N 末端配列を有し，いわゆる選択的スプライシングの結果生じた同一遺伝子起源のタンパク質であることが分かった．その後，4 種 GST の全長配列を明らかにした. 今後は, 発現量解析と共に異種細胞で発現させ，基質特異性を探ることでそれぞれの役割分担を明らかにしたい．
［葛西真治，駒形　修，冨田隆史］

(23)アカイエカ種群蚊の生殖隔離について

殺虫剤による防除対象となりやすく，抵抗性の発達が著しいチカイエカから，その同胞種であり，ウエストナイル熱の主要な媒介蚊であるアカイエカへと殺虫剤抵抗性遺伝子は伝播されうるのか．その疑問を明らかにするため, 両種の交雑試験および交尾選択性の試験を行った．交雑後の卵の孵化率は非常に低かったが完全な生殖隔離ではなかった．交尾選択性の試験では，両種の雄が入ったケージに片方のメスを放して行われたが，いずれもチカイエカの雄が第一交尾を優位に行い，その精子が受精に使われていた．また，交尾後のメスの受精嚢を観察したところ, 同種間交尾後の受精嚢では約 90%で精子が確認されたのに対し, 異種間交尾後では 30%以下しか確認されなかった．以上のことから，自然界における種の壁は相当高いものと考察された．
［葛西真治，比嘉由紀子，津田良夫，駒形　修，冨田隆史］

(24)チカイエカの劣性可視突然変異マーカーの単離とその遺伝学的解析

蚊類の黒色型はまれに見られる突然変異であるが，通常は致死劣性遺伝である場合が多く，系統化することが難しいとされる．渋谷産チカイエカ集団内に見いだされた黒色型個体の密度を数世代にわたって徐々に高めていき，最終的に純化することに成功した．野生型チカイエ

カを用いて遺伝学的解析を行ったところ，両系統の F1 世代はすべて野生型の体色を示し, F1 同士の交配によって得られた F2 世代は黒色型 : 野生型 = 3.16 : 1 を示したことから，黒色型変異遺伝子は完全劣性であることが明らかになった．今後はこの劣性可視マーカーを用いて遺伝子隔離や交尾選択性などさまざまな面で生理学的知見が得られると期待される．
［葛西真治，駒形　修，冨田隆史］

調　査

Ⅰ．Study on taxonomy and bionomics of two winged flies, Diptera (Insect) in Sarawak, East Malaysia（東マレーシア，サラワクにおける双翅目昆虫の分類学・生態学的研究）．
(1)倉橋　弘．ハエ類について．Kuching, East Malaysia, 17 年 9 月 20 日～10 月 6 日．
(2)比嘉由紀子．蚊類について．Kuching, East Malaysia, 17 年 9 月 20 日～9 月 29 日．

レファレンス業務

Ⅰ．衛生動物同定検査報告

平成 17 年 4 月から平成 18 年 3 月までの間, 31 件 290 個体の昆虫・マダニ・クモ等の同定依頼を受けた．多くは双翅目昆虫であり，遺体より採取され，法医学的に遺体の死亡時期の推定に用いられたものであった．ヒトへの被害例では，ナミニクバエによる呼吸器への偶発的ハエ症，シュルツェマダニ，フタトゲチマダニによる咬着例等があった．マダニ類の依頼は年々増加傾向にある．海外からの移入例ではオーストラリアで咬着され，日本で発見されたマダニ *Ixodes holocyclus*, 成田空港で生きた状態で発見されたハエの１種 *Physiphora* sp.や巨大なアシダカグモの 1 種等があった．
[林　利彦, 津田良夫, 倉橋　弘, 栗原　毅]

研修業務

1) 小林睦生．予防衛生隊設立結団式講演，福島県ペストコントロール協会　感染症対策研修会, 17 年 4 月 14 日，郡山市．
2) 冨田隆史．プールにおけるアタマジラミ対策．東京都南多摩保健所　平成 17 年度プール衛生管理講習会，17 年 6 月 23 日，多摩市．
3) 小林睦生．ウエストナイル熱媒介蚊対策．三重県健康危機管理連絡会議，17 年 6 月 29 日，津市．
4)小林睦生. 国内における疾病媒介昆虫類の生態と分布．シンポジウム－動物由来感染症ウイルス，衛生微生物技術協議会　第 26 回研究会, 17 年 7 月 7-8 日, 福井市．
5) 澤邉京子：昆虫からの病原微生物の検出・分離法と蚊の吸血源同定法．富山県衛生研究所研修会，17 年 7 月 26-27 日，富山市．
6) 津田良夫．蚊の分類実習．日本環境衛生センター　平成 17 年度疾病媒介蚊対策実技講習会，17 年 9 月 1 日，川崎市．
7) 小林睦生．蚊が媒介する感染症～西ナイルウイルス感染症．静岡県寄生虫症研究会　第 10 回研究総会, 17 年 9 月 10 日，浜松市．
8) 澤邉京子．感染症をめぐる最近の動向．日本ペストコントロール協会　感染症対策指導者講習会, 17 年 9 月 29 日，東京都．
9) 小林睦生．ウエストナイル熱等の新興感染症における媒介昆虫対策の重要性．大阪府ペストコントロール協会研修会，17 年 10 月 4 日，大阪市．
10）澤邉京子．感染症をめぐる最近の動向．日本ペストコントロール協会　感染症対策指導者講習会，17 年 10 月 6 日，大阪市．
11）澤邉京子．感染症を媒介する蚊の対策について－ウエストナイル熱を媒介する蚊を中心に－．広島県福祉保健部　防疫訓練会議，17 年 10 月 18 日，広島市．
12）小林睦生．災害発生時の感染症対策としての衛生害虫．第 49 回全国環境衛生大会，17 年 10 月 27 日，新潟市．
13) 小林睦生. 昆虫類が媒介する感染症－蚊, シラミ類, ハエ類に関する最近の知見．埼玉県臨床検査技師会　公衆衛生検査研究班主催研修会，17 年 11 月 11 日，さいたま市．
14）冨田隆史．殺虫剤抵抗性について．日本家庭用殺虫剤工業会　技術部会講演会，17 年 11 月 24 日，大津市．
15）小林睦生．衛生動物に関する最近の話題．日本環境衛生センター　第 41 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，17 年 11 月 29 日，川崎市．
16）冨田隆史．殺虫剤概論．日本環境衛生センター　第 41 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，17 年 11 月 29 日，川崎市．
17) 小林睦生．ウエストナイル熱と媒介蚊対策．川崎市感染症対策関係職員研修会，17 年 11 月 30 日，川崎市．
18）小林睦生．ウエストナイル熱媒介蚊対策について．東京都・特別区衛生害虫等防除対策連絡調整会議，ウエストナイル熱講習会，17 年 12 月 16 日，東京都．
19）小林睦生．感染症における媒介動物対策について．秋田県ペストコントロール協会研修会, 18 年 1 月 27 日，秋田市．
20）小林睦生．昆虫－日本の現状と対策．JICA 国際寄生

虫予防指導者セミナー，18 年 2 月 8 日，東京都.

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1． 欧文発表

1）Kurahashi H. Studies on the Calypterate Muscoid flies from Japan ⅩⅢ. Redescription of *Myorhina asahinai* (Kano) (Diptera: Sarcophagidae). Med. Entomol. Zool., 56: 73-78, 2005.

2）Sukontason KL, Methanitikorn R, Kurahashi H, Piangjai S, Sukontason K. Surface ultrastructure of prestomal teeth of some flies in the families Calliphoridae, Muscidae and Sarcophagidae. Parasitol. Res., 96: 410-412, 2005.

3）Yoes P. Dachlan, Subagyo Yotopranoto, Bariah V. Sutanto, Sri H.B. Santoso, Anni S. Widodo, Kusmartisnawati, Agus Sutanto, I.K.Komang Gerudug, Takagi M, Tsuda M, Tanabe K, Kawamoto F, Yoshinaga K, Kanbara H. Malaria endemic patterns on Lombok and Sumbawa Islands, Indonesia Trop. Med. Health 33: 105-113, 2005.

4）Hayashi T. The genus *Coproica* Rondani (Diptera, Sphaeroceridae) from the Ryukyu Islands, Japan. Med. Entomol. Zool., 56: 207-210, 2005.

5）Hayashi T. A new species and a new record of the genus *Thoracochaeta* (Diptera: Sphaeroceridae) from Japan, with a key to the Japanese species. Med. Entomol. Zool., 56: 293-297, 2005.

6）Kato N, Okayama T, Isawa H, Yuda M, Chinzei Y, Iwanaga S. Contribution of the N-terminal and C-terminal domains of haemaphysalin to inhibition of activation of plasma kallikrein-kinin system. J. Biochem., 138: 225-235, 2005.

7）Haruki K, Hayashi T, Kobayashi M, Katagiri T, Sakurai Y, Kitajima T. Myiasis with *Dermatobia hominis* in a traveler returning from Costa Rica: Review of 33 cases imported from South America to Japan. J. Travel Medicine, 12: 285-288, 2005.

8）Roychoudhury S, Kobayashi M. New findings on the developmental process of *Ascogregarina taiwanensis* and *Ascogregarina chulicis* in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. J. Am. Mosq. Control Assoc., 22: 29-36, 2006.

9）Sasaki T, Poudel SKS, Isawa H, Hayashi T, Seki N, Tomita T, Sawabe K, Kobayashi M. First molecular evidence of *Bartonella quintana* in *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae), collected from Nepalese children. J. Med. Entomol., 43:110-112, 2006.

10）Nihei N, Kajihara N, Kirinoki M, Chigusa Y, Matsuda H, Saitoh Y, Shimamura R, Kaneta H, Nakamura S. Establishment of a GIS monitoring system for schistosomiasis japonica in Kofu, Japan. Ann. Trop. Med. Parasitol., 100:143-153, 2006.

11）Seki N, Sasaki T, Sawabe K, Sasaki T, Matsuoka M, Arakawa Y, Marui E, Kobayashi M. Epidemiological studies on *Bartonella quintana* infections among homeless people in Tokyo, Japan. JJID., 59:31-35, 2006.

12）Sawabe K, Hoshino K, Isawa H, Sasaki T, Hayashi T, Tsuda Y, Kurahashi H, Tanabayashi K, Hotta A, Saito T, Yamada A, Kobayashi M. Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. J. Am. Trop. Med. Hygiene,75: 327-332, 2006.

13) Oh S.-H, Kozaki T, Mizuno H, Tomita T, Kono Y. Expression of Ace-paralogous acetylcholinesterase of *Culex tritaeniorhynchus* with an amino acid substitution conferring insecticide insensitivity in baculovirus-insect cell system. Pestic. Biochem. Physiol. 85: 46-51, 2006.

14) Kono Y, Tomita T. Amino acid substitutions conferring insecticide insensitivity in *Ace*-paralogous acetylcholin-esterase. Pestic. Biochem. Physiol. 85: 123-132, 2006.

15）Morita A, Isawa H, Orito Y, Iwanaga S, Chinzei Y, Yuda M. Identification and characterization of collagen-induced platelet aggregation inhibitor, triplatin, from salivary glands of the assassin bug, *Triatoma infestans*. FEBS J. 273: 2955-2962, 2006.

2． 和文発表

1）二瓶直子. 感染症の予防と治療－宇宙からみた地球と感染症－. 感染症の過去からを見つめて. 日医雑誌. 134(2): 121-128, 2005.

2）津田良夫，比嘉由紀子，伊澤晴彦，星野啓太，澤邉京子，小林睦生. ウエストナイルウイルスの主要媒介蚊を決定する生態的特徴. 臨床とウイルス. 33（1）：17-21, 2005.

3）栗原 毅. 日本の蚊学－1945 年までの足跡をたどる. 有害生物，(2): 1-45, 2005.

4）小林睦生. アタマジラミは不潔さと無関係. 毎朝のブラッシングで髪点検を. こども未来，7: 25, 2005.

5）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，堀田昭豊，山田章雄，西藤岳彦，小渕正次，田代眞人，小林睦生. 2004 年

高病原性鳥インフルエンザ国内流行地で採集されたクロバエ類からの H5N1 亜型インフルエンザウイルスの検出と分離．病原微生物検出情報，26 : 119-121, 2005.

6）伊澤晴彦，岩永史朗．昆虫テクノロジー研究とその産業利用.「吸血昆虫の唾液腺生理活性物質による抗止血機構の解析と利用」(監修：川崎建次郎，野田博明，木内信)，pp. 174-181，シーエムシー出版， 2005.

7）小林睦生．生態系が亜熱帯化している？図解・何がおかしい！東京異常気象, シリーズ StartLine 8: 20-22, 2005.

8）二瓶直子，工藤翔二，岩崎恵美子．感染症の予防と治療－宇宙からみた地球と感染症－．感染症の過去から未来を見つめて．日医雑誌, 134(2): 121-128, 2005.

9）二瓶直子，津田良夫，小林睦生．空中写真で衛生環境をどこまで読み取れるか. 生活と環境, 50(9): 48-53, 2005.

10）小林睦生．新興・再興感染症の流行と環境．生活と環境，50(11): 5, 2005.

11）二瓶直子（特集監修）.「世界の重要感染症」．世界情報地図 2006 年版，日本文芸社，2006.

12)二瓶直子．GPS で住血吸虫症の流行を追う．住血吸虫症と宮入慶之助－ミヤイリガイ発見から 90 年－(宮入慶之助記念誌編集委員会編)，pp. 199-208， 九州大学出版会，2005.

13）倉橋　弘，津田良夫．日本の北と南におけるオオクロバエの記録．双翅目談話会誌「はなあぶ」20: 17-18, 2005.

14）倉橋　弘．ワラベヒメバエ沖縄本島からの記録．双翅目談話会誌「はなあぶ」20:19-20, 2005.

15）倉橋　弘．離島のハエ相の記録３．双翅目談話会誌「はなあぶ」20: 20-22, 2005.

16）森林敦子，倉橋　弘．センチニクバエの不思議．バムサ会誌，17(1): 22-27, 2005.

Ⅱ．学　会　発　表

1．　国際学会

1）Moribayashi A, Hayashi T, Kurahashi H. Diapause in the flesh fly, *Boettcherisca peregrina*. Taiwan-Japan-Czech Rebublic Cooperation Symposium on Entomology (TJCCSE), April 18-20, 2005, Taipei.

2）Kobayashi M. Mosquito surveillance in urban areas of Japan and blood preference of vector mosquitoes in West Nile fever. Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases, September 7-8, 2005, Tokyo.

3）Sasaki T, Isawa H, Seki N, Hoshino K, Higa Y, Kubota M, Sasaki T, Sawabe K, Arakawa N, Kobayashi M. *Bartonella quintana* from Body lice, *Pediculus humanus* (Anoplura: Pediculidae), infesting homeless people in Tokyo. MEDICINE AND HEALTH IN THE TROPICS (ⅩⅥth International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Ⅳth European Congress on Tropical Medicine and International Health), September 11-15, 2005, Marseille.

4）Oh S-H, Kozaki T, Tomita T, Kono Y.　Expression of Ace-paralogous acetylcholinesterase of *CuIex tritaenio-rhynchus* with an amino acid substitution confening insecticide insensitivity in baculovirus-insect cell system. 5th Asia-Pacific Congress of　Entomology, October 19, 2005.

5)Mizuno H, Kasai S, Tomita T, Kono Y. Acetylcholinesterase of *Aedes albopictus*. 5th Asia-Pacific Congress of Entomology, October 19, 2005.

6）Kasai S, Komagata O, Shono T, Tomita T. Mechanisms of insecticide resistance in West Nile virus-transmitting mosquitoes. Symposium: Molecular mechanisms of insect response to xenobiotics in The 53rd Annual Meeting of the Entomological Society of America, December 14-18, 2005, Florida, USA.

2．　国内学会

「第 40 回日本脳炎生態学研究会, 2005 年 5 月 26-27 日，箱根」

1)星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，比嘉由紀子，高崎智彦，小滝　徹，小林睦生，矢野和彦，澤邉京子．本邦生息蚊類が保有するウイルスの検出およびその性状解析.

2）澤邉京子，伊澤晴彦，比嘉由紀子，葛西真治，星野啓太，佐々木年則，津田良夫，小林睦生．日本産ウエストナイルウイルス感受性蚊の吸血嗜好性とアカイエカ種群の分子分類.

3）吉田政弘，山下敏夫，小林睦生．都市域における冬季の蚊幼虫・成虫調査.

4）高崎智彦，林　昌広，濱野正敏，澤邉京子，岸　昇，桑山　勝，倉根一郎：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.

5）津田良夫，澤邉京子，比嘉由紀子，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，小林睦生，桑山　勝．広島県倉橋島の日本脳炎媒介蚊調査.

「第 57 回日本衛生動物学会大会，シンポジウム“ 高病原性鳥インフルエンザとクロバエ類の関わり ”2005 年 6 月 3 日，札幌」

6）倉橋　弘. 高病原性トリインフルエンザ流行にクロバ

エ類がかかわっていた可能性はあるのか？

7）津田良夫．トリインフルエンザの流行地域におけるオオクロバエの移動と生息密度．

8）澤邉京子．クロバエ類からの高病原性トリインフルエンザウイルスの検出と分離．

「第 57 回日本衛生動物学会，2005 年 6 月 1 日-3 日，札幌」

9）比嘉由紀子，當間孝子，岡澤孝雄，茂木幹義，宮城一郎．マレーシアで採集された *Tripteroides* 属の蚊について．

10）當間孝子，宮城一郎，比嘉由紀子．沖縄県における *Culex vishnui* の分布について．

11）高井憲治，小熊　譲，栗原　毅，小林睦生．*Anopheles sinensis* 成虫雌の脚白帯対節比の地理的変異．

12）林　利彦．日本におけるススバネフンコバエ属（双翅目：フンコバエ科）．

13）倉橋　弘，比嘉由紀子，津田良夫．冬季沖縄本島における法医昆虫学上重要なハエ．

14）津田良夫，比嘉由紀子，川田　均，高木正洋，小林睦生．アカイエカとチカイエカの地上における生態の比較調査法．

15）比嘉由紀子，津田良夫，倉橋　弘，林　利彦，葛西真治，澤邉京子，星野啓太，駒形　修，伊澤晴彦，佐々木年則，冨田隆史，二瓶直子，小林睦生．関東地方におけるチカイエカとアカイエカの地上での発生状況（個眼数による判別の試み）．

16）宮城一郎，當間孝子，比嘉由紀子，岡澤孝雄，佐々木均．沖縄県西表島の森林内で「蛙の鳴き声」に誘引され，吸血行動を開始する蚊類．

17）岡澤孝雄，當間孝子，比嘉由紀子，宮城一郎，Hashim Rosli．*Armigeres* (*Leicesteria*) *flavus* の竹切（株）への卵塊放出と幼虫の成長．

18）森林敦子，斎藤典子，土田耕三，栗原　毅，津田良夫．チカイエカ幼虫，蛹，成虫に見られる緑青の着色物質について．

19）津田良夫，比嘉由紀子，星野啓太，葛西真治，林　利彦，伊澤晴彦，駒形　修，佐々木年則，澤邉京子，冨田隆史，倉橋　弘，二瓶直子，小林睦生．成田空港の周辺 3 地域における疾病媒介蚊相に関する調査結果．

20）二瓶直子，津田良夫，倉橋　弘，比嘉由紀子，駒形　修，望月貫一郎，小林睦生．住宅地周辺のドライアイストラップ捕集蚊類等の発生状況と環境要因との関係．

21）渡辺　護，小原真弓，出村尚子，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（2003-04 年）．

22）吉田政弘，山下敏夫，小林睦生．都市域における蚊幼虫発生状況．

23）小林睦生，葛西真治，伊澤晴彦，林　利彦，二瓶直子，津田良夫．都市部におけるアカイエカ越冬個体の観察．

24）吉田政弘，山下敏夫，田所勝巳，平良常弘，小林睦生．都市域における蚊類の越冬調査．

25）澤邉京子，伊澤晴彦，比嘉由紀子，葛西真治，星野啓太，佐々木年則，津田良夫，小林睦生．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．

26）星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，比嘉由紀子，當間孝子，佐藤英毅，高崎智彦，小林睦生，澤邉京子．本邦野外捕集蚊からのアルボウイルスの検出．

27）Roychoudhury　S, Isawa H, Sasaki T, Sawabe K, Kobayashi M. Molecular variations in SSU rDNA sequences of some species of *Ascogregarina*, the non-pathogenic parasites of mosquitoes.

28)佐々木年則，星野啓太，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生．蚊体液中に含まれるシアル酸特異的レクチンの質量分析による解析．

29）佐々木年則，佐々木次雄，久保田真由美，川端寛樹，パウデル・カンタ・シャルマシュリー，星野啓太，比嘉由紀子，伊澤晴彦，冨田隆史，澤邉京子，荒川宜親，小林睦生．再興感染症としての塹壕熱および回帰熱に関する疫学調査．

30）加藤紀子，岩永史朗，伊澤晴彦，鎮西康雄，油田正夫．フタトゲチマダニ唾液腺由来カリクレインーキニン系インヒビターに関する研究．

31）葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史，倉橋　弘，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，橋本知幸，新庄五朗．*ACE* 遺伝子をマーカーとした日本産 *Culex pipiens* complex の簡易判別法．

32）葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史，津田良夫，小林睦生，元木　貢，高橋朋也，谷川　力，吉田政弘，橋本知幸，新庄五朗．2003 年と 2004 年に行ったアカイエカ種群蚊の殺虫剤感受性調査．

33）駒形　修，葛西真治，冨田隆史．殺虫剤抵抗性アカイエカ種群におけるシトクロム P450 遺伝子解析．

34）冨田隆史．クロバエ類の薬剤感受性について．殺虫剤研究班シンポジウム「疾病媒介害虫防除に関する問題点」

35）津田良夫．蚊の発生源としての蚊の防除．殺虫剤研究班シンポジウム「疾病媒介害虫防除に関する問題点」

「第 44 回日本衛生動物学会東日本支部例会, シンポジウム「ハエの功罪」2005 年 7 月 22 日，東京」
36）林　利彦．ハエの分類－ハエとは？
37）小林睦生．病原体伝播者としてのハエ類.
38）倉橋　弘．きらわれものを見直そう－ハエの応用.

「日本比較免疫学会第 17 回学術集会, 2005 年 8 月 24-26 日，東京」
39）佐々木年則，星野啓太，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生．オオクロヤブカ由来シアル酸特異的レクチンの質量分析による解析.

「13rd Seminar on Acari-Disease Interface, 2005 年 9 月 22-24 日，下田」
40）伊澤晴彦，岩永史朗．マダニ成分の吸血源動物への影響－マダニ唾液腺中の生理活性物質について.

「第 88 回細菌学会関東支部総会, 2005 年 10 月 20-21 日, 浜松」
41）佐々木年則．塹壕熱．シンポジウム ”Vector–borne diseases”

「第 46 回日本熱帯医学会大会，2005 年 10 月 14-15 日, 京都」
42）津田良夫．蚊の生活史適応と疾病の媒介－デング熱などウイルス性の蚊媒介性疾患を中心として.

「第 58 回日本衛生動物学会南日本支部大会，2005 年 10 月 22-23 日，宮崎」
43）當間孝子，比嘉由紀子，宮城一郎，澤邉京子．沖縄本島における主として人家周辺での蚊成虫の捕獲成績 (2003-2005 年).

「日本衛生動物学会東日本支部大会, 2005 年 11 月 5 日, 東京」
44）千種雄一, 一杉正仁, 黒須　明, 木戸雅人, 倉橋　弘, 林　利彦，金杉隆雄，桐木雅史，加藤尚子，徳留省悟，松田　肇．法医解剖で検出された双翅目昆虫について.
45）森林敦子，澤邉京子，津田良夫，倉橋　弘．異なる条件下で飼育されたオオクロバエの脂質および脂肪酸組成の変化.
46）比嘉由紀子，津田良夫，宮城一郎，當間孝子．日本本土で採集されたケヨソイカ 4 種について.
47）星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子．ステフェンスハマダラカとチカイエカの初代培養（１）.
48）澤邉京子，比嘉由紀子，津田良夫，葛西真治，伊澤晴彦，村田浩一，佐藤雪太，長塚信幸，松本令以，植田美弥，遠藤智子．首都圏動物園および水族館で捕集されたアカイエカ種群吸血蚊.
49）秦　和壽, 栗原　毅．衛生害虫の伝統的な対応法(14) 研究用の蚊捕獲機器類の使用動向.

「第 21 回日本ペストロジー学会大会, 2005 年 11 月 10-11 日，横浜」
50）山下敏夫，吉田政弘，小林睦生．都市域におけるアカイエカ群の検討.
51）吉田政弘，山下敏夫，小林睦生，田所克己，平良常弘．都市域における用水路，汚水管における蚊成虫について.
52）吉田政弘，山下敏夫，小原豊美，小林睦生：都市域における蚊幼虫防除の検討.

「日米医学協力寄生虫疾患専門部会･平成 17 年度国内会議，2006 年 2 月 18 日，東京」
53）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．都市域における疾病媒介蚊の発生状況調査.
54）二瓶直子，津田良夫，駒形　修，比嘉由紀子，倉橋弘，望月貫一郎，小林睦生．空中写真・都市 GIS による首都圏の感染症媒介蚊の監視.
55）澤邉京子，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，比嘉由紀子，津田良夫，伊藤美佳子，高崎智彦，小林睦生．蚊からのウエストナイルおよび日本脳炎ウイルスの検出と吸血嗜好性から見た疾病媒介能の検討.

「第 141 回日本獣医学会大会，2006 年 3 月 19-21 日，つくば」
56）磯部　尚，Banda M, Roychoudhury S, 澤邉京子，小林睦生，中村菊保，春日春江．鶏マラリアの *Plasmodium gallinaceum* のスポロゾイト感染による鶏への病原性と抗原・抗体応答.
57）澤井理紗，佐藤雪太，佐々木絵美，澤邉京子，比嘉由紀子，津田良夫，植田美弥，松本令以，永塚信幸，湯川眞嘉，村田浩一．首都圏の動物園および水族館における鳥マラリアのベクター検索.
58）濱野正敏, 林　昌宏, 高木弘隆, 澤邉京子, 桑山　勝，岸　昇，高崎智彦，倉根一郎．広島県内の野生イノシシにおける日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況.

「第 31 回日本農薬学会大会，2006 年 3 月 21-23 日，福岡」

59）葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史：ウエストナイル熱媒介蚊のピレスロイド剤抵抗性とマイクロアレイ法を用いた抵抗性機構の解明.

「日本応用動物昆虫学会第 58 回大会，18 年 3 月 27-29 日，つくば」

60）葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史．殺虫剤抵抗性アカイエカのシトクロム P450 (1) 抵抗性アカイエカの出現.

61）駒形　修，葛西真治，正野俊夫，冨田隆史．殺虫剤抵抗性アカイエカのシトクロム P450 (2) 遺伝子発現のマイクロアレイ解析.

62）冨田隆史，駒形　修，正野俊夫，葛西真治．殺虫剤抵抗性アカイエカのシトクロム P450 (3) 過剰発現とその機構.

63）呉承協，古崎利紀，冨田隆史，河野義明．活性中心のアミノ酸置換が AChE の特性に及ぼす影響.

64）水野　壮，駒形　修，葛西真治，冨田隆史，河野義明．ヒトスジシマカにおける２つのアセチルコリンエステラーゼ発現量の比較.

１２．獣 医 科 学 部

部 長　山 田 章 雄

概　要

平成１７年度は第 4 室が（独）医薬基盤研究所へ移管され、獣医科学部は 3 室体制で動物由来感染症に関する研究に特化することとなった。ヒトに感染する病原体の 61%は動物由来感染症である。また感染症法で規定されている感染症の多くは動物由来感染症である。従って主要な動物由来感染症の病原体に関する研究は、診断法の確立をはじめとし他の研究部で精力的に行われているのが現状である。即ち動物由来感染症に特化したと言っても、実は獣医科学部に求められるところは不明瞭なままなのである。今後も獣医科学部の特色を見いだし、独自の研究を展開する努力が求められている。平成 16 年総合科学技術会議の提唱を受けて、平成 17 年度科学技術振興調整費の新規プログラムとして「科学技術連携施策群の効果的・効率的な推進」が実施されることとなった。この中の新興感染症分野に当部も積極的に参画し、動物由来感染症を分野横断的に研究するという新たな方向性を展開しつつある。また、近年新興感染症の発生には野生動物が極めて重要な存在であることが認識されだした。感染研としても野生動物の有する動物由来感染症に関して、サーベイランスを強化する必要があると考えられ、これに資するための基礎的研究を獣医科学部がになうべきと考え、これまでの研究に加え、これらの視点からの研究の展開を指向している。一方で、Global Health Security Action Group の主催するワークショップへの参加や、岐阜大学連合大学院との連携など、国内外との交流も推進している。

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

（１）全国大学付属動物病院における愛玩動物由来感染症診療実態に関する調査

全国の大学動物病院 16 カ所に調査票を送付し、愛玩動物由来感染症に関してアンケート調査を行った。このうち 7 カ所から回答が得られた。飼い主の動物由来感染症に関する認識度をたずねた調査では、愛玩動物からの感染を予防すべく心がけている飼い主（15-20%）に比べ、関心が低い飼い主の割合が高いこと（20-30%）、また動物由来感染症に関して全く関心を示さない飼い主もある（5-10%）ことから、教育・啓発の必要性が指摘された。今後、動物由来感染症対策を効果的に進めるために、専門機関（国、地方自治体、各動物病院等、獣医師、病院、医師など）の連携を保ち、広報、啓発、教育活動を行う必要性、および検査体制を充実させる必要性が指摘された。[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）愛玩動物の衛生管理の徹底に関する啓蒙・広報活動

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、飼い主のおよそ半数は衛生的な飼育を心がけていることが伺われた。しかし残りの約半数は動物由来感染症に関する認識程度にかかわらず、飼育の衛生状態は必ずしも十分ではないことが示された。また、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。このような研究、調査の結果、広く都道府県担当者、保健所、医師、獣医師、ならびに愛玩動物飼育者に対して、種々の広報活動や資料の提供によって衛生管理の徹底を呼びかけ、動物由来感染症の発生を予防する取り組みが必要となると考えられた。そこで研究班のまとめとして「愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン 2006 −愛玩動物由来感染症の予防のために-」を作成し、関係部署等に配布した。[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．イヌブルセラ病の疫学的調査・研究

Brucella canis はイヌを自然宿主とし、流産や不妊等の原因となることが知られているが、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。また、17 年度は、民間の動物病院からもイヌ血液を入手し検査した。K 市では 158 頭中 2 頭 (1.3%) が陽性であった。動物病院の 104 頭は全て陰性であった。今回の K 市の陽性例 2 頭はペットとして飼育されていたと考えられた。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。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、神山恒夫、山田章雄]

３．カプノサイトファーガ属菌およびパスツレラ属菌に関する疫学的調査・研究

イヌの口腔内に常在するカプノサイトファーガ属菌は、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し、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調査するため、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 12 月までの調査の結果、215 検体中 205 検体（約 95%）が遺伝子検査陽性であり、国内のイヌは同菌を高率に保有していた。このうち 51 検体から同菌を分離し、性状解析を行った。併せて、同様にイヌ咬傷による感染の原因となる *Pasteurella multocida* の遺伝子検査も実施した結果、215 検体中 54 検体が陽性であり、保有率は約 25%であった。[鈴木道雄、今岡浩一、木村昌伸、神山恒夫、山田章雄]

４．ペスト菌の検出と診断法の確立・応用

ペストは、齧歯類由来の重要な感染症で、生物テロの材料にも用いられ得る非常に危険度の高い疾患であるため、特異的迅速診断法の開発が必要とされている。ペスト菌遺伝子および３種類の病原性プラスミドを検出するための PCR、LightCycler を用いた Real-time PCR および LAMP 法を確立した。我々の開発した Real-time PCR を用いた診断システムを、平成 17 年度の世界健康安全保障行動グループ（GHSAG: Global Health Security Action Group）（参加国：G7, メキシコ, EU, WHO）主催のペスト検査・研究室ネットワーク、専門家会議（英国で開催）において紹介し、意見交換を行った。我々の確立したシステムは、その感度・特異性ともに有用な物であることが示され、他国に新たな知見を与えた。[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の保有状況調査

鼠咬症原因菌の１つである *Streptobacillus moniliformis* は、ラットの口腔内から検出されるが、ラットによる咬傷や掻き傷および排泄物に汚染した水や食物の摂取によりヒトに感染することがある。昨年度に引き続き、国内野生ラット（ドブネズミおよびクマネズミ）の *S. moniliformis* 保有状況の調査を行い、さらに、実験用ラットおよびペット用に輸入された外国産齧歯目および食虫目についても調査をおこなった。その結果、実験用ラットおよびペット用輸入齧歯目および食虫目からは今回は検出されなかったが、屋内外の野生ラットでは、高率に保菌が確認された。また、*S. moniliformis* 検出のために、16S rRNA を標的とした PCR 法の開発を行っているが、今回、近縁の細菌に対しても増幅が起こるという不十分な点を改善し、より有効な検出方法を確立した。[木村昌伸、今岡浩一、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．鳥類におけるウエストナイルウイルス検出および抗ウエストナイルウイルス抗体検出法の確立に関する研究

WNV の日本への侵入や、国内での流行の拡大には、野鳥の果たす役割も大きいと考えられる。そこで、鳥における WNV や WNV に対する抗体を検出する方法の確立を行った。

（１）WNV 遺伝子検出法の確立に関する研究

ウイルス遺伝子検出のために、WNV は Poly Protein (WNV-PoPr), Envelope（WNV-Env）、JEV は Envelope（JEV-Env）、共通の物として NS3（WJ-NS3）に対する Primer を作製し、PCR の条件検討を行った。検出感度は、WNV-PoPr が 1-10、WNV-Env が 10、JEV-Env が 10、WJ-NS3 が 100 PFU/reaction であった。さらに WNV 検出用 Real-time PCR のために、3’NC, Envelope (WNV-3NC, WNV-EnvRT) に対する Primer と TaqMan Probe を作製した。その感度は、WNV-EnvRT が 0.1、WNV-3NC が 0.1-1 PFU/reaction であった。[今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄]

（２）WNV に対する抗体検出法の確立に関する研究および保有状況の調査

鳥類における WNV および JEV に対する抗体を検討するために、ニワトリを免疫し陽性対照血清を作製した。

これらの血清を用いて PRNT を行ったところ、WNV で免疫したトリ血清では JEV との交差反応が認められた。

また、野生鳥類における WNV および JEV に対する中和抗体を PRNT で検討した。サンプルは渡り鳥（シギ、チドリ、ミヤマガラス）および留鳥（ナキアヒル、カラス、スズメ、ハト、ニワトリ）の血清を用いたが、中和抗体は検出されなかった。ろ紙に吸収させた渡り鳥（カモ類）血液サンプルについても検討したところ、2004 年度末までに回収した 29 サンプルのうち 1 サンプルで、WNV および JEV に対して抑制を示した。JEV など他のフラビウイルスに対する抗体も WNV と交差反応を示すこと、またサンプル中の非特異的な抑制物質による可能性もあることなどから、結果が本当に WNV に対する中和抗体や抗体の存在を示しているのか、それとも JEV に対する抗体の交差反応なのか、についてさらに結果の検証が必要と考えられた。[今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄]

７．狂犬病に関する研究

（１）我が国の狂犬病対策に関わる現状と課題の調査

「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（平成１６年度厚生労働科学特別研究事業）」により発生時の対応マニュアル整備、国内の検査体制、現行の狂犬病予防法による対策等について危機管理的な課題が明らかにされた。そこで、地域における狂犬病のリスク調査と自治体の具体的な課題について知見を得るために国や自治体で開催されている狂犬病に関わる講習会、研修会を利用して自治体の狂犬病対策担当者（動物行政担当者、狂犬病予防員、動物管理センター職員、衛生研究所担当者等）と現状について具体的な情報・意見交換を行った。結果、自治体間で実態は異なるが、多くの自治体で関係部局間の連携がまだ十分ではなく、これまでに行われた狂犬病対策に関わる資料等の情報が関係者に伝達されていないことが明らかとなった。しかしながら、少数ではあるが狂犬病を中心に動物由来感染症対策に関心の高い自治体もあり、担当部局や担当者レベルで発生時の危機管理マニュアル、検査・診断体制等について積極的な対応を行っていた。意見交換では、狂犬病等の動物由来感染症に関わる国内外の関連情報や検査技術等を交換できる担当者会議の必要性が指摘された。担当者会議の開催は、地域における狂犬病等の動物由来感染症に関わるリスク要因の調査・研究にも有効であると考えられた。[井上　智、山田章雄]

（２）数理統計手法を利用した狂犬病発生時の被害に関するモデル解析

数理統計の手法を応用して、狂犬病が侵入するリスク経路等の数理的解析および狂犬病の発生時に予想される公衆衛生上の被害を数値化、視覚化するモデルを開発した。現在、開発したモデルの実効性と有効性を評価するためにモデル構築に必要なパラメーターの検証と我が国の狂犬病リスクを反映するモデルのシナリオ構築と実数値の調査を進めている。 [大日康史（感染研・感染症情報）、新井　智（感染研・感染症情報）、佐藤　克（佐藤獣医科）、井上　智]

（３）狂犬病の疑われたイヌの臨床判断に関する研究

タイの赤十字研究所狂犬病診断部では、過去に経験した狂犬病陽性犬（実験室内診断により陽性と判定）の臨床症状を詳細に分析して狂犬病を発症したイヌの臨床的特徴の数値化による挙犬病診断プログラムの開発に成功している。そこで、国内で狂犬病を疑われたイヌの臨床判断への応用について検討をおこなった。今回は、平成１２年度以降にタイの赤十字研究所の協力により記録した狂犬病陽性犬の画像を独自に分析して、タイで開発された診断プログラムが有効であることを確認した。現在、国内で狂犬病が疑われたもしくは類似症状を示すイヌについて診断プログラムの有効性と適用範囲について検証を行っている。 [佐藤　克（佐藤獣医科）、井上　智]

（４）陽性対照鋳型 RNA 産生システムを利用した安全で簡易な狂犬病実験室内検査法の検討

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 産生システムを用いた狂犬病の遺伝子診断系について、自治体担当者との共同研究により現場での簡便かつ安全な使用方法について検討を行なった。作出した陽性対照鋳型 RNA および DNA を使用した遺伝子検出系は、現場でも使用可能であることが明らかとなった。また、陽性対照遺伝子の安定性と自治体への遺伝子配布形態については今後も現場での使用実績等の知見を加えて検討が必要と考えられた。［井上 智、野口 章、近平雅嗣（兵庫県立健康環境科学センター）、高橋朱美（岩手県環境保健研究センター）、堀元栄詞（富山県衛生研究所ウイルス部）、頓名昌宏（兵庫県動物愛護センター）、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄］

（５）都内における犬の狂犬病中和抗体保有状況に関する研究

東京都動物愛護相談センターとの共同研究により、現行法（狂犬病予防法）における国内の狂犬病対策の重要な柱であるイヌの予防接種率に関する現状把握調査を行って来た。平成１４年度から１７年度の４年間にわたり

動物愛護センターで引き取りおよび捕獲・収容された 523 頭の犬の狂犬病中和抗体保有状況を調べた。狂犬病発症防御に有効とされている中和抗体価 0.5 IU/ml 以上を示す個体は、年度ごとに多少の変動はあるが、おおむね 56-61%であった。一方、ワクチン接種履歴を示す中和抗体価 0.1 IU/ml 以上はおおむね 66-70%であった。狂犬病の蔓延防止に WHO はワクチン接種率を 70-80%以上と推奨しているが、今回調査した引き取りおよび捕獲・収容犬ではこの値に達しておらず、現行法に基づく狂犬病対策の課題と考えられた。[野口 章、長谷川 徹（東京都動物愛護相談センター)、佐藤　克（佐藤獣医科)、山田章雄、井上 智]

（６）Real-time PCR 法による狂犬病ウイルス遺伝子高感度検出系の開発

狂犬病ウイルスの生前診断および病態解析を行うためには高感度なウイルス検出系が必要である。現在、Applied Biosystems 7500 Real-time PCR システムを利用して CVS11 株に対する高感度検出系の確立を行っている。今回､SYBR green 法による狂犬病の N 遺伝子､P 遺伝子、G 遺伝子検出および TaqMan probe 法による N 遺伝子検出を可能にした。現在、検出感度の検討と TaqMan probe 法による P および G 遺伝子検出について検討を行っている。[佐藤こずえ（岐阜連合大学院)､Boldbaatar Bazartseren（岐阜連合大学院）、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄、井上　智]

（７）狂犬病ウイルス（RV）に対するモノクローナル抗体の作出

狂犬病ウイルスの検査、研究用資材としてモノクローナル抗体はきわめて有用である。現在、市販のモノクローナル抗体は高価であり、共同研究を進めているアジアの狂犬病流行国では十分な診断体制が確立できていない。そこで、アジアで流行している狂犬病ウイルスの検出および病原性解析に適したモノクローナル抗体の作出を行うことにした。これまでに N 蛋白、G 蛋白の部分蛋白に対する特異抗体がクローニングされており、現在その反応特性について解析を行っている。[加来義浩､野口　章、佐藤こずえ（岐阜連合大学院）、山田章雄、井上　智]

（８）ホルマリン固定材料における狂犬病ウイルス抗原（N、P、G）の検出比較

狂犬病ウイルスの感染した生体脳組織におけるウイルス抗原の発現形態を明らかにするために、作出したポリクローナルおよびモノクローナル抗- N 抗体､抗-P 抗体、抗- G 抗体を使用して感染マウス脳における各ウイルス抗原の染色性と分布について検討を行った。ウイルス抗原の検出は免疫組織抗体法で行った。脳組織における各ウイルス抗原の感染分布および神経細胞内の分布が使用した抗体によって異なることが明らかとなった。現在、各抗原分布の詳細についてウイルスの感染経過による比較と使用抗体の抗原認識特性について検討中である。[朴　天鎬（北里大・獣医）、野口　章、河合明彦（京大・薬学）、山田章雄、井上　智]

（９）フィリピンで流行している狂犬病ウイルス株の遺伝子解析

フィリピンで流行している狂犬病対策に必要な流行ウイルス株の分子疫学的解析について、フィリピン熱帯医学研究所(RITM)と共同研究を進めている。フィリピンで分離された狂犬病ウイルス２株について N 遺伝子全領域を RT-PCR 増幅後に塩基配列を決定した。既存のデータベースを利用して分離株の N 遺伝子領域について世界各地の分離株間と系統樹解析を行った。結果、フィリピンで分離された２株は、フィリピン特有のクラスターに分類されることが確認出来た。現在、フィリピン国内で流行しているウイルス株の地域特異性について分子疫学的解析を進めている。[野口 章、Alan B. Calaor（RITM)、Jun R. Orbina（RITM)、Mary E. Miranda（WHO)、Remigio M. Olveda（RITM)、山田章雄、井上 智]

８．炭疽菌に関する研究

（１）炭疽菌の迅速遺伝子診断法の確立

Pyrosequencing 法を用いた炭疽菌の迅速塩基配列解読法を開発した。16S rRNA 変異領域（V1 および V3 領域）を診断の標的遺伝子とした。標的遺伝子に対する特異的プライマーを作成して PCR で当該領域を増幅後に pyrosequencing 法による real-time DNA sequencing を行った。PCR 反応を高感度かつ反応速度の高いポリメラーゼ（Takara　Z-Taq）と pyrosequencing 法の併用によって、半日（およそ５時間）で炭疽菌の遺伝子診断および同定に必要な塩基配列の解読が可能となった。［奥谷晶子、野口　章、山田章雄、井上　智]

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遺伝子検出系の導入

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の PCR 遺伝子検出系を豪州家畜衛生研究所（AAHL）で使用実績のある primer および Taqman probe を用いて確立した。NiV の N 蛋白遺伝子全領域をクローニングしたプラスミド NiV-N-pCI-neo を鋳

型 DNA とし、realtime PCR と conventional PCR の反応性の比較を行ったところ、realtime PCR の方が約 10,000 倍高感度であった。使用した conventional PCR および Taqman PCR 用 primer、Taqman probe の塩基配列は野外 NiV 分離株の該当塩基配列と０～３塩基の違いがありヘニパウイルス検出における今後の検討課題と考えられた。[加来義浩、井上　智、山田章雄]

１０. 狂犬病の行政検査に関する実績

（１）平成１７年６月２４日付けで結核感染症課から検査依頼（成績：陰性）

概要：米軍獣医部から狂犬病疑いで収容されたネコ２頭について結核感染症課に狂犬病検査依頼がなされ、獣医科学部で狂犬病の検査を行った。疑いネコの捕獲時に海兵隊員１名が咬傷を受けたため現場の判断で暴露後の予防的ワクチン接種が行われた。検査は、沖縄県嘉手納基地内の獣医病院から送付されたネコの頭部脳組織について行った。当該ネコは、基地内のタイ国から寄港した船舶の積み荷作業中に発見された身元不明ネコ、１頭は死亡後に収容、１頭は衰弱しており神経症状を呈していた。 [井上　智、野口　章、加来義浩、山田章雄]

（２）平成１８年２月１４日付けで茨城県から検査依頼（成績：陰性）

概要：山間部でイヌの多頭飼育者が自身の所有する狂犬病予防注射未接種飼育犬によって咬傷を受けたのちに当該犬は流涎、口腔麻痺等の症状を示して２日後に死亡した。当該犬を検案した獣医師により、中毒と狂犬病が疑われて結核感染症課および茨城県に報告がなされた。死亡犬は、動物衛生研究所において病理解剖が行われた後に、摘出された脳組織が感染症研究所に搬送されて検査を感染研で行った。[井上　智、野口　章、加来義浩、山田章雄]

１１. 野兎病に関する研究

(１) 国内生息ノウサギにおける野兎病の血清疫学調査の試み

動物由来感染症である野兎病の起因菌、*Francisella tularensis* のヒトへの主な感染源は野生ノウサギであるが国内の野生ノウサギの感染状況は明らかでない。本研究では採血用濾紙を用いて、国内生息野生ノウサギの血液検体を収集し、抗 *F. tularensis* 抗体の検出を試みた。酵素抗体法にて 31 検体中 2 検体が有意な反応を示した。これら 2 検体はウエスタンブロット法においても *F. tularensis* 抗原に強く反応した。このことから検体ノウサギが過去に *F. tularensis* に感染した可能性が示唆されたが、さらに血液採取法や検出系を改良し、検体数や検査動物種を増やして調査する必要があると考えられた。[堀田明豊、藤田　修、宇田晶彦、山本美江、棚林　清、山田章雄]

(２) 繰り返し塩基配列を用いた *F. tularensis* subsp. *holarctica* 日本分離株と海外由来株の鑑別について

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)の数で分類が行われている。報告された 2 領域の塩基配列を解析することで国内分離株と海外由来株との鑑別が可能となった。さらに、新たな 2 領域の塩基配列の解析を行った結果、日本国内株内をさらに詳細に鑑別することが可能となった。今後、国内で野兎病菌が検出された場合、これら 4 領域の PCR 増幅サイズの比較および塩基配列解析をすることは、検出された菌の由来の同定に際し有用なツールとなりう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) 病原体ゲノム検出のための核酸増幅法の基礎検討

多種類の病原体を一括して検出するためのマイクロアレイ法への応用を考え、検体中に存在する病原体核酸を偏り無く増幅する核酸増幅法の基礎的検討を細菌 DNA をモデルに実施した。DOP-PCR と Phi29 DNA ポリメラーゼにより 10 ng の *E. coli* および *F. tularensis* ゲノム DNA から 1～3μg 程度の増幅 DNA 断片が得られる事が確認され、これらの核酸増幅法によりウイルス等の微量な病原体が含まれる検体からも核酸増幅が可能で検出同定に応用できる可能性が示唆された。

[宇田晶彦、棚林　清、堀田明豊、藤田　修、山本美江、山田章雄]

１２. 鳥インフルエンザに関する研究

(１) ネコにおけるインフルエンザウイルスの感染機構の解析

ネコでの高病原性鳥インフルエンザウイルスの感染機構を明らかにすることを目的に、ネコ組織におけるインフルエンザウイルス受容体であるシアル酸分子の解析とネコ由来培養細胞でのウイルス増殖について検討した。鳥類由来インフルエンザウイルスが指向性のあるとされている α2-3 結合シアル酸分子が気管繊毛上皮細胞に分布することが分かった。また、鳥類由来ウイルスがネコ由来培養細胞でも増殖することからネコが鳥類由来インフルエンザウイルスに感受性であることを支持している。さらにレクチンの反応条件や染色方法を検討するととも

に他の組織における受容体の分布状況や各種動物細胞でのウイルス感受性を検討する必要があると考えられる。[棚林　清、藤田　修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、山田章雄]

(２) 市販の人用インフルエンザ検査キットの鳥インフルエンザウイルスでの評価

各種市販の人用インフルエンザ検査キットを用いて鳥類由来 H5N1 亜型インフルエンザウイルスの検出を試みたところキットにより感度に差があることや人由来ウイルス株での検出感度に比較して低いことが分かった。また、検体処理液を添加するだけで反応できるキットの方が操作が容易であった。クロアカスワブを検査材料とした場合を想定して検体に糞を混入させ反応性を調べたところ、多くのキットで非特異的反応は無く、検出感度も保たれていた。今後、他の高病原性のウイルス株を含め複数の鳥類由来ウイルスでの検討やより高感度で簡易な検査法の開発が必要であると考えられた。

[山本美江、堀田明豊、宇田晶彦、藤田　修、棚林　清、山田章雄]

１３．SARS コロナウイルスに関する研究

ヒト ACE2 発現トランスジェニックマウス組織への SARS-CoV 感染

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、本ウイルスのレセプターであるヒトのアンギオテンシン変換酵素 2（ACE2）を発現するトランスジェニックマウスの作出を試みている。目的遺伝子 DNA が導入されたマウスの SARS-CoV 感染の感受性を調べるために摘出肺および腎臓の初代培養細胞へのウイルス感染を試みた。いずれの細胞でもウイルス増殖がみられ、今後、本マウスにおける各種組織における ACE2 の発現状況の検索や個体でのウイルス感受性の検討をする必要がある。

[宇田晶彦、山本美江、棚林　清、藤田　修、堀田明豊、山田章雄]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

１） Miyachi S, Lu X, Inoue S, Iwasaki T, Koike S, Nambu A, Takada M. 2005. Organization of multisynaptic inputs from prefrontal cortex to primary motor cortex as revealed by retrograde transneuronal transport of rabies virus. J Neurosci. 25:2547-56.

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

３）Motoi Y., Inoue S., Hatta H., Sato K., Morimoto K. and Yamada A. 2005. Detection of Rabies-Specific Antigens by Egg Yolk Antibody (IgY) to the Recombinant Rabies Virus Proteins Produced in Escherichia coli. Japan J Infect Dis 58:115-118.

４）Morimoto K., Shoji Y., and Inoue S. 2005. Characterization of P gene-deficient rabies virus: Propagation, pathogenicity and antigenicity. Virus Res. 111:61-7.

５）Uda A., Tanabayashi K., Fujita O., Hotta A., Terao K. and Yamada A. Identification of the MHC class I B locus in cynomolgus monkeys. Immunogenetics 57: 189-197, 2005.

６） Okada H., Hirose Y., Manonmani P., Uda A., Ito M. and Sankai, T. Characterization of an immortalized oviduct cell line from the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). J Med Primatol 34: 67-72, 2005.

７）Fujita O., Tatsumi M., Tanabayashi K. and Yamada A. Development of a real-time PCR assay for detection and quantification of *Francisella tularensis*. Jpn J Infect Dis 59: 46-51, 2006.

８）Sawabe K., Hoshino K., Isawa H., Sasaki T., Hayashi T., Tsuda Y., Kurahashi H., Tanabayashi K., Hotta A., Saito T., Yamada A. and Kobayashi M. Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. Am J Trop Med Hyg, in press.

２．和文発表

１）山田章雄：狂犬病は再び日本に上陸するか‥‥リスク評価の重要性　小動物臨床, 136, 9-13. 2005

２）山田章雄：SARS　東獣ジャーナル　43 (2), 18-20, 2005.

３）山田章雄：狂犬病　東獣ジャーナル　43 (2), 21-23, 2005

４）山田章雄：高病原性トリインフルエンザ　東獣ジャーナル　43 (3), 12-16, 2005

５）山田章雄：サル痘　東獣ジャーナル　43 (4), 14-17, 2005

６）山田章雄：ペスト（プレーリードッグ）　SA　メディシン 7, 22-24, 2005.

７）山田章雄：重症急性呼吸器症候群（イタチアナグマ、タヌキ、ハクビシン）　SA メディシン　7, 25-27, 2005.

８）山田章雄：動物由来感染症の現状　食品衛生研究 55, 29-33, 2005

９）山田章雄：人とペットの健康的なつきあいかた　食と健康　49, 51-57, 2005

１０）山田章雄：動物由来感染症 ガイドライン外来診療 2006　日経メディカル開発

１１）山田章雄：野外活動における感染制御　小児科臨床　58, 12, 2411-2417 2005

１２）今岡浩一：輸入エキゾチックペットによる動物由来感染症.　病原微生物検出情報 26: 202-203，2005.

１３）神山恒夫、鈴木道雄：動物由来感染症対策の３原則。　病原微生物検出情報　26: 198-200,2005.

１４）神山恒夫：ペスト．in：今日の治療指針 2006，医学書院，134-135，2006.

１５）神山恒夫：ウイルス性人獣共通感染症．日本臨床，63:2076-2079，2005.

１６）神山恒夫：野生動物と人獣共通感染症．からだの科学，242:67-71，2005.

１７）神山恒夫，高山直秀（編著）：子どもにうつる動物の病気．真興交易出版，東京，2005.

１８）井上　智。狂犬病（犬） Rabies 。特集 ズーノーシス -届出の概要と診断のガイドライン-。小動物内科専門誌（J.Small Animal Med.）7:47-52、2005.

１９）井上　智。狂犬病～日本とアジアをとりまく状況～。特集 日本が直面する狂犬病の脅威。MVM（Journal of Modern Veterinary Medicine）、82:6-10、2005.

２０）井上　智。特集：ヒトと動物に共通の感染症−狂犬病。「ペットを加害者にしないために」。北海道新聞社：北海道百科 vol.4、99-100、2005.

２１）井上　智。世界における狂犬病の発生状況および狂犬病侵入のリスク。病原体微生物検出情報 26：12-14、2005.

２２）井上　智。狂犬病／動物に由来する感染症-ウイルス性疾患を中心に。企画：倉田　毅。生物の科学　遺伝：59、51-58、2005.

２３）井上　智。狂犬病：狂犬病発生時の行政機関対応マニュアル／特集 動物由来ウイルス感染症（- 現状・課題・対策 -）、臨床研究と展望。日本臨床：63、2180-2186、2005.

２４）棚林　清：野兎病.　感染症情報 WORLD FOCUS 71, 1-2, 2005.

２５）棚林　清：野兎病の発生状況や検査. 病原微生物検出情報 26: 206-207, 2005.

２６）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、堀田明豊、山田章雄、西藤岳彦、小渕正次、田代眞人、小林睦生：2004年高病原性鳥インフルエンザ国内流行地で採集されたクロバエ類からの H5N1 亜型インフルエンザウイルスの検出と分離. 病原微生物検出情報 26: 119-121,2005.

２７）棚林　清: バイオテロリズムへの対応：野兎病菌 (*Francisella tularensis*). 臨床と微生物 32: 603-608, 2005.

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

１）Inoue,S. Rabies in Asia: Zoonotic threat, problem, control and prevention. Session II: Viral Zoonoses. Pathogenesis and Etiology of Zoonoses causing Encephalitis and/or Encephalopathy. The 9th International Symposium for Zoonosis Control, 21 COE Hokkaido University, Hokkaido, 29 August, 2005.

２）Inoue,S. Laboratory diagnosis and surveillance of rabies in Japan. Session II: Zoonoses. Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases. National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan, September 7-8, 2005.

３） Okutani A. Preparation of positive-control DNA template for an accurate genetic diagnosis of anthrax. Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases. National Institute of Infectious Diseases, Tokyo. September 7-8, 2005.

４） Okutani A., Inoue, S., Noguchi, A., Kaku, Y., and Yamada, A. Preparation of positive-control DNA template for an accurate genetic diagnosis of anthrax. Bacillus anthracis, B. cereus and B. thuringiensis International Conference (Bacillus – ACT 2005). September 25-29, 2005. Santa Fe, NM, USA.

５）Park, C.H., Inoue, S., Kondo, M., Noguchi, A., Oyamada, T., Yoshikawa, H., and Yamada, A. The histopathogenesis of paralytic rabies in six-week-old C57BL/6J mice following inoculation of the CVS-11 strain into the right triceps surae muscle. The 2nd Asian Society of Veterinary Pathology Symposium & 2005 Annual Meeting of the Korean Society of Veterinary Pathology. 3-4 November, 2005. National Veterinary Research & Quarantine Service, Anyang city, Korea.

２．国内学会

１）椎名貴彦，今野明弘，大沼俊名，北村浩，今岡浩一，竹田直樹，戸所一雄，森松正美．IkB タンパク質 MAIL 欠損マウスに認められたアトピー性皮膚炎様の病態．第 52 回日本実験動物学会総会，2005 年 5 月，江戸川．

２） 木村昌伸，鈴木道雄，今岡浩一，谷川力，神山恒夫，山田章雄．屋内外ラットおよび輸入齧歯目における鼠咬症原因菌の保有状況調査．第 141 回日本獣医学会学術集会，2006 年 3 月，つくば．

３）今岡浩一，木村昌伸，鈴木道雄，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 Real-Time PCR 法の開発．第 141 回日本獣医学会学術集会，2006 年 3 月，つくば．

４）井上　智。狂犬病の侵入リスク／／シンポジウム VII「動物由来感染症」。衛生微生物技術協議会第 26 回研究会。2005 年 7 月 8 日、福井県.

５）奥谷晶子、井上　智、山田章雄。Pyrosequencing 法を利用した簡便かつ迅速な細菌同定法の開発。第 78 回日本細菌学会、2005、4 月、東京.

６）朴　天鎬、井上　智、近藤真理子、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 マウスの発症病理。第 9 回日本神経ウイルス研究会、2005、6 月、浜松.

７）大日康史、井上　智。我が国の飼育犬に狂犬病が侵入した場合の伝播と流行拡大の数理モデルによる解析。第 5 回人と動物の共通感染症研究会学術集会、2005、11 月、東京.

８）衛藤真理子、大野貴文、野口　章、井上　智、須永裕。国際標準法による輸入犬の狂犬病ワクチン抗体保有状況調査。第 141 回日本獣医学会学術集会、2006、3 月、つくば.

９）棚林　清：野兎病について．衛生微生物技術協議会第 26 回研究会 2005 年 7 月、福井.

１０）安藤秀二、荒川香南子、小川基彦、柳陳堅、佐藤梢、藤田修、堀田明豊、宇田晶彦、棚林清、岸本寿男: 鶏卵からのQ熱コクシエラ検出に関する研究（第 2 報）．第 23 回日本クラミジア研究会第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会 2005 年 10 月、東京.

１１）棚林　清: 家畜と野生動物における人と動物の共通感染症―野兎病. 第 141 回日本獣医学会学術集会 2006 年 3 月、つくば.

講演会、研修会等

１）Imaoka, K. and Takahashi H. Global Health Security Action Group (GHSAG) Laboratory Network Plague Wetlab Workshop. HPA Porton Down, Salisbury, UK, June 2005.

２）井上　智。動物由来感染症（狂犬病）の概要について。平成 17 年度動物の輸入届出業務及びベクター調査担当者研修会。2005 年 6 月 8 日、東京都.

３）井上　智。狂犬病と気になる動物由来感染症（覚えておきたい狂犬病予防のポイント）。狂犬病予防に関する市町村担当者研修会。岐阜県獣医師会。2005 年 7 月 15 日、岐阜県.

４）井上　智。我が国における狂犬病予防対策の有効性評価について。平成 17 年度動物由来感染症対策（狂犬病予防を含む）技術研修会。厚生労働省健康局結核感染症課。2005 年 11 月 4 日、東京（JA ホール）.

５）井上　智。狂犬病：世界における最近の話題と日本をとりまく状況。平成 17 年度狂犬病予防研修会。三重県健康福祉部。2005 年 11 月 18 日、三重県.

６）井上　智。狂犬病を中心とした動物由来感染症についての最新情報。平成 17 年度獣医師会技術講習会。徳島県獣医師会。2006 年 3 月 11 日、徳島県.

７）井上　智。海外及び我が国の狂犬病の現状と予防対策の現状について。狂犬病シンポジウム。千葉県獣医師会。2006 年 3 月 12 日、千葉県.

８）井上　智。狂犬病予防対策について。市町村、保健所狂犬病予防担当及び臨床獣医師研修会。和歌山県、和歌山県獣医師会。2006 年 3 月 16 日、和歌山県.

９）　棚林　清: 野兎病. 平成 17 年度動物の輸入届出業務及びベクター調査担当者研修会 2005年6月6-10日(東京）.

１０）棚林　清: 高病原性鳥インフルエンザ. 平成 17 年度動物の輸入届出業務及びベクター調査担当者研修会 2005 年 6 月 6-10 日（東京）.

１１）宇田晶彦：カニクイザルにおける MHC クラス I 遺伝子の解析.「サルを用いた感染症研究の現状と今後」2005 年 9 月 16-17 日（京都）.

１２）棚林　清: サル由来の感染症、特にサルの細菌性赤痢の対策について. 平成 17 年度動物由来感染対策（狂犬病予防を含む）技術研修会 2005 年 11 月 4 日（東京）.

１３．血 液・安 全 性 研 究 部

部 長　山 口 一 成

概　要

血液・安全性研究部が担当する国家検定の試験項目で、不合格がでた。今回私たちは、以前から決められている試験項目だけでなく、それに関連するさまざまな検査を極めて注意深く繰り返し行うことで、確信を持って不合格の判定を下した。判定を下す責任の重さとともに、確かな新しい技術を日ごろから収得すべきことの重要性を感じている。そして現行の検定項目が、真に時代の要求にあっているかを、常にチェックしたい。

年に 2 回、厚生労働科学研究事業の輸血関連合同班会議を主催しているが、毎回 100 名近い全国の輸血、血液関係者が参加して、活発な議論が展開される。血液製剤を介した感染症等の問題はいまだ解決に程遠い。輸血医療の安全性向上と血液の完全国内自給を実現することを目指し、全国の血液・輸血関係者との共同研究をいろいろな角度から進めたいと考えている。

研究面では、造血幹細胞の研究チームが立ち上がったが、面白い研究結果が出つつある。若い研究者には、将来を見据えた challenging な仕事をしてほしいと願っている。

平成 17 年度は、6 月 1 日に百瀬暖佳さんが東京大学薬学部から第 4 室研究員として採用された。ポストドクとして、倉光　球君（(流動研究員)、理研）が 4 月 1 日から、滝澤和也君（信州大）が 11 月から、学生として、望月雅代さん、原　正行君、正田桃子さん、さらに研究生として嶋崎典子さん(北里科学センター)が研究に参加している。非常勤の秘書として中村理恵さんが 4 月 1 日から採用された。若い力が研究に参加すると、部の活性化が始まる。そして期待通りの働きを示している。

私たちの研究は、厚生労働省研究事業費、文部科学省科学研究費等の援助を受けて行われているが、厚労省研究事業費、文科省科研費等の研究班への参加が今年度は昨年度の約 2 倍になった。研究者は自分の研究の世界だけでなく、内外の動きにも関心をもってさらに精進しなければならない。

業　績

調査・研究

Ⅰ．血液製剤の安全性に関する研究

1．プリオンの研究

(1)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と病原性プリオンの除去・不活化法の評価系の確立が求められている。BSE 感染牛の脳乳剤によってヒト白血病由来細胞株が BSE に持続感染することを示唆する結果を得ているが、さらに BSE 感染ヒト glioblastoma 由来細胞株の培養上清を用いてヒト血球系細胞株の感染について検討した。性質の異なる３つのヒト白血病由来細胞株が感染し、２つの細胞株で培養上清中に伝達性の異常プリオンを産生することが示唆された。（水沢左衛子、岡田義昭、山口一成）

(2)in vitro 感染系の検討

人由来細胞株を用いた in vitro 感染系を確立したが、実験上の安全性を向上させるために、マウスとラット由来細胞株を用いた in vitro 感染系の確立を目指した。マウスとラットの神経系由来の細胞株に人由来感染細胞の上清を添加し、継代した後、ウエスタンブロット法にて感染成立の有無を検討した。数種類の株に一過性にＰＫ耐性のプリオンタンパクが検出されたが、持続して PrP^{sc} のバンドが検出できた細胞株は得られなかった。（岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子、山口一成）

(3)PMCA 法を用いた PrP^{sc} の高感度検出系の開発

血液中に存在する PrP^{sc} は中枢神経系に比べ微量なことからスクリ-ニング法開発には何らかの方法で PrP^{sc} を増幅する方法を開発する必要がある。ＰMCA(Protein Misfolding Cyclic Amplification) 法を改良し、人 PrP^{sc} を増幅することに成功した。感染細胞だけでなく、感染性を有する培養上清からでも PrP^{sc} の検出が可能であった。増幅効率は試験毎に安定していないため、今後、試験法の至適条件を検索する必要がある。また、増幅された PrP^{sc} が感染性を持つものか、検討する必要がある。（岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子、山口一成）

II．血液を介するウイルスの研究

1．血液製剤の核酸増幅試験(NAT)の精度管理に関する研究

「血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査（NAT）の実施に関するガイドライン」及び「血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン」に基づいて血漿分画製剤製造販売業者等や民間の衛生検査所で実施している NAT の精度管理が求められるようになった。薬事・食品衛生審議会血液特別部会安全技術調査会の指示により、HCV, HBV および HIV 検出のための NAT についてコントロールサーベイがおこなわれ、検体の作製と配布及び結果の解析を担当した。本年度は、HBV-DNA 国内標準品を用いて調製した感度パネルを配布した。参加施設は検体受領後50日以内に測定結果を報告することになっている。（水沢左衛子、水落利明、岡田義昭、種市麻衣子、梅森清子、斎賀菊江、山口一成）

2．献血血液におけるウエストナイルウイルススクリーニング法に関する研究

ウエストナイル熱・脳炎はウエストナイルウイルス（WNV）が原因で引き起こされるウイルス感染症で、2002 年には米国で患者数 4,000 人以上、死亡 277 例を数える大流行となった。輸血による感染、臓器移植による感染などの死亡例が数十名に及んだことから、米国では血液の WNV NAT スクリーニングが開始された。本邦では米国で感染した帰国後発症例があるものの、国内での感染例は報告されていないが、緊急時に備える必要がある。Chiron 社の WNV NAT スクリーニング法(Procleix® WNV Assay)の機器・試薬を入手し、特異性、感度、実用性等について検討した。NAT 検査合格の血漿から RNA を抽出し、RealtimePCR 法によって WNV 陰性を確認した。これに WNV、日本脳炎ウイルス、デングウイルスを 1000pfu～0.001pfu/mL の範囲で添加し、NAT 検査を行った。その結果、WNV の NY99 株は、1000 から 0.05pfu/mL まで、g2266 株は 1000 から 0.005pfu/mL までを 100%検出できた。デングウイルスでは４つの血清型ともに交差性は認められなかったが、日本脳炎ウイルスでは 1000 pfu/mL という非常に高いウイルス量で陽性となった。以上より、Procleix® WNV Assay は日本においても WNV スクリーニングに有効に機能し、WNV の感染が日本で認められた場合でも、迅速な対応が、国立感染症研究所、日本赤十字社で連携して可能となった。{水上拓郎、高崎智彦（ウイルス１部)、日野　学（日赤)、柚木久雄（日赤)、三根英子（日赤)、山口一成}

3．病原体不活化に関する研究

（１）上皮細胞を用いたパルボウイルス B19 不活化評価

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考えられている。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。上皮細胞 NEC8 細胞を用いた B19 新規感染系を用いて、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。この評価系を用いて加熱やアルコール処理による不活化の評価を行った。（梅森清子、岡田義昭、水澤左衛子、山口一成）

（２）パルボウイルスＢ19 と A 型肝炎ウイルスの不活化法の検討

動物由来のモデルウイルスを用いた研究から不活化法に抵抗性があると予想されていた B19 と A 型肝炎ウイルス(HAV)について実際のウイルスを用いて各種不活化法の効果を検討した。不活化方法としては、Solvent/Detergent 処理、60°C10 時間加熱、γ線照射処理を検討した。B19 感染価は上皮系細胞株を用いた RT-PCR 法にて、HAV 感染価はイムノフォーカス法にて測定した。結果は、S/D 処理では、エンベロープを持たない B19、HAV は共に不活化されなかった。60°C10 時間加熱では、B19 は ^{3}log10 不活化され、HAV は株間で差があり $^{3\sim5}$log10 不活化された。γ線照射処理では、B19、HAV の不活化効果が確認された。モデルウイルスと実際のウイルスとでは不活化法に対して感受性が異なる場合があることが示唆された。[嶋崎典子(研究生：北里科学センター)、岡田義昭、梅森清子、米山徹夫（ウイルス２部)、山口一成]

（３）血液製剤に混入する病原体の新規不活化法の開発

血液製剤は献血血を原料にして製造され、その安全性は献血後に行われる血清学的検査、および核酸増幅検査などのスクリーニングにより確保されている。しかし、スクリーニング未実施の病原体やスクリーニングをすり抜けた病原体が混入している可能性が否定できず、現に病原体混入による感染事故等が生じている。そこで、より安全でかつ広汎にわたり病原体を不活化できる新規不活化法を開発し、検討した。（梅森清子、岡田義昭、矢野茂生、布施　晃、嶋崎典子、山口一成）

4．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-

遺伝子と共に細胞に遺伝子導入し、HBs 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-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 HBｓ抗原パネル作製に関する研究

Small HBs 抗原は HBV 感染の主要マーカーであるが、共通抗原基 a（中和抗体認識部位）に変異を起こした HBs 抗原変異株が分離されるようになった。診断用 HBs 抗原検出試薬の中にはこのような変異をもった 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 HBs 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 法を用いて導入し、ヒト細胞株の培養上清に分泌される変異型 HBｓ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 HBｓ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．リポソーム表面結合抗原の cross-presentation に関する研究

我々はこれまでリポソームを抗原のキャリアとして用い、安全性の高いワクチンを創製することを目標として検討を行ってきたが、その過程で、リポソームを構成する脂質の組成を選択することにより、リポソーム表面に結合した抗原が抗原提供細胞によって MHC クラス１を介して CD8 陽性 T 細胞に cross-present されることを見いだした。この知見は、CTL の誘導を目標とするウイルスワクチンおよび腫瘍治療薬の創製への応用が期待される。（種市麻衣子、内田哲也）

2. マクロファージのアポトーシス死細胞貪食に伴う脈管新生因子の産生についての研究

抗CD3抗体をマウスに投与すると、胸腺細胞にアポトーシスが誘導される。これまでに、胸腺に遊走してきたマクロファージがアポトーシス死細胞貪食処理後、所属リンパ節へ移出するのに伴い、胸腺で脈管新生が誘導されることを報告してきた。今回、アポトーシスに伴う脈管形成の機構を明らかにするため、マクロファージの脈管新生因子の産生について調べたところ、胸腺での Ang-2,VEGF-Dと VEGF-CのmRNAの発現の増加が観察された。また、リンパ管新生を誘導することが知られている HGF,FGF-2,IGF-1の発現の増加も見られた。マクロファージがアポトーシス死細胞貪食処理に伴い、脈管新生因子を産生し、脈管形成に関与することが示唆された。(小高千加子)

3．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-g で刺激した胸腺上皮細胞を H2-DMb 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)

4．インテグラーゼによるゲノム再構成にかかわる遺伝子

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で再構成が起こり、その変化にいくつかの他のクロモソーム上の配列が関連していることを報告してきた。これらの変化は、他のマウスレトロウイルス感染細胞でも広く観察され、レトロウイルスの病原性に深くかかわっていることが推測された。これらの配列と相同性の高い、ヒトの c-DNA クローンの解析を行ったところ、この遺伝子を導入した細胞は、トランスフォームされた細胞株に特有の表現型を示し、この配列がレトロウルスによる発ガンに関与している可能性が示唆された。[田中（庄司）明子]

IV. 動物ウイルスに関する研究

1．ウシ白血病ウイルス感染のウイルス診断法の評価

ウシ白血病ウイルス (Bovine leukemia virus; BLV) の異種生物への感染を調べる目的で、ウシにおける BLV 感染のウイルス診断法について以下の検討を行った。1) 赤血球凝集反応を用いた血清中のウイルス抗体の検出法。2) 末梢血リンパ球とＣＣ８１細胞との混合培養による

感染性ウイルスの測定法。3) Nested PCR 法を用いた末梢血球にインテグレートされたプロウイルス DNA の検出法。その結果、血球凝集反応、Nested PCR 法、感染性ウイルス分離の順で検出率が高かった。今後は、特異性がより高く、迅速かつ高感度な血球凝集反応、Nested PCR 法を用いて異種生物への BLV 感染を調べる。〔原　正幸、布施　晃、山口一成、成松浩志（大分県日田玖珠県民保健福祉センター)〕

2．実験用霊長類における SFV 感染

日本で飼育されている実験用霊長類の Simian Foamy Viruses (SFV) の感染状況を調べる目的で、抗体調査 (IFA) とウイルス分離により実験用マカク属サル類の SFV 感染状況の調査を行った。その結果、IFA では 11 頭中 10 頭 (90.1％) で SFV 抗体陽性、感染性ウイルス分離では　抗体陽性 10 頭中 4 頭 で陽性と判断された。SFV はヒトへの感染例も報告されている。今回の調査で実験用マカク属サル類から SFV が検出されたことは、実験用霊長類と接触する機会が多い飼育従事者、研究者は SFV 感染に十分注意する必要があることを示唆している。（原　正幸、布施　晃、山口一成）

V．生物学的製剤に関する研究―安全な粘膜ワクチン用アジュバントに関する研究

1．経鼻投与コレラ毒素（CT）によるベル麻痺発症の検討

スイスでインフルエンザ HA ワクチンと大腸菌易熱性毒素を用いたヒトへの経鼻投与が行われ、ベル麻痺が頻発する事が報告されたことから、組換えコレラ毒素 B サブユニット(rCTB)の経鼻投与による安全性の研究として以下の実験を行った。ベル麻痺の発症は、内在性のヘルペスウイルスの関与を示唆している一部の研究報告から、マウスヘルペスウイルスを潜伏感染させて、CT による麻痺発症を検討する系を確立した。[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

ジフテリアトキソイド（DT）を用い、CpG-DNA である OligoB の粘膜アジュバント効果を検討した。BALB/c 及び C57BL/6 マウスを用いて CpG-DNA を DT とともに麻酔下に経鼻接種したところ、抗 DT 血清 IgG 及び IgA 抗体価、抗毒素価については、DT と OligoB 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、いずれの系統においても有意な増強が認められた。また CpG-DNA は細胞性免疫を誘導するという報告が多いが、OligoB は Th1 型だけでなく Th2 型の免疫応答も誘導することが示唆された。[前山順一、小宮貴子、高橋元秀(細菌第二部)、山本三郎(Texas A&M University)、後藤紀久｛(独）総合機構｝]

VI．経皮免疫法に関する研究

1．破傷風トキソイドへの応用

前年度に確立した注射によらない免疫獲得方法の検討として、破傷風トキソイドをマウスに経皮免疫することを試みた。コレラトキシンにはアジュバント効果が認められたが、コレラトキシンを用いなくても血清中に有意な抗破傷風トキソイド IgG 抗体の誘導が認められた。これらのマウスに $10LD_{50}$ の破傷風毒素をチャレンジしたところ、コレラトキシンの使用の有無にかかわらず、経皮免疫したマウスはすべて無症状で耐過した。以上より、経皮免疫法により、マウスに有効な抗破傷風毒素免疫を付与出来ることが確認された。〔内藤誠之郎、高橋元秀(細菌第二部)〕

2．皮膚前処理の効果

抗原を皮膚の表面に投与する前に、皮膚の角質層をテープストリッピングによって除去したところ、血清中の抗体産生が顕著に増強された。また、単に、抗原投与前にアルコール綿で皮膚表面をスワブするだけでも、しない場合に比べて有意な抗体応答の増強が観察された。以上より、適切な皮膚前処理により抗原の皮膚の透過を促進することによって、経皮免疫応答を増強しうることが示唆された。（内藤誠之郎）

VII．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共通に発現している遺伝子の特定を行っている。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、Ctla2α、Luc7l2、SerpinA3g、Pitpnm1 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、これら造血幹細胞に特異的に発現している分子の機能を明らかにする。（水上拓郎、倉光　球、滝澤和也、百瀬暖佳、益見厚子、浜口　功）

2．インターフェロン制御因子 IRF-2 の巨核球分化における機能解析

IRF-2 を K562 細胞に高発現させると K562 細胞の巨核球系分化に関わる転写因子が増加すること、さらに巨核球特異分子 CD41 の発現が促進された。また IRF-2 はマウス骨髄細胞由来の CD34-、Lin-、C-kit+、Sca-1+ (CD34-KSL) 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 の機能解析を行うために、IRF-2 をレトロウイルスベクターに組込んで,マウスの骨髄細胞及び胎児肝細胞に遺伝子導入し、巨核球系細胞の分化・増殖への影響を解析している。今後 IRF-2 遺伝子欠損マウスを入手し、造血幹細胞からの巨核球分化異常を解析する。(益見厚子、倉光　球、水上拓郎、百瀬暖佳、内藤誠之郎、浜口　功)

3．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

先天性赤芽球癆は造血幹細胞からの赤芽球の分化・増殖異常により重症の貧血症をおこす。また原因遺伝子 RPS19 が同定され、RPS19 の血球の分化・増殖における機能解析を行うことにより、病態解明につながると考えられる。現在 RPS19 の遺伝子異常に伴う蛋白発現プロセスの異常、RPS19 欠損に伴う細胞周期異常（G1 期停止）を見いだした。これらの異常が赤芽球増殖障害に深く関与していると考えられる。今後これまで十分に明らかにされていない赤血球の分化メカニズムを解明するとともに、新しい治療法の開発を目指す。（倉光　球、浜口　功）

4．骨芽細胞特異分子 Spp-1 の機能解析

骨芽細胞に特異的に発現する Spp-1 が、造血幹細胞を維持している骨髄の造血への関与が示唆されている。Spp-1 の機能解析を行うために Spp-1 遺伝子欠損マウスを解析したところ､新生時期の骨髄形成および造血 niche 形成が遅延していることが明らかとなった。また骨髄移植モデルにおいて､Spp-1 が造血再建に先行して一過性に骨髄に高発現することから、Spp-1 が骨髄における造血 niche 形成に重要な働きをしているものと考えられる。今後 Spp-1 と他の niche 形成分子との相互作用を解明するとともに、造血幹細胞の体外増幅への応用を検討する。（水上拓郎、浜口　功）

5．チロシンキナーゼ Tie1、Tie2 の機能解析

Tie ファミリーは造血幹細胞に特異的に発現している受容体型チロシンキナーゼである。造血 niche において Tie2 とそのリガンド Ang-1 との相互作用が重要であることが示唆されているが､niche における細胞生物学的なメカニズムは未解明な点が多い。これまでに血液細胞株を用い、Tie2 の過剰発現が細胞接着を亢進させることを見いだした。このモデルを用いて、造血幹細胞が niche へ接着するメカニズムを解明している。（百瀬暖佳、浜口功）

6．悪性腫瘍マーカーHE4 の機能解析

卵巣がんの腫瘍マーカーとして臨床応用が進められている HE4 が急性骨髄性白血病細胞に強発現していることを、３０症例の患者サンプルから見いだした。ヒト造血幹細胞においても HE4 の強発現が認められた。これらのことから、HE4 が造血幹細胞の分化・増殖に極めて重要であることが示唆された。現在造血幹細胞での HE4 遺伝子の発現抑制（siRNA 法）および強制発現操作を行うことにより、HE4 の機能を解析している。（倉光　球、浜口　功）

VIII．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。ATL 発症高危険群の長期追跡と発病予防を目指して山口班のプロジェクト(JSPFAD)を推進し、全国の HTLV-I 感染者のデータベースを構築しつつある。これまでの登録は 2006 年 6 月で 1615 名。ほぼ順調で今後もこのペースでの登録を進めたい。その他、これまで集められた検体を用いて、分担研究者による個別の研究（動物実験、国際共同研究を含む）も進められている。（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、国内外を問わず共同研究を引き受けている。すでにいくつかの共同研究が進行中である。（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．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、毒性関連遺伝子を同定する。さらに血液生化学的、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に関連する遺伝子 Agp と Hpx をワクチン投与ラット肝臓より同定し、特許出願を行っている。現在 Agp、Hpx 遺伝子の発現を指標にした評価法の開発を行っている。また本年度はインフルエンザワクチンの毒性に関与する遺伝子の特定のため、インフルエンザワクチンを用いた DNA マイクロアレイ解析を行う。（浜口 功、水上拓郎、百瀬暖佳、内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、倉光 球、山口一成）

II．Genotype 別 HBs 抗原パネルの作成、およびそれらを用いてのキット性能評価

昨年度に引き続き、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、HBV の全ての genotype（A-H）の HBs 抗原を in vitro で

作成して各キットで測定し比較検討した。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。（水落利明）

III．Genotypeの異なるHCVコア抗原の作成

Genotype 1a, 1b, 2a, 2b, 3aのHCVに感染した肝炎患者よりHCV遺伝子をクローニングし、各gentoypeのコア抗原を、ヒト肝由来細胞で発現させた。これらを用いて、国内で承認を受けて販売されているHCVコア抗原検出キットの性能評価をする準備が整った。（水落利明、鈴木哲朗（ウイルス2部））

IV．Subtypeの異なるHIV-1感染性分子クローンの樹立およびHIV gag抗原の作成

様々なsubtype（A, B, C, D, G）及びCRF（組換体）(CRF01_AE, CRF02_AG)のHIV-1感染性分子クローンを樹立し、これらの分子クローンによりヒト細胞で産生させたウイルス粒子の抗原量を測定した。これらの抗原を用いて国内で承認を受けて販売されているHIV抗原／抗体同時検出キットの性能評価をする準備が整った。（水落利明、異　正志（エイズ研究センター））

V．平成17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

検査対象の製剤(硫酸アルベカシン、イミペネム、塩酸バンコマイシン)の標準溶液、検体溶液、および等量混合溶液を調整し、これらの ^{1}H と ^{13}C の各１次元スペクトルを測定し、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。

１．硫酸アルベカシン［注射液、3社、5ロット（50ｍｇ力価／ｍｌ）、重水］

^{1}H-スペクトル：注射液であるため、軽水のシグナル強度を逓減するため、presaturationの条件下で^{1}H－スペクトル測定を実施した。分解能が検体ごとにかなり変動し、積分が精度よく得られなかった。測定に難渋したが、注射液中のｐＨやイオン強度が検体ごとに異なるためと考えられた。観測されたピークはA：1.4ppm～2.2ppm、B：3.0ppm～4.4ppm、C：5.0ppm～6.0ppmの3つの領域に分類された。A領域は主にメチレンであり、ピークの分離は同定にはまったく不十分であったが、吸収パターンは5検体でほぼ同一であった。B領域は主に2級アルコールの環プロトンで、多くの分離ピークが観測された。C領域には水の大きなシグナル上に2つのアノマーピークが5検体で観測された。A、B、Cの領域において、等量混合スペクトルは検体及び標準スペクトルとほぼ同一のスペクトルであったが、微小な変動は存在した。^{13}C-スペクトル：標準、検体、等量混合物の各スペクトルで分子式と同じ22本のピークが観測され、等量混合スペクトルではこれらはすべて一致し、同定が完了した。

２．注射用イミペネム［注射用、3社、4ロット（0.5ｇ力価／バイアル、0.25ｇ力価／バイアル；重水）

^{1}H-スペクトル：この製剤はペプチダーゼ阻害剤のシラスタチンナトリウムが等重量配合されている。イミペネムとシラスタチンは構造がやや似ている。測定の結果、イミペネム標準スペクトルでは各プロトンは適度に分離して観測され、同定に適用できると考えられた。NHC<u>H</u>NH2が7.812ppmと7.825ppmにほぼ同じ強度の単一ピークとして観測されたが、2.8ppm～4.3ppmの骨格のプロトンピークは、多数の分裂ピークが観測された。検体スペクトルではさらにシラスタチンのピークが加算されたが、イミペネムとシラスタチンのピークの重複は観測されず、問題は生じなかった。等量混合スペクトルとの比較から同定が可能と判断した。さらに^{13}C-スペクトルを比較検討し、12 炭素がすべて完全分離で観測され、その内、8炭素がそれぞれ一対のピークとして観測された。シラスタチンは16炭素がすべて観測され、イミペネムのシグナルとの重複はなかった。等量混合スペクトルでは、検体は標準品と一致し、４検体の同定がなされた。

３．塩酸バンコマイシン［散、１社、１ロット（0.5ｇ力価／バイアル、重DMSO)］

^{1}H-スペクトル：標準スペクトル、検体スペクトル、等量混合スペクトルともに広幅のピークが均等に分布し、吸収パターンの非常に酷似したスペクトルが得られた。分解能が十分に得られなかったため、同定確認には不適であった。これは前回の測定の結果と同様であった。^{13}C-スペクトル：標準品、検体とも同様のスペクトルを与え、60ピークが観測された。これらのピークには重複ピークが存在していると考えられる。等量混合スペクトルでは検体ピークは、すべて標準スペクトルのピークと一致し標準品との同定確認ができた。また検体には大きな不純物ピークは検出されなかった。（矢野茂生）

VI．発熱試験法の見直しに関する研究

１．ウサギへの投与量の見直し

臨床投与量の増加等に対応して、血液製剤の発熱試験法におけるウサギへの投与量を見直す必要が生じている。人血清アルブミン（5%）、静注用人免疫グロブリン、乾燥濃縮人血液凝固第VIII因子、人ハプトグロビン、乾燥人

フィブリノゲンの各製剤については、エンドトキシンを添加した製剤を現行の投与量と増量した投与量でウサギの発熱反応を比較したところ、増量した投与量で発熱反応の増強を認めた。投与量を増やすことにより試験感度の増強が期待できる。

2．エンドトキシン試験法の導入

人血清アルブミン、加熱人血漿たん白以外の血液製剤について、エンドトキシン試験法を適用できるかどうか検討した。対象となる35品目の製剤に対して、反応干渉因子試験、発熱増強活性試験を実施した。

（1）反応干渉因子試験の実施

製剤のエンドトキシン試験反応系への影響を評価するために、9品目の製剤に対して、カイネティック比色法およびカイネティック比濁法について反応干渉因子試験を実施した。乾燥人アンチトロンビンについてはきわめて強い反応干渉作用が認められ、通常の方法ではエンドトキシン試験法の適用は困難であるが、他の8品目については、希釈をすることにより反応干渉作用が認められなくなり、エンドトキシン試験法の適用は可能である。

（2）発熱増強活性試験の実施

製剤のエンドトキシン発熱増強活性に応じてエンドトキシン規格値を補正するために、発熱増強活性試験を実施した。PEG処理人免疫グロブリン、人ハプトグロビン、乾燥人フィブリノゲンについて試験を実施した。乾燥人フィブリノゲンでは、エンドトキシンによる発熱反応を増強する傾向が認められた。一方、PEG処理人免疫グロブリンでは、逆にエンドトキシンによる発熱反応を抑制する傾向が認められ、人ハプトグロビンでは影響は認められなかった。〔内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、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

I．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。July 7-8．2005

血液・安全性研究部主催のセミナー、研究会

1．2005年6月1日 ワクチン研究会　神谷　斎（国立病院機構三重病院名誉院長）　臨床医から見た日本のワクチンの現状

2．2005年6月13日 第1回ソーティング実験研究会

1）栗城秀樹（Bay Bioscience）　フローサイトメトリーでどのようなことができるか？

2）久米晃啓（自治医科大　分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部助教授）　遺伝子導入による血液細胞の随意的増殖法の開発

3．2005年7月5日 平成17年度厚生労働科学研究事業輸血関連合同班会議　輸血医療の安全性向上と血液の完全国内自給を実現する総合研究

4．2005年7月11日 第2回ソーティング実験研究会

1） 小出のり（BECKMAN COULTER社）　画像から定量化へ　-顕微鏡ベース自動画像解析システムArrayScan VTI HCS Readerの可能性-

2） 前川　平（京都大医学部附属病院　輸血細胞治療部　分子細胞治療センター教授）　わが国における細胞治療・再生治療の発展のために -ストロング日本版 FDAの必要性-

5．2005年7月21日 第4回HTLV/ATLシンポジウム　主催：文科省科研費補助金　がん研究に関わる特定領域研究「ATL発症高危険群の同定ー発症予防を目指して」（山口班）

6．2005年7月27日 川上浩司（東京大院医学系研究科先端臨床医学開発講座助教授）　米国における血液代替物の製造・非臨床の考え方

7．2005年8月8日 第3回ソーティング実験研究会　清水則夫（東京医科歯科大　難治疾患研究所　フロンティア研究室　ウイルス治療学）　再生医療・細胞治療をサポートするウイルス検査系の開発と応用　東京医科歯科大細胞治療センターの取り組み

8.2005年10月31日 池淵研二（埼玉医科大病院　輸血・細胞移植部教授）輸血部における臨床支援業務

9.2005年11月8日 藤井眞一郎（理化学研究所　横浜研究所　免疫アレルギーセンター　免疫細胞移植戦略研究ユニット　ユニットリーダー）自然免疫活性化による樹状細胞の成熟化と獲得免疫の誘導

10．2005年11月14日 第4回ソーティング実験研究会　岡田誠治（熊本大エイズ学研究センター　予防開発分野教授）　免疫不全マウスにおけるヒトの造血・免疫系の構築とヒト疾患研究への応用

11.2005年11月29日 第5回ソーティング実験研究会 江崎太一（東京女子医科大 解剖学発生生物学講座主任教授）　形態学からリンパ管微小循環系に迫る

12．2006年2月24日 小方則夫（労働省健康福祉機構燕労災病院　副院長）　日本におけるHBV感染防御に関わるHBs抗体評価の問題

13．2006年3月22日 福武勝幸（東京医大　臨床検査医学教授）　血友病の今日的課題

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

1．欧文発表

1) 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

2) Mizuochi T, Okada Y, Umemori K, Mizusawa S, Yamaguchi K.: Evaluation of 10 commercial diagnostic kits for in vitro expressed hepatitis B virus (HBV) surface antigens encoded by HBV of genotypes A to H. *Journal of Virological Methods* 136:254-256,2006

3) Fuse A, Sato T.: Effect of microgravity changes on virus infection in mice. *Journal of Gravitation Physiology* 11:89-92, 2005

4) Kita M, Yamamoto T, Imanishi J, Fuse A.: Influence of gravity changes induced by parabolic flight on cytokine production in mouse spleen. *Journal of Gravitation Physiology* 11:103-106, 2005

5) Hamaguchi I, Morisada T, Azuma M, Murakami K, Kuramitsu M, Mizukami T, Ohbo K, Yamaguchi K, Oike Y, Dumont DJ, Suda T.: Loss of Tie2 receptor compromises embryonic stem cell-derived endothelial but not hematopoietic cell survival. *Blood* 107:1207-1213, 2006

6) 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* 30:90-97,2006

7) 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. *Comparative Medicine* 55(2):145-149、2005.

8) Odaka C, Morisada T, Oike Y, Suda T.: Distribution of lymphatic vessels in mouse thymus: immunofluorescence analysis. *Cell Tissue Res* 325:13-25. 2006.

9) 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.

10) Masumi A, Aizaki H, Suzuki T, DuHadaway JB, 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.

11) Ishii M, Tay TW, Matsui T, Kidokoro T, Mizukami T, Kanai Y, Hayashi Y, Kurohmaru M.: Expression Pattern of alphavbeta3 and alphavbeta5 Integrin mRNA in Mouse Fetal Gonads. *J Reprod Dev* 52:461-468.2006.

12) Masumi A, Fukazawa H, Shimazu T, Yoshida M, Ozato K, Komuro K, Yamaguchi K.: Nucleolin is involved in interferon regulatory factor-2-dependent transcriptional activation. *Oncogene* 25:5113-5124. 2006.

13) Akiyama T, Maeda S, Yamane S, Ogino K, Kasai M, Kajiura F, Matsumoto M, Inoue J.: Dependence of

self-tolerance on TRAF-6-directed development of thymic stroma. Science 308:248-251,2005.

2．和文発表

1) 水上拓郎、大槻紀之、布施　晃：PDA Viral & TSE Safety Conference。PDA Journal。GMP and Validation on Japan 7:68-73, 2005

2) 水上拓郎、浜口　功、山口一成：血液製剤における病原体検査の現状　感染症
35(4):155-160,2005

3) 前山順一：コレラ毒素の粘膜アジュバント効果　臨床免疫　43:640-646、2005

4) 水落利明、岡田義昭、梅森清子、水沢左衛子、佐藤進一郎、山口一成：国内で販売されている 10 種類の高感度キットを用いての異なる HBV genotype 由来 HBs 抗原の検出　臨床検査 49(9):1039-42,2005

5) 半田　誠、大戸　斉、比留間潔、山口一成：輸血の安全性と医療機関の輸血管理体制　座談会　モダンメディア　51（10）:2005.11.29

6) 布施 晃：回収型バイオ・サイエンス 小型実験衛星システムに関する調査研究報告書　(財)宇宙環境利用推進センター　pp1-pp67, 2006.3

7) 水沢左衛子, 岡田義昭, 堀内喜信ほか:C 型肝炎ウイルス RNA の遺伝子検査法のための第一次国内標準品の作製　日本輸血学会誌 51:515-519,2005

8) 岡田義昭, 水沢左衛子, 種市麻衣子, 梅森清子, 斎賀菊江：輸血, 血液製剤の安全性の現状　公衆衛生 69,781-5,2005

9) 山口一成：ATL の疫学。がん研究のいま 4 がんの疫学　田島和雄、古野純典編　東京大学出版会 74-87,2006

10) 百瀬暖佳、浜口　功、山口一成：ATL ウイルス（HTLV-I）抗体　検査値のみかたーパニック値・警戒値ー　改訂３版　中井利明編集　中外医学社 561-564,2006

11) 倉光　球、浜口　功、山口一成：HTLV-I DNA 診断　検査値のみかたーパニック値・警戒値ー　改訂３版　中井利明編集　中外医学社 967-969,2006

12) 浜口　功、山口一成：ウイルス抗体価の診断基準と問題点　メディカル・テクノロジー 33:582-587,2005

13) 浜口　功：輸血医療・医学の新展開　細胞療法・再生医療の安全性　医学のあゆみ　医歯薬出版　218: 657-662,2006

II．学会発表

１．国際学会

1) Okada,Y. Umemori,K. Yamaguchi,K.:B19 inactivation by heat treatment with epithelial cell lines. 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. May 2005, Washington

2) Ishida T, Watanabe T, Aizawa S, Shoda M, Aoki S, Yamaguchi K, Kamihira S, Okayama A, Utsunomiya A, Kikuchi H, Koga S and collaborators of JSPFAD.: Relationship between the levels of provirus-load the clonality of the infected cells in the peripheral blood of HTLV-I carriers enrolled in the JSPFAD. 12th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 22-25, 2005,Jamaica

3) Watanabe T, Aizawa S, Yamamoto K, Aoki S, Maruyama-Nagai M, Yamaguchi K, Kamihira S,

Okayama A, Utsunomiya A, Kikuchi H, Koga S and collaborators of JSPFAD: Nationwide cohort study of HTLV-I carriers in Japan: Joint study on predisposing factors of ATL development (JSPFAD). 12th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 22-25, 2005,Jamaica

4) Shoda M, Ito E, Aizawa S, Ishida T, Aoki S, Maruyama-Nagai M, Kuroki R, Utsunomiya A, Koga S, Okayama A, Yamada Y, Kamihira S, Uozumi K, Kikuchi H, Yamaguchi K, Watanabe S, Watanabe T.: Characterization of the expression profil signature of ATL cells and detection of ATL cells in vivo. 12th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 22-25, 2005,Jamaica

5) Miyake M, Utsugisawa T, Flygare J, Kiefer T, Hamaguchi I, Richter J, Karlsson S.: Deficient Ribosomal Protein S19 in Diamond-Blackfan Anemia Causes a Reduction in bcl-2 and Bad and Leads to Apoptosis in Erythroid Progenitor Cells. 第 47 回アメリカ血液学会年会・2005.12

6) Masumi A, Fukazawa H, Yamaguchi K.: The Biological role for Interferon Regulatory Factor-2. 国際インターフェロン、サイトカイン学会、2005.10 中国、上海

7) Mizukami T, Hamaguchi I, Kuramitsu M, Momose H, Takizawa K, Mochizuki M, Naitou S, Masumi A, Noce T, Yamaguchi K.: Molecular Basis of Hematopoietic and Germline stem cell niche. The First Conference of the Asian Association of Veterinary Anatomists Tsukuba International Congress Hall, Japan March 19 – 21, 2006, Ibaraki-Tsukuba

2. 国内学会

1) 前山順一、井坂雅徳、永田典代、小宮貴子、高橋元秀、諸熊一則、大隈邦夫、安田陽子、杤久保邦夫、後藤紀久：組換えコレラ毒素 B サブユニット添加混合ワクチンのカニクイザルに対する安全性と効果　第 78 回日本細菌学会総会　2005.4 東京

2) Kasai M: A possible involvement of autophagy in presentation of cytoplasmic antigens via MHC class Ⅱ molecules. 4th International Workshop of Kyoto T cell Conference. 2005. 4. Kyoto

3) 水沢左衛子：新興再興感染症と輸血感染症　第 53 回日本輸血学会総会シンポジウム　2005.5 千葉

4) 内藤誠之郎、今井順一、加藤博史、河村未佳、浜口　功、水上拓郎、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：DNA マイクロアレイを応用したワクチンの新しい安全性評価法の開発　第 32 回日本トキシコロジー学会　2005.6.29　東京

5) 堀江良一、渡辺真理子、大杉剛生、正田桃子、石田尚臣、相澤繁美、宇都宮與、山口一成、東原正明、梅澤一夫、渡邊俊樹：NF-kB 阻害剤 DHMEQ による ATL 化学予防の基礎的検討　第 9 回がん分子標的治療研究会総会　2005.6.30-7.1　京都

6) 上平　憲、山口一成：成人 T 細胞白血病・リンパ腫　シンポジウム　日本リンパ網内系学会 2005.7.13-15　福岡

7) 水落利明、岡田義昭、梅森清子、水沢左衛子、佐藤進一郎、山口一成: 国内で販売されている 10 種類の高感度キットを用いての異なる HBV genotype 由来 HBs 抗原の検出　平成 17 年北海道輸血療法検討会 2005.7 札幌

8) 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：合成 DNA アレイ解

析による遺伝子発現シグニチャーを用いた ATL 細胞の高感度検出系の確立　第 64 回日本癌学会学術総会　2005.9.14-16. 札幌

9) 青木　桜、石田尚臣、宇都宮與、内丸　薫、山口一成、渡邊俊樹：HTLV-I 組み込み部位の塩基配列を用いた ATL 細胞検出系の確立と応用　第 64 回日本癌学会学術総会　2005.9.14-16 札幌

10) 石田尚臣、相澤繁美、正田桃子、黒木良子、山口一成、上平　憲、岡山明彦、宇都宮與、渡邊俊樹：JSPFAD 参加 HTLV-I キャリアのプロウイルスロードとクローナリティの関係　第 64 回日本癌学会学術総会　2005.9.14-16 札幌

11) 倉光　球、浜口　功、水上拓郎、益見厚子、内藤誠之郎、山口一成：ダイアモンド・ブラックファン貧血(DBA)原因遺伝子 RPS19 の細胞増殖に与える影響　第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会　2005.9.17-19 横浜

12) 水上拓郎、浜口　功、内藤誠之郎、益見厚子、倉光　球、野瀬俊明、山口一成: ニッチにおける生殖幹細胞と造血幹細胞の共通の幹細胞システムの解明　第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会　2005.9.17-19 横浜

13) 益見厚子、浜口　功、水上拓郎、倉光　球、内藤誠之郎、山口一成: インターフェロン制御転写因子 IRF-2 の血液細胞分化における影響　第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会　2005.9.17-19 横浜

14) 渡邊俊樹、正田桃子、相澤繁美、石田尚臣、上平　憲、宇都宮與、魚住公治、岡山昭彦、菊池博、古賀　震、田口博国、内丸　薫、山口一成：合成 DNA アレイ解析による遺伝子発現シグニチャーを用いた ATL 細胞の高感度検出系の確立　第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会　2005.9.17-19 横浜

15) 浜口　功、今井順一、加藤博史、河村未佳、内藤誠之郎、水上拓郎、前山順一、益見厚子、笠井道之、百瀬暖佳、倉光　球、望月雅代、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成：包括的遺伝子発現解析による、百日ぜきワクチンの新しい安全性評価法の開発　第 9 回日本ワクチン学会学術集会　2005.10.15-16　大阪

16)　内藤誠之郎、前山順一、高橋元秀、水上拓郎、浜口　功、山口一成：経皮免疫ワクチンの可能性　第 9 回日本ワクチン学会学術集会　2005.10.15-16 大阪

17) 原　正幸：マカク族サル類における SRV の感染　京都大学霊長類研究所共同利用研究会　霊長類モデルでのバイオモデル研究の新展開-005　2005.10.29　犬山

18) 内藤誠之郎、前山順一：経皮免疫法による減感作療法の可能性　第５５回日本アレルギー学会総会　2005.10.盛岡

19)　水沢左衛子、岡田義昭、梅森清子、山口一成：ヒト白血病細胞を用いた in vitro TSE 感染系　第 53 回日本ウイルス学会学術集会　2005.11.20-22 横浜

20)　青木　桜、石田尚臣、内丸　薫、宇都宮與、山口一成、渡邊俊樹：HTLV-I 組み込み部位の塩基配列を用いた ATL 細胞検出系の確立と応用　第 53 回日本ウイルス学会学術集会　2005.11.20-22 横浜

21) 梅森清子、岡田義昭、水沢左衛子、山口一成：上皮細胞を用いたヒトパルボウイルス B19 不活化の評価系の確立　第 53 回日本ウイルス学会学術集会　2005.11.20-22　横浜

22) 岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子、山口一成：in vitro プリオン検出系を用いたプリオン高親和性マウスリンパ球サブセットの検索　第53回日本ウイルス学会学術集会　2005.11.20-22　横浜

23) 原　正幸、中島典子、佐多徹太郎、向井鐐三郎: SRV/Dの組織分布と感染源についての解析　第53回日本ウイルス学会　2005.11.20-22 横浜

24) 前山順一、山本三郎、後藤紀久: CpG-DNA のジフテリアトキソイドに対するアジュバント効果　第35回日本免疫学会総会・学術集会　2005.12 横浜

25) 種市麻衣子、水口純一郎、内田哲也：Involvement of structural motifs of I-A^d peptide-binding groove in OVA peptides is a necessary, but not a sufficient condition for the activation of OVA-specific T cells. 第 35 回日本免疫学会総会 2005.12 横浜

26) 小高千加子：Expression of stromelysin-3 in macrophages of murine thymus following thymocyte apoptosis. 第 35 回日本免疫学会総会　2005.12 横浜

27) Kasai M, Mizuochi T: Autophagy involves in MHC class Ⅱ-restricted presentation of the cytoplastic proteins by thymic epithelial cells. 第35回日本免疫学会総会　2005.12 横浜

28) 水上拓郎、今井順一、加藤博史、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、浜口功、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成: トランスクリプトーム解析による百日咳ワクチンの新しい安全性評価法の開発　第35回日本免疫学会総会　2005.12 横浜

29) 内藤誠之郎、前山順一、笠井道之、水上拓郎、浜口功: 経皮免疫法による抗原特異的抗体産生と新しいワクチン投与法としての可能性　第35回日本免疫学会総会　2005.12 横浜

30) 田中明子：レトロウイルスの病原性にインテグラーゼがはたす組み込み以外の役割　第28回日本分子生物学会年会　2005.12 福岡

31)笠井道之：オートファジーによる MHC クラスⅡ拘束性細胞内抗原の提示　文部科学省研究費特定領域研究「メンブラントラフィックー分子機構から高次機能への展開ー」　公開シンポメンブラントラフィックと感染・免疫　2005.12 東京

32) 水上拓郎、浜口　功、倉光　球、百瀬暖佳、滝沢和也、望月雅代、内藤誠之郎、益見厚子、野瀬俊明、山口一成: ニッチにおける生食幹細胞と造血幹細胞の共通の幹細胞システムの解明　第 141 回日本獣医学会総会　2006.3　筑波

33) 前山順一、小宮貴子、高橋元秀、山本三郎、後藤紀久: 経鼻投与による CpG-DNA のジフテリアトキソイドに対する粘膜アジュバント作用　第79回日本細菌学会総会　2006.3 金沢

34) 内藤誠之郎、前山順一、高橋元秀：パッチ型ワクチンの開発、免疫条件の検討　第79回日本細菌学会総会　2006.3 金沢

１４．国 際 協 力 室

室 長　中 嶋 建 介

概　要

近年の国際交流の進展にともない、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、アジアを始めとする世界各国の動物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、世界規模での情報収集、研究・技術面での国際貢献等、諸外国の研究機関や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協力と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、関係外国研究機関との協力調整等、以下のような業務を実施している。

Ｉ.諸外国との技術協力の調整

諸外国との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 17 年 4 月から平成１8 年 3 月までに、46 カ国から 321 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 17 年 4 月から平成１8 年 3 月までに、23 カ国 109 名の派遣を行った(別表 2)。

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.ベトナムにおける鳥インフルエンザ対策支援

(1)　平成17年6月　ベトナム国感染症対策プログラム形成調査団員として、疫学調査のため感染症情報センターから１名、病原体診断のためウイルス第三部から１名をベトナムに派遣

２．インドネシアにおける鳥インフルエンザ対策支援

(1)　平成 17 年 9～10 月　国際緊急援助隊調査チーム員として現地情報収集、対策に関する助言、今後の支援に関する調査のため、感染症情報センターから１名、ウイルス第三部から１名を派遣

(2)　平成17年10月　調査２陣チーム員として現地情報収集、対策に関する助言、今後の支援内容の見極めのため、感染症情報センターから１名、ウイルス第三部から１名を派遣

(3)　平成 17 年 10～11 月　調査３陣チーム員として検査分野支援のため、ウイルス第三部から 1 名、免疫部から１名を派遣

(4)　平成17年11月　プロジェクト形成調査団員として、疫学及び検査分野の現地指導、今後の方向性の検討のため、感染症情報センターから１名、ウイルス第三部から１名、免疫部から１名を派遣

３．タイにおけるボツリヌス中毒対策

(1)　平成 18 年 3 月　抗毒素運搬及び適正使用の確認のため、感染症情報センターから１名を派遣

４．アジア H5N1 発生国の調査及びフォローアップ

(1)　平成 18 年 3 月　ベトナム、カンボジア、インドネシア、ミャンマー、ラオスへ国際協力室１名、感染症情報センター２名、ウイルス第三部２名、バイオセーフティ管理室１名、免疫部１名を派遣

５．アジア H5N1 発生国のラボ担当者研修

関係国での感染症対策の向上、我が国との感染症対策に係わる連携強化等に資する事を目的としてモンゴル、インドネシア、ベトナムのラボ担当者を招聘し、トリインフルエンザのウイルス診断等の研修を実施(平成 18 年 3 月 1 日～30 日 5 名)。

６.「BSL-4(P4)施設の必要性と現状」国際セミナー開

催

カナダ、フランス等諸外国の BSL4 施設関係者を招聘し、BSL４に関する必要性、各国現状、今後の対応等について、国際交流等を行う(平成 18 年 3 月)。

Ⅱ.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

１.多国間協力

国際機関等との協力については、WHO 本部及び WPRO との協力を中心に行っており、関係の専門家会議等に適宜専門家を派遣。

２．その他

二国間科学技術協力協定に基づく協力プロジェクト（スイス等)、台湾交流協会からの依頼に基づく国際シンポジウムの開催、実地疫学専門家養成コースに係る調整の他、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１７年度
外国人研修等受入について

年月日		国籍	氏名	所属先	受入担当	研修名等（依頼元）
H17.4.4	～4.15	ミャンマー	Kyaw Myint	保健省保健局	感染症情報センター	ハンセン病対策・基礎保健サービス改善プロジェクト（国立国際医療センター）
			Peter Nay Win	マグウェー管区地域レベルハンセン病対策官		
			Chan Tun Aung	マグウェー管区地域レベルハンセン病対策官		
			Yin Thandar Win	マンダレー管区保健局次長		
H17.4.5	～12.10	エルサルバドル	Jeannie Margarita Sanchez Lopez	サルバドル社会保障研究所	ハンセン病研究センター	ＪＩＣＡ集団研修「ハンセン病の治療及び予防の実践」（ＪＩＣＡ八王子）
		ケニア	Herman Owuor Weyenga	アルペ・ハンセン病病院		
		ニジェール	Oumarou Issa	保健省		
		ミャンマー	Win Maw	Yenanther Leprosy Hospital		
			Kyaw Kyaw Lin	Team Leader,Leprosy Control Team,Bago Distrrict Ministry of Health		
H17.5.20		中国	Wang Ju	中国実験動物学会		中国実験動物学会訪日団（前島一淑慶應義塾大学名誉教授）
			Hu Jian Hua			
			Shen Zhi min			
			Ying Hua Zhong			
			Fu Jun			
			Meng Qun			
			Tu Xin Ming			
			Wei Qiang			
			Zhu Hua			
			Zhang Yang Qing			
			Sun Feng Ping			
			Hua Chun Hua			
H17.5.23		ウガンダ	Maureen Nakazibwe Mulungi	カディック医療サービス社	バイオセーフティ管理室 感染症情報センター エイズ研究センター	ＪＩＣＡ熱帯医学研究コース（長崎大学熱帯医学研究所）
		ギニア	Fode Fofana	厚生省		
		ケニア	Isaac Mwangi	厚生省		
		タンザニア	Jpseph Elieza	医療研究所		
			Ali Tkadir Mtoro	ナジモヤ病院		
		中国	Yuming Jin	海南省疾病対策予防センター		
		フィジー	Nemani Talemaitoga	ウイルス・ベクター媒介病科学サービスセンター		
			Hla Thein	厚生省		
		ミャンマー	Wut Hmone Saw	医学研究所		
H17.5.30		ウガンダ	James Ssekitooleko	ムバララ大学病院	感染症情報センター バイオセーフティ管理室 エイズ研究センター	保健衛生管理研修（国立保健医療科学院）
		ウズベキスタン	Saipova Mashhura	アンディジャン医療研究所		
			Shakirov Fakhriddin	タッシュ小児医療専門学校		
		エチオピア	Tigist Gebremicheal	国立保健科学大学		
		エリトリア	Tedros Yehdego Mesghna	保健省		
		カザフスタン	Baizhumanova Ainur Saparadievna	保健省		
		カンボジア	Touch Sokneang	保健省		
		キルギス	Smankulova Nurgul Sardarbekovna	大統領府総務省		
		タンザニア	John Duncan Mankambila	モロゴロ地区病院		
			Joyce Emmanuel	トゥンビ病院		
		中国	Liu Ligun	保健省		
			Jiao Yahui	保健省		
		日本	福田　笑子	保健医療科学院専門課程国際保健分野		
			福澤　歌織	保健医療科学院専門課程国際保健分野		
			北川　由美子	保健医療科学院専門課程国際保健分野		
			林　亜紀子	保健医療科学院専門課程国際保健分野		
		バングラディシュ	Faruque Hossain	保健省		
		フィジー	Eliki Naitoni Nanovu	保健省		
		フィリピン	Baleriano Jesus Valmonte Lopez	保健省		
			Artemio Rivera	教育省		
		ベトナム	Tran minh Thi Thu	ハノイ医科大学		
		マリ	Bareye Ouologuem	食品安全局		
		モンゴル	Nyamragchaa Chimedtseren	国立保健院栄養研究センター		
			Dagva Bolorchimeg	推進局医療サービス委員会		
			Radnaabazar Jargalmaa	モンゴル母子保健研究センター		
		ラオス	Keohavon Bounxo	保健省		

国際協力室

平成１７年度
外国人研修等受入について

H17.6.3		インド	Aarunima Bhatnagar	インド・カナダ共同ＨＩＶ／ＡＩＤＳプロジェクト	バイオセーフティ管理室 感染症情報センター エイズ研究センター 感染病理部	第１２回アジア地域エイズ専門家研修（結核予防会結核研究所）
			Mousumi Dinda	サラダＡＩＤＳケア・カウンセリング協会　代表		
		インドネシア	Akbar Halim	ガヤ・セレベス財団		
		カンボジア	Lon Say Heng	保健省		
		スリランカ	Koholangod Gedera Sudharmasiri Gunasekera	厚生省		
		タイ	Suwimon Saejung	チェンライ地域病院		
			Sarawut Boonsuk	カンダーラック地域病院		
		中国	Cui Weiguo	河南健康局		
		中国	gong Xiangdong	国立性感染症・ハンセン病コントロールセンター		
			Xia Dong-Yan	北京疾病予防コントロールセンター		
		日本	塚本　幹夫	長崎大学大学院		
		バングラディシュ	Shale Ahmed	バンドゥー社会福祉協議会		
		フィリピン	Nerissa Isabel Coronel Sescon	レメディオスエイズ財団		
		ベトナム	Cuong Duc Pham	社会開発研究所		
		マレーシア	Norliza Binti Ibrahim	保健省		
		ミャンマー	Aung Kyaw Htwe	メイクティラ病院エイズ・性感染症予防コントロール		
			Khin Maung Lwin	メトロエイズ支援グループ		
		モンゴル	Lkhamsuren Bilguur	エイズ財団		
		ラオス	Bouathong	保健省		
H17.6.20	～7.29	エチオピア	Woldeyesys Reji	セント・ポール総合特別病院	エイズ研究センター	集団研修HIV感染者のｹｱとﾏﾈｼﾞﾒﾝﾄのための高度診断技術（ＪＩＣＡ八王子）
		ケニア	Samuel Z Ongwae Otwori	保健省		
		ザンビア	Jacqueline Muciliko Banda	医科大学病院		
		セイシェル	Justina Toseline Hollanda	保健福祉省		
		タンザニア	Isaya Andrea Malisa	バガンドメディカルセンター		
		パプアニューギニア	Seva Ruape	保健局		
		フィジー	Josaia Nainoka Uluinaceva	保健省		
		ベトナム	Le Hai Nguyen	保健省		
		マレーシア	Yu Kie A/P Chem	保健省		
		ミャンマー	Khin Myat NEW	保健局		
		ラオス	Khanthong Bounlu	保健省		
H17.6.22		ウガンダ	James Ssekitooleko	ムバララ大学病院	ハンセン病研究センター	保健衛生管理研修（国立保健医療科学院）
		エチオピア	Tigist Gebremicheal	国立保健科学大学		
		エリトリア	Tedros Yehdego Mesghna	保健省		
		タンザニア	John Duncan Mankambila	モロゴロ地区病院		
			Joyce Emmanuel	トゥンビ病院		
		日本	福田　笑子	保健医療科学院専門課程国際保健分野		
			福澤　歌織	保健医療科学院専門課程国際保健分野		
			北川　由美子	保健医療科学院専門課程国際保健分野		
			林　亜紀子	保健医療科学院専門課程国際保健分野		
		バングラディシュ	Faruque Hossain	保健省		
		フィジー	Eliki Naitoni Nanovu	保健省		
		フィリピン	Baleriano Jesus Valmonte Lopez	保健省		
			Artemio Rivera	教育省		
		マリ	Bareye Ouologuem	食品安全局		
		モンゴル	Nyamragchaa Chimedtseren	国立保健院栄養研究センター		
H17.6.27	～7.1	マカオ	Ip Peng Kei	特別行政区政府健康局	ウイルス第一部 ウイルス第二部 ウイルス第三部 バイオセーフティ管理室 感染症情報センター	研修訪日（マカオ特別行政区政府健康局）
			Lau I Fan	特別行政区政府健康局		
			Wong Pou San	特別行政区政府健康局		
			Lam Chong	特別行政区政府健康局		
H17.6.27		中国	Li jianzhong	広東省衛生庁処長	感染症情報センター バイオセーフティ管理室 動物管理室	施設見学、感染症サーベイランス研修（広東省疾病対策予防センター）
			Chen zhusheng	広東省衛生庁処長		
			Huang yuwen	広東省衛生庁副主任科員		
			Lin jinyan	広東省疾病対策予防センター主任医師		
			Ke changwen	広東省疾病対策予防センター主任技師		
			Liu liping	広東省疾病対策予防センター主任技師		
			Xu xiaopin	広東省疾病対策予防センター主任医師		
			Di biao	広州市疾病対策予防センター副主任医師		

国際協力室

平成１７年度
外国人研修等受入について

			Chen shuhao	佛山市疾病対策予防センター主管医師		
			Liu Jianjun	深圳市疾病対策予防センター主任技師		
H17.6.29		台湾	Tzay-Jinn Chen	台湾衛生署	副所長	見学訪日団 （中華経済研究院東京事務所）
			Long-Den Hwang	樂生療養院		
			Ruay-Ming Huang	胸腔病院		
			Ying-Hsun Wu	胸腔病院		
			Shao-Nan Huang	医管會		
H17.7.4		アフガニスタン	sajeed Mohammad Wasim	公衆衛生省	ウイルス第二部	第２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）
		インド	Parajapati Pradeep Kumar Bherulal	市民病院		
		ガーナ	Seidu Amadu Amina	ガーナ北部　ＥＰＩ局		
		ナイジェリア	Usman A. Tukur	北中部地域コーディネーター		
		パキスタン	Waheed Khan Waheed Khan	ペシャワールＥＰＩ計画局		
			Zulfiqar Ali	保健省		
			Khamisani Mazhar	Ｓｉｎｄｈ州ＥＰＩ局		
		フィリピン	Niora Remedios V.	保健省		
		ブリキナ・ファソ	Coulibaly Norbert	中東地域保健局		
		マダガスカル	Naijnirina Andriantsilavo	保健省		
		ミャンマー	Nu Nu Kyi	保健省		
H17.7.23	～8.13	ベトナム	Nguyen Thi Phong Lan	国立ポリオワクチン製造研究所	細菌第一部	研修訪日 （ＪＩＣＡ）
H17.7.27	～8.17	台湾	Chen Wei-Ting	国立台湾大学	細菌第一部 バイオセイフティ管理室 動物管理室	レストピラ感染に関する研究 （台湾大学）
H17.8.25		インドネシア	Lydia Metasari	ITB Univ.	エイズ研究センター ウイルス第三部 ウイルス第一部 感染症情報センター	第４回アジア太平洋薬学生会議研修 （薬学生の集い/明治薬科大学）
			Yanti Tanuwijaya	ITB Univ.		
		オーストラリア	Verna Wan			
		タイ	Wakul Rattanapol	Silpakorn Univ.		
			Em-on Chaiprateep	Silpakorn Univ.		
			Doungporn	Silpakorn Univ.		
			Sutheera Prasertsap	Srinakharinwirot Univ.		
			Satita	Srinakharinwirot Univ.		
			Wannisa Dongtai	Khon Kaen Univ.		
			Alongkorn	Ubon Rajathance Univ.		
			Chuthamas	Rangsit Univ.		
		台湾	Tsai Ling-YI	National Taiwan Univ.		
		中国	Xiang Kou	Shenyanng Pharmaceutica Univ.		
			Ying Guan	Shenyanng Pharmaceutica Univ.		
			Jiahong Wang	Shenyanng Pharmaceutica Univ.		
			Yang Yu	Shenyanng Pharmaceutica Univ.		
		台湾	Chiu Wan Ju	Chia-nan Univ.		
		台湾	Lin Yu Hsuan	Chia-nan Univ.		
H17.9.1		中国	孟　慶敏	黒龍江省衛生庁副主任技師	感染症情報センター 感染病理部 バイオセーフティ管理室	施設見学 （日中医学交流センター）
			Yu Xiao Jie	黒龍江省疾病防止センター副主任医師		
H17.9.1		ナイジェリア	Adenuga Winifred Ugochi	アベオクタ医療センター医務官	バイオセーフティ管理室 エイズ研究センター	ＨＩＶ感染予防対策研修コース （ＪＩＣＡ）
			Huldah ljeoma Nwvokeukwn	ウムアヒア医療センター公衆衛生部長		
			Foluke Atinuke Fasola	イバタン大学病院血液病専門医		
H17.9.5	～10.8	台湾	Fang-Tzy Wu	台湾ＣＤＣ	ウイルス第二部	ウイルス実験技術研修 （台湾ＣＤＣ）
H17.9.6		ナイジェリア	Karimu Asuva Fache	連邦ロコジャ医療センター医務官	バイオセーフティ管理室 エイズ研究センター	ＨＩＶ感染予防対策研修コース （ＪＩＣＡ）
			Ishaya Chuwang	ジョス大学研修病院病院長		
H17.9.6		ベトナム	Le Thi Luan	国立ポリオワクチン製造研究所（POLIOVAC）	ウイルス第三部 細菌第二部 ウイルス第二部	麻疹ワクチン・ポリオワクチン品質管理 （ＪＩＣＡ）
			Hoang Thu Hien			
			Nguyen Thanh Hai			
			Tran Bich Hanh			
H17.9.8		ナイジェリア	Adenuga Winifred Ugochi	アベオクタ医療センター医務官	バイオセーフティ管理室 エイズ研究センター	ＨＩＶ感染予防対策研修コース （ＪＩＣＡ）
			Huldah ljeoma Nwvokeukwn	ウムアヒア医療センター公衆衛生部長		
			Foluke Atinuke	イバタン大学病院血液専門医		
			Karimu Asuva Fache	連邦ロコジャ医療センター医務官		
			Ishaya Chuwang	ジョス大学研修病院病院長		
			Mark David Anthony	カドゥナ州HIV/AIDSプログラムプロジェクトマネー		
			Funso-Adebayo Emmanuel Olufemi	ナイジェリア医学研究所研究員		
			Abel Adebayo Adedeji	連邦保健省公衆衛生局科学技官補		
			Chinyere Elizabeth	国立薬学開発研究所科学技官補		
			Stalin Edegba Ewoighokhan	連邦保健省公衆衛生局科学技官補		

国際協力室

平成１７年度
外国人研修等受入について

H17.9.22		ガーナ	Dziedzom Komi DE SOUZA	Senior Research Assistant,Noguchi Memorial Institute for Medical Research	昆虫医科学部	ＪＩＣＡ国際寄生虫対策研修「GISによる寄生虫対策別感染の管理・モニタリング」（JICA/JICE）
H17.9.26	～9.27	ガーナ	ADDAI Edward	ガーナ保健省政策計画モニタリング評価局長	感染症情報センター	平成１７年度JICA情報化促進コースＪＩＣＡ（ＪＩＣＥ）
			ADAMS Isaac Nii Ayaa	ガーナ保健省リサーチ統計情報管理局局長		
H17.9.26	～10.10	中国	Chang-wen Chi	中華民国行政院衛生署薬物食品検験局	細菌第二部	百日咳参照品の標準化手法の確立（中華民国行政院衛生署）
H17.9.26	～10.16	台湾	Chen,Kuang-Lo	台湾衛生署疾病管制局研究検験中心	細菌第一部	サルモネラの多剤耐性菌の疫学的研究・台湾地区のＤ型赤痢菌の疫学的研究等（台湾ＣＤＣ）
H17.9.26	～10.21	台湾	Hsiao-Lun Wei	台湾衛生署疾病管制局第三分局	細菌第一部	病原性大腸菌Ｏ157に関する検査（台湾ＣＤＣ）
H17.9.26	～10.28	台湾	Liy,Su-Jen	台湾衛生署疾病管制局研究検験中心	エイズ研究センター	HIV検査法（台湾ＣＤＣ）
H17.9.26		中国	Di Zeqing	衛生部衛生応急弁公室処長	感染症情報センター	中国医療行政訪日交流団（笹川平和財団笹川日中友好基金）
			Ling Huanong	北京徳尓順医療器械有公司高級工程		
			Sun Fuli	北京市医院建筑協会理事		
			Wang Fengli	中国実験室国家認可委員会秘書		
			Pan Liangjun	新疆自治医人民医院副院長		
			Wang Tiangui	四川省衛生庁疾病控制処処長		
			Wang Wenqing	世界危重病救急医学雑志副主編		
			Li Jianfa	河北省衛生庁応急弁公室主任科員		
			Yu Miping	衛生部国際合作司項目官員		
			Meng Qingyi	中国科技協会医葯衛生医院		
			Li Xin	首都医科大学附属北京安貞医院医務部副主任		
			Zhao Yue	中国国際友好聯絡会美大部処長		
			Shi Zhao	衛生部衛生応急弁公室項目官員		
			Chai Yongguang	中国国際友好聯絡会笹川日中友好基金処長		
			Jin Ping	中国国際友好聯絡会亜州部副部長		
H17.10.3	～10.28	台湾	Shu-Man Yao	台湾衛生署疾病管制局研究検験中心	細菌第二部	百日咳の培養、検査及びワクチン研修（台湾ＣＤＣ）
H17.10.3	～10.28	台湾	Li-Li Ko	台湾衛生署疾病管制局第四分局	感染症情報センター	ビブリオ（コレラ）の検査（台湾ＣＤＣ）
H17.10.3	～10.28	台湾	Liy,Su-Jen	台湾衛生署疾病管制局研究検験中心	エイズ研究センター	HIV検査法研修（台湾ＣＤＣ）
H17.10.5		カンボジア	SENG Heng	Communicable Disease Control Department	感染症情報センター	感染症対策研修（国際厚生事業団）
		フィリピン	DE GULA Benilda Trias	Center for Health Development-Metro Manila		
		ベトナム	TRAN Dac Phu	Ministry of Health		
		ミャンマー	Zaw Htay	Department of Health		
		ラオス	VONGHAMSAO Ratsamy	Deparment of Hygiene and Prevention,Ministry of Health		
H17.10.6		インドネシア	Asep Suryakusumah	保健省水質管理衛生局食品衛生部職員	感染症情報センター	平成１７年度JICA衛生環境分析技術者コース（沖縄県衛生環境研究所・JICA）
		ケニア	Oceanic Nerea Sakwa	環境天然資源省環境衛生局環境専門官		
			Catherine Waturi Muchemi	保健省環境衛生局公衆衛生管理官		
		マダガスカル	Christine Ravonizafy	国立環境研究所生活環境部主任水質分析官		
H17.10.10	～10.23	米国	Thomas L LETO	NIAID,NIH.,U.S.A	生物活性物質部	活性酸素ペルオキシターゼ機構を利用した上皮細胞における生体防御に関する研究（日本学術振興会）
H17.10.11	～10.13	台湾	Hsun-Pi Su	台湾衛生署疾病管理局	細菌第一部 獣医科学部 細胞化学部 ウイルス第一部 バイオセーフティ管理室	意見交換打合せ（台湾ＣＤＣ）
H17.10.11	～10.13	台湾	Hour-Young Chen	台湾衛生署疾病管理局研究員兼主任	ウイルス第三部 バイオセーフティ管理室	日台技術協力「インフルエンザワクチン自主製造」研修（ＪＩＣＥ）
			Jen-Ron Chiang	台湾衛生署疾病管理局血清ワクチン製造センター副研究員		
			Hsieh Wen-Chin	台湾衛生署疾病管理局血清ワクチン製造センター副研究員		
			Lee Cheng-Dow	台湾衛生署疾病管理局血清ワクチン製造センター品質		
			Jih-Hui Lin	台湾衛生署疾病管理局		
H17.10.12	～10.13	台湾	周　振英	台湾衛生署疾病管理局	副所長 獣医科学部 ウイルス第一部 バイオセーフティ管理室	台湾ＣＤＣ細菌研究者意見交換打合せ（台湾ＣＤＣ）
			蘇　勲璧			
H17.10.18	～10.21	日本	Kojima Kazunobu	WHO	ウイルス第二部 ウイルス第三部	査察（WHO）

国際協力室

平成１７年度
外国人研修等受入について

H17.10.19		中国	王 開利	黒龍江省疾病控製中心副所長	感染症情報センター 感染病理部 バイオセーフティ管理室	黒龍江省感染症研究者施設見学 （日中医学交流センター）
			馬　玉傑	黒龍江省疾病控製中心主任		
			劉 非	黒龍江省疾病控製中心医師		
			蘇 怡	黒龍江省疾病控製中心副主任技師		
			殷　文武	黒龍江省疾病控製中心副所長		
			呂　昌武	牡丹江市疾病予防センター		
H17.10.25		ベトナム	Hung The Loan	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省	感染症情報センター バイオセーフティ管理室	サーベイランス・鳥インフルエンザ講義 （国立国際医療ｾﾝﾀｰ）
			Nguyen Van Nhuan	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省財政計画専門官		
			Duong Huu Than	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省		
			Nguyen Thi Mai	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省		
			Nguyen Xuan Thuoc	ダナン市保健所		
			Nguyen Duc Nhat	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省		
			Bui Lan Huong	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省		
			Pham Thi Minh Chau	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省		
			Ngyen Chu Nhac	the Voice of Vietnam		
			Nguyen Thi Thuy	Vietnam News Agency		
			Nguyen Khoi	Health and Life Newspaper		
H17.10.31		タンザニア	Edward Joseph Terry	保健省医薬品貯蔵部地域担当部長	細菌第二部 ウイルス第三部 動物管理室	ワクチン品質管理技術コース （阪大微生物病研究会/JICA）
		パキスタン	Ghazala Parveen	イスラマバード国立衛生研究所品質管理研究所科学技		
		フィリピン	Christian Abesamis Estaris	熱帯医学研究所生物製剤製造部細菌学者		
		マリ	Boubacar Sidibe	保健省国立免疫センター免疫計画担当		
H17.11.2		米国	Steave Ostroff	US Department of Health and Human Services in Hawaii	所長 副所長 企画調整主幹 感染症情報センター	米国ＣＤＣ元幹部、表敬訪問 （米国ＣＤＣ）
H17.11.7	～11.18	台湾	Shoiu-Ru Kang	行政院衛生署疾病管制局	細菌第二部 動物管理室	インフルエンザワクチンの品質管理 （台湾ＣＤＣ/台湾ＮＨＲＩ）
			Hau-Pong Tsai	国家衛生研究院（台湾ＮＨＲＩ）		
H17.11.8		中国	舒　躍龍	中国ＣＤＣ主任	ウイルス第三部	施設見学 （日中医学協会）
			李　太生	中国医科学院教授		
H17.11.10		中国	CHEN Xiaohong	中国衛生部副部長	所長 感染症情報センター 細菌第一部	中国衛生部研究者視察団による日中医学研究者の研究状況視察 （日中医学協会）
			LIU Yanfei	中国衛生部科技教育司副司長		
			LI Mingzhu	中国衛生部国際合作司亜非処処長		
			QI Guixin	中国衛生部弁公庁秘書		
			DAI Wei	中国衛生部国際交流中心		
H17.11.14	～11.18	台湾	Hsun-Pi Su	台湾衛生署疾病管制局研究検験中心	細胞化学部 バイオセーフティ管理室	狂牛病検査法 （台湾ＣＤＣ）
			Liou,Su-Jen	台湾衛生署疾病管制局研究検験中心		
H17.11.18	～11.28	ベトナム	Duong ThibNga	POLIOVAC	細菌第二部	ポリオワクチンＱＣシステム研修 （ＰＯＬＩＯＶＡＣ）
			Tninh Van Quang	POLIOVAC		
H17.11.18		中国	朱　威	中国上海生物制品研究所所長	所長 細菌第二部	インフルエンザワクチンの品質管理/バイオセーフティーシンポジウム参加 （中国上海生物制品研究所）
			陳　列勝	中国上海生物制品研究所副所長		
			陸　敏芝	中国上海生物制品研究所合作部		
			薛　各国	中国上海生物制品研究所所長オフィス		
			馬　相虎	中国上海生物制品研究所ワクチン第三室		
			曹　婕	中国上海生物制品研究所人事部		
			楼　覚人	中国上海生物制品研究所主席研究員		
H17.11.18		中国	戦　勇	黒龍江省疾病控製中心医師	感染症情報センター 感染病理部 バイオセーフティ管理室	黒龍江省の感染症研究者の感染症対策に関する研修・施設見学 （日中医学交流センター）
			葛　涛	黒龍江省疾病控製中心副所長		
			王　紅	佳木斯疾病控製中心検査技師		
H17.12.8		アルゼンチン	MORVILLO Cristina Natalia	Childrens Hospital Microbiology Div.	細菌第二部 村山業務管理課	平成１７年度ＪＩＣＡ集団研修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）
			MONTANARO Patricia Cristina	Hospital de Nino Santisima Trinidad.		
		ウルグアイ	REGNANI CERDOSO Maria	Hospital de Clinicas Dr.Manuel Quintela		
		ザンビア	NKHOMA Mickson	Kapata Mini Hospital		
		ペルー	HUAPAYA Cabrera Blanca Nina	National Institute of Health of Peru		
		ラオス	NOUANPHANYHA KOUN Manivanh	MITTAPHAB Hospital		
H17.12.20		中国	YUAN HUI	江西省疾病予防控制中心主任	所長 感染症情報センター バイオセーフティ管理室	中国江西省衛生庁視察研修団来訪 （社団法人日中医学協会）
			ZHOU QI	江西省撫州市人民政府副市長		
			SHI KE	江西省鷹潭市人民政府副市長		
			SHENG SHIKE	江西省財政庁副庁長		
			DENG FEI	江西省財政庁主任科員		
			CHENG HUA	江西省発改委処長		
			ZOU HONG	江西省発改委処長		
			ZOUWEIDONG	江西省吉安市衛生局局長		
			WU QINGSHOU	江西省九江市衛生局副局長		
			XIE FANG	江西省撫州市衛生局副局長		
			HUANG	江西省新余市衛生局局長		
			YAO YONG	江西省贛州市衛生局副局長		
			MEI JIAMO	江西省疾病予防控制中心副主任		
			PAN XUEWU	江西省宣春市人民医院院長		
			DENG WUGANG	江西省衛生庁主任		
			CHENG	江西省衛生庁助理調研員		
			ZHAOWU	江西省衛生庁会計士		
			ZOU QIUPING	江西省衛生庁主管医師		
			LIU GUOXIN	江西省南昌市救急中心主任		
			WEI XIONGJIE	江西省宣春市疾病予防控制中心主任		

国際協力室

平成１７年度
外国人研修等受入について

H18.1.30	～2.13	ベトナム	Nguyen Thi Yen	National Institute of Hygiene and Epidemiology,Researcher	昆虫医科学部	「熱帯性感染症の新興・再興の要因とそれに基づく防除対策」（長崎大熱帯医学研究所）
H18.1.30	～2.17	ケニア	Samuel Komen KAPTUM	National Public Health Laboratories services	ウイルス第二部 バイオセーフティ管理室 感染病理部 感染症情報センター ウイルス第三部	平成１７年度集団研修「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」に係わる研修（ＪＩＣＡ八王子）
		コートジボワール	Adinon Koutouan Philomene KACOU	Yapougon Sanitary District.State Ministry		
		トルコ	Gulcin KURUCU	REFIk SAYDAM Hygine Center,Ministry of Health		
		パキスタン	Asif NAEEM	Regional Reference Labo.Department of Viology.Public Health Division Ministry of Health		
		バングラディッシュ	Delower HOSSAIN	National Polio Labo.Institute of Public Healtj		
		フィリピン	Rachelle Sison AMA	National Polio Labo Reserch Institute for Tropical Medicine.Department of Health		
		ミャンマー	THI THI TUN	National Health Labo .Department of Health		
H18.2.8		ケニア	Joseph Warungu Gachare	保健省国立公衆衛生検査センター臨床検査技師長	寄生動物部 昆虫医科学部 感染症情報センター	ＪICA集団研修「国際寄生虫予防指導者セミナー」（（財）日本寄生虫学会)
			Leonard Cheloti Walukana	保健省国立公衆衛生検査センター臨床検査技師長		
		ガーナ	Daniel Adjei Boakye	野口記念医学研究所準教授		
			Francisca Dzata	コフォリダ地域病院病理科主任		
			William Anyan Kofi	野口記念医学研究所主任研究員助手		
		エルサルバドル	Blanca de Jesus Romero de Santos	保健省ラ・ウニオン国立病院疾病調査官		
		タンザニア	Rwehumbiza Theophil Rwegoshra	国立医学研究所上級研究員		
		パラグアイ	Maria Marta Vera	厚生省中央公衆衛生研究所寄生虫研究官		
		ホンジュラス	Concepcion Zuniga Valeriano	保健省シャーガス症対策調整官		
H18.2.10		中国	沈　壮	中国ＣＤＣ衛生防病応急中心主任医師	感染症情報センター	北京ＣＤＣ職員訪問（茨城県保健福祉部）
			寧　芳	中国ＣＤＣ衛生防病応急中心医師		
H18.2.10		ベトナム	Hoang Thu Hien	国立ポリオワクチン製造研究所	ウイルス第三部 ウイルス第二部 細菌第二部	麻疹ワクチン・ポリオワクチン品質管理（ＪＩＣＡ）
			Nguyen Thanh Hai	国立ポリオワクチン製造研究所		
			Tran Bich Hann	国立ポリオワクチン製造研究所		
H18.2.20	～3.4	ベトナム	Vu Tuong Van	Microbiology Dept.at Bach Mai Hospital	生物活性物質部 感染病理部 バイオセーフティ管理室	インフルエンザウイルスの検出技術に関する研修（国立国際医療センター）
			Van Dinh Trang	National Institute for Clinical Research oh Tropical Medicine		
			PhungYhi Thuy	National Hospital of Peoliatrics		
H18.3.1	～3.31	インドネシア	Hana Apsari Pawestri	インドネシア保健省　国立疾病対策研究開発センター	ウイルス第三部	鳥インフルエンザの実験室診断（インドネシア保健省　国立疾病対策研究開発センター）
H18.3.1	～3.31	フィリピン	Galang Hazel Oreste	フィリピン国立熱帯医学研究所	エイズ研究センター	感染症のウイルス診断技術研修（フィリピン国立熱帯医学研究所）
H18.3.1	～3.31	ベトナム	Tran Ngoc Phuong	ベトナム厚生省パスツール研究所	ウイルス第三部	感染症のウイルス診断技術研修（ベトナム厚生省パスツール研究所）
			Nguyen Thu Ngoc			
H18.3.1	～3.31	モンゴル	Badarch DARMAA	モンゴル厚生省国立感染症センター	ウイルス第三部	感染症のウイルス診断技術研修（モンゴル厚生省国立感染症センター）
H18.3.7		インドネシア	Sangkot Marzuki	Director of EIjkman Institute	ウイルス第一部 ウイルス第三部 村山業務管理課	P3・P4施設見学等（インドネシア国立Eijkman Institute)
			HerawatiI Aru Sudoyo	Exective Manager of EIjkman Institute		
			Didik Notosudjoho	Project Manager of EIjkmann Institute		
			Tjatur Sapto Edy	Exective of EIjkmann Institute		
			Syamsul Bachiri	Consultant of EIjkman Institute		
			Asep Supanda	Exective of EIjkmann Institute		
			Aries Setyarto	Exective of EIjkmann Institute		
			Herman Setyadi Gandayawana	Director of EIjkman Institute		
			Hadi Mulyono	Director of EIjkman Institute		
			Paqsi Negoro	Manager of EIjkman Institute		
			Alan Teo	Director of EIjkman Institute		

別表１　　国際協力室

平成１７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〔１６国〕		アメリカ地域〔７国〕	
アフガニスタン	1	アルゼンチン	2
インド	3	ウルグアイ	1
インドネシア	16	エルサルバドル	2
カンボジア	3	パラグアイ	1
スリランカ	1	米国	2
タイ	10	ペルー	1
台湾	28	ホンジュラス	1
中国	99		
パキスタン	5	オセアニア地域〔４国〕	
バングラディシュ	4	オーストラリア	1
フィリピン	11	ニュージーランド	1
ベトナム	31	パプアニューギニア	1
マレーシア	2	フィジー	5
ミャンマー	13		
モンゴル	6	ヨーロッパ地域〔４国〕	
ラオス	5	ウズベキスタン	2
		カザフスタン	1
		キルギス	1
アフリカ地域〔１５国〕		トルコ	1
ウガンダ	3		
エチオピア	3		
エリトリア	2		
ガーナ	7		
ギニア	1		
ケニア	8		
コートジボワール	1		
ザンビア	2		
セーシェル	1		
タンザニア	9		
ナイジェリア	16		
ニジェール	1		
ブリキナファソ	1		
マダガスカル	2	国　数　計	46
マリ	3	人　数　計	321

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	平成１７年度
ガーナ	8	3	3		3	1	3		
中国	7	5	3	1		2	8	10	12
インドネシア	2	1	1	1				3	12
バングラデシュ	2								
タイ	2	5	7	8	10	10	8	10	5
ベトナム	2					2	2	8	7
カンボジア	2	1	1	1	2	1	1		
フィリピン	1	3	3	3	1		1	4	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	2
トルコ			1	3	2	1			
インド			2	1			3	4	2
モンゴル			1	2		2			
フランス				1				3	2
ミャンマー						1			
シンガポール							1		3
台湾							1	4	4
パキスタン							1		1
アメリカ								3	6
南アフリカ								2	
英国								2	10
カナダ								1	2
スイス								30	19
メキシコ								1	1
韓国								2	6
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	
イタリア									3
ザンビア									1
ドイツ									2
ニューカレドニア									1
ベルギー									2
マルタ共和国									2
合計	27	26	32	25	18	22	31	94	109

１５．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BSL3と4の実験室（指定実験室）の一元的な管理・運営を担っている。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。BSL3実験室の使用についての事務、登録者名簿作成、日誌の管理等のBSL3実験室の運営を行った。BSL2実験室は各部長の指揮監督のもとに管理運営が行われているが、BSL2実験室安全キャビネット定期点検プログラム等の立案や病原体等の取扱い者の健康管理や血清保存等の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り、分与先の管理体制、施設設備の用意などをより確実に把握するために平成16年度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。平成17年には病原体等分与依頼書を病原体等分与申請書に変更する等、取扱要領の見直しを行った。また、BSL分類表へ新たに病原体を追加するとともにウイルスの表記を全面的に改訂しクラミジア・リケッチアについては別項目とした。

病原体取り扱い者へ感染のリスク、優良な微生物取り扱い技術、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り扱う者に対しては２ヶ月毎に、また、今年度は継続者に対して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、緊急時対応訓練等のバイオセーフティ教育・訓練を実施し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、戸山庁舎指定実験室、村山庁舎6号棟のBSL3実験室の年次点検を実施した。村山庁舎3号棟のBSL3実験室は16年度末までに完成し調整運転を行った。

研究業務としては、バイオセーフティの強化とバイオセキュリティシステムの構築に関する研究、安全キャビネットの給排気量の自動維持機構の検証、バイオハザード対策用の防護服の防護性能に関する研究、各種消毒剤によるインフルエンザウイルス、アデノウイルスの不活化に関する研究、ノロウイルス代用としてネコカリシウイルスを用いた酵素系薬剤等による除染に関する研究、炭疽菌混入粉体を想定した取扱実習プログラムの検討および病原体輸送についての検討等を行った。

第48回米国バイオセーフティ学会総会に出席し、防護服素材の液体等の浸透防護性能および炭疽菌芽胞からのゲノム抽出法に関す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、各国共通の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、病原体等取り扱い申請方法、バイオセーフティ講習会の年間予定、バイオセーフティ講習会のプログラム案内、病原体等安全管理規程、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。緊急時対応マニュアル、各種申請書類の掲載を行った。

業　績

調査・研究

Ⅰ．バイオセーフティに関する研究

１．バイオセーフティの強化とバイオセキュリティシステムの構築に関する研究

バイオセーフティ・バイオセキュリティのネットワーク構築のため地方衛生研究所の役割が重要なので、バイオセーフティ・バイオセキュリティ体制（規則、教育・訓練）、病原体保有等に関するアンケート調査を実施し現状を明らかとした。病原体の保存管理に関して、既存のシステム、新規システムの可能性および病原体の盗難防止のため個人認証システム等のセキュリティシステムについて検討した。バイオセキュリティの基本的考え方について、先進国である米国等の状況について情報収集

を行い、国内規定を作成する際に考慮すべき点を検討した。バイオセーフティ強化のための病原体の輸送、消毒剤による病原体の消毒効果の評価法について検討した。（杉山和良、篠原克明、高木弘隆、富田康浩(バイオセーフティ)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス１)、重松美加(感染症情報)、倉田毅(所長)）

２．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の安定性検証に関して、実験室内の圧力変動や並列接続された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）

３．バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する調査

バイオハザード対策専用防護服の防護性能試験方法について、国内外の規格や文献並びに海外を含めた関連学会、施設・設備などの調査を継続的に行っている。

（篠原克明、渡邉道彦、小野澤哲夫、高木弘隆、杉山和良）

４．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人工血液浸透防護性能を検証するための装置の改良を行った。その装置を用いて防護服素材の縫合部の人工血液浸透防護性能検証し、縫合方法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、熊谷慎介、戸谷千夏）

５．ノロウイルスの代替としてのネコカリシウイルス(FCV)を用いた不活性化の研究

昨年より引き続き、ノロウイルス感染制御手段探査の一環として、FCV を用いた化学的不活性化方法について検討を行った。今回特に汚染衣類からの効率的な除染方法を想定し、酸素系薬剤及び一部のアルカリ剤について検証方法確立及びその効果をみた。酸素系薬剤として代表的な過酸化水素を用いた場合、反応停止にはカタラーゼの存在が必須であることが確認され、必要量と酵素活性を保持できる保存方法を確立した。その結果終濃度1.5%で 40 分以上作用させることで、少なくとも FCV6 株に対して 4log10 TCID50 の減少が可能であった。こうした洗剤に浸漬させることで、特に色物衣類からのノロウイルス除染の可能性が示唆された。またアルカリ剤についてはFCV-F9株を用いて感染価減少time-courseを見たところ、1 分以内で 6log10 TCID50 の減少が可能であることが認められ、現在他の臨床株を用いてさらに検討を進めている。(高木 弘隆、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、日置祐一、吉松明(花王株式会社))

※なお本研究の一部は花王株式会社との共同研究によるものである。

６．界面活性剤によるインフルエンザウイルスの不活性化効果の研究

今回環境に対しても毒性等の影響の少ないノニオン系界面活性剤数種について不活性化効果の検討を行った。エーテル系及びショ糖エステル系のうちより、数種類を選定し、2 分間作用させ、界面活性剤除去担体により反応を停止し、感染力価減少を MDCK 細胞による end-point 法により確認を行った。その結果A/H1型及びB型に対し、Tween20 では有効性は認められなかったが、ポリオキシエチレン及びアルキルグリコシドといった低刺激性タイプの界面活性剤で 0.05%以下でも 5log10 TCID50 の力価減少が認められた。これらは環境負荷も非常に少ないため、今後これらをベースにその誘導体等についてさらに検討を進める。(高木弘隆、篠原克明、富田康浩、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、西藤岳彦(動衛研)、二宮愛、今井正樹、小田切孝人(ウイルス第三部))

７．アデノウイルス 3 型臨床分離株間での塩素感受性に関する研究

プール熱の原因ウイルスとして代表格であるアデノウイルス 3 型については塩素に対し高い感受性を示すと言われている。そこで実験株である GB3 と広島県保健衛生センターから分与された臨床分離株のうち 30 株について 2 分間作用での塩素感受性差について検討を行うとともに、一部のものについては低刺激性洗剤のうち固形石鹸及びラウリン酸カリウムについての感受性も確認した。その結果塩素に対する感受性は様々で多くの株は有効塩素 200ppm で 4log10 TCID50 の感染価減少が認められた(A549 細胞使用)。これは現在言われている「水道水レベルの有効塩素(1ppm 以下)で有効」と大きく乖離しており、今後の感染制御対策において再検証の必要が示唆された。また洗剤についてはラウリン酸カリウムで有効性が認められており、接触感染が主体と考えられている本ウイルスの感染制御に対し、特に液体石鹸での手洗いやお尻洗いが有効である可能性が示唆された。(高木弘隆、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、重松美加、谷口清洲(感染症情報センター)、高尾信一、福田伸治、島津幸枝、桑山勝、宮崎佳都夫(広島県保健環境センター))

８．*B.thuringiensis* 芽胞による炭疽菌混入粉体取扱実習プログラム構築に関する研究

バイオテロ発生時での第一線対応となる当該都道府県の保健所･衛生研究所では対処･取扱方法を立案するも、リスク評価や安全性確保に対する考え方は各施設で様々であった。また炭疽菌取扱に関する実習プランも切望されたが、本菌は BSL3 に分類され実現には至らなかった。

約 2 年に及ぶ調査により、分類的に近縁である *B. thuringiensis*(BSL1)芽胞の物理的性状が炭疽菌と酷似しており、P2 実験室でも容易に取扱えるため、芽胞混入粉体の調製および取扱を検討し、実習プログラム構築のため山口・北海道の地方衛生研究所に協力を仰ぎ、実習プロトコールのモニタリングを行った。その結果タルクを基材として取扱はグローブバックで行い、その環境の除電を徹底することによりサンプル暴露への危険性低減が示唆された。またパッキングされたサンプル回収も開封方法や滅菌水による迅速な懸濁化・回収により作業環境や作業者手指の汚染抑制が可能であることが示唆された。そして炭疽菌迅速検査の決め手となる病原遺伝子 pX01 及び pX02 の検出は市販・公表されている primer セットで検出できないケースもあり、遺伝子抽出のプロトコールも含めて再検討するのが望ましい。(高木弘隆、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、伊藤健一郎、重松美加(感染症情報センター)、岡本玲子、西田知子、戸田昌一、冨田正章(山口環保研)、伊木繁雄、森本洋、池田徹也、清水俊一、山口敬治、岡野素彦(道立衛研))

９．病原体輸送についての検討

感染性物質の輸送に関する国際規則において日本では法律こそあれ、実際には十分に行われているとは言えない。一方で海外ではこの規則を守らないこと自体がテロ行為ととられてもおかしくないのが現状である。

オーストラリアで行われている感染性物質の送り方に関する講義及び試験を現地で受けた。オーストラリアでは国内４カ所で定期的に講義を行っているが、シドニーだけでも 3,000 名以上が試験に合格しており、感染性物質を取り扱う上でこの資格を有することが当たり前と考えられていた。本講習後、国内の航空会社、危険物の航空輸送を教育する機関、輸送容器の輸入会社、感染性物質を海外に送る実績のある会社等の参加を得て、日本でどうすれば国際規則が浸透するかについて話し合う勉強会を開催した。今後はこの勉強会を定期的に開き、日本国内、国際間において正しく感染性物質の輸送を行えるように環境を整理していきたいと考えている。(富田康浩、杉山和良)

国際協力関係業務

JICA によるベトナムでのバイオセーフティ技術協力

JICA の依頼により、ベトナム国立健康・疫学研究所(NIHE)においてのバイオセーフティに関する技術協力の可能性についての調査を行った。移動式 BSL3 実験室の供与、バイオセーフティシステムの導入と BSL3 実験室の運転と保守等およびウイルス診断技術に関する技術協力（３年間）が 18 年 3 月から開始された。一方、同研究所への BSL3 実験室と BSL2 実験室を含むサポート実験室の無償協力に関する現地での基礎調査に参加した。すでに 2004 年 8 月に WHO 西太平洋地区事務所の依頼により、NIHE においてバイオセーフティ講習を行ってきている。

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、１７回開催した。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、バイオセーフティの考え方について講演した。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」および「病原体の輸送について」についてそれぞれ、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、病原体の適切な輸送方法について指導を行った。継続者講習を戸山庁舎、村山庁舎およびハンセン病研究センターにおいて実施し、安全管理規程の改正の説明等を行った。

1．バイオセーフティ講習会受講者数

（１）平成 17 年度　継続・新規・臨時講習会

実施年月日	継続	新規	臨時
平成 17 年　4 月　11 日		65	
5 月　10 日	197		
5 月　11 日	171		
5 月　13 日	23		
5 月　17 日	163		
6 月　1 日			19
6 月　6 日		45	
8 月　9 日		21	
10 月　5 日		18	
12 月　6 日		21	
平成 18 年　2 月　6 日		37	
計	554	207	19

（2）平成17年度　外国人対象講習会

実施日	受講者数
平成17年　4月　13日	3
5月　9日	1
5月　13日	3
5月　31日	2
7月　28日	3
9月　14日	1
9月　26日	3
10月　3日	4
10月　6日	2
10月　18日	1
11月　7日	2
11月　15日	1
11月　28日	1
平成18年　2月　7日	1
2月　21日	3
3月　3日	3
3月　13日	2
計	36

Ⅱ．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杉山、高木弘隆研究官、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。筑波支所の(独)基盤研究所への組織の移行に伴い16年度を持って指定実験室の管理･運営を終了した｡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17年度　指定実験室(BSL3)登録者数

庁舎名	登録者数
戸山庁舎	113
村山庁舎	46
計	159

2．　平成17年度　利用者講習会月別受講者数

庁舎名 / 実施月	戸　山		村　山	
	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数
4月	1	6	1	1
5月	1	3	4	13
6月	1	4	1	3
7月	1	3	0	0
8月	1	1	1	2
9月	1	1	0	0
10月	0	0	0	0
11月	0	0	1	2
12月	3	7	1	3
1月	0	0	0	0
2月	1	2	1	4
3月	2	2	2	6
計	12	29	12	34

Ⅲ．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、行政機関（地方衛生研究所中国四国ブロック研修会等）、大学、独立行政法人、民間機関その他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。中国四国ブロック研修会では１日コースの実習を試みた。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;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）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、BSL3の管理運営法、病原体の消毒方法およびバイオセーフティ委員会等についての問い合わせが引き続き多数寄せられ、これらの問い合わせについて資料提供並びに情報提供を行った。また、外国人を含む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。

病原体等の取り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、2005年11月に行われた総会・学術集会および

バイオセキュリティや病原体輸送についてのシンポジウム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

なし

2．和文発表

１）倉田毅、杉山和良、安藤秀二、重松美加、篠原克明、高木弘隆、富田康浩： 感染性物質の輸送規則に関するガイダンス WHO 2005年 (翻訳) 国立感染症研究所

２）杉山和良：バイオハザード対策用クラスII キャビネットキャビネットの使い方 空気清浄 Vol.43, No.2, 51-58, 2005

３）杉山和良：バイオセーフティのあり方 汚染時の対応 臨床と微生物 Vol.32, 増刊号, 575-579, 2005

４）杉山和良：B ウイルス感染症 獣医感染症カラーアトラス, 文永堂出版 325-326, 2006

５）金泰圭、周金枚、篠原克明、栃原裕：バイオハザード防護服着用時の生理・心理反応及び作業能。
日本生理人類学会誌 10(2) 第54回大会要旨集: 98-99, 2005

６）周金枚、金泰圭、篠原克明、栃原裕：バイオハザード防護阮着用時の生理・心理反応に及ぼす室温の影響
日本生理人類学会誌 10(2) 第 54 回大会要旨集: 100-101, 2005

Ⅱ. 学 会 発 表

1．国際学会

1) Shinohara, K., Tomita, Y., Takagi, H., Sugiyama, K., Watanabe, M., Kozuka, M., Onozawa, T., Matsuda, N., Fujimura, S., Yamaoka, K. Clothing for protection against hazardous biological agents. European Biological Safety Association, 8th Annual Conference, April 28-29, 2005, Barcelona, Spain.

2) Shinohara, K., Tomita, Y., Takagi, H., Sugiyama, K., Myojo, T., Watanabe, M., Kozuka, M., Onozawa, T., Matsuda, N., Fujimura, S. Protective performance of the clothing for protection against hazardous biological agents. 3rd International Conference on Human-Environment System, September 12-15, 2005, Tokyo, Japan.

3) Shinohara, K., Watanabe, M., Kozuka, M., Onozawa, T., Sugiyama, K. Protective performance to liquid and particle penetration in protective clothing materials. American Biological Safety Association, 48th Annual Biological Safety Conference, October 23-26, 2005, Vancouver, Canada.

4) Takagi, H., Sugiyama, K., Tomita, Y., Shinohara, K. And Ando, S. Safe method for genome isolation of *B. Anthracis* spores using decontamination by chemical disinfectants. American Biological Safety Association, 48th Annual Biological Safety Conference, October 23-26, 2005, Vancouver, Canada.

5) H.takagi, M. Shigematsu, K. Taniguchi, Y. Tomita, K. Shinohara, K. Sugiyama Efficacy of Common detergents in SARS Coronavirus and lnfluenza Virus Disinfection. 12th International Congress on Infectious Diseases, June 2006, Lisbon.

2．国内学会

１）篠原克明、関口勝美、高木弘隆、富田康浩、杉山和良：生物学用安全キャビネットの流入開口部風速の経時変化。第 23 回空気清浄とコンタミネーションコントロール大会、2005 年 4 月、東京。

２）篠原克明、松浦 剛、後藤 浩、小暮一俊、小野恵一：設置現場における生物学用安全キャビネット流入風速の評価。第 23 回空気清浄とコンタミネーションコントロール大会、2005 年 4 月、東京。

３）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 23 回空気清浄とコンタミネーションコントロール大会、2005 年 4 月、東京。

４）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討。日本防菌防黴学会 第 32 回年次大会、2005 年 5 月、大阪。

５）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。

６）高木弘隆、富田康浩、篠原克明、杉山和良：Norovirus の代用としての Feline calicivirus 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。

７）明星敏彦、篠原克明、渡邉道彦、小野澤哲夫、藤村彰治、狐塚正夫：生物粒子並びに代替粒子を用いた布地などのろ過捕集効率試験法。第 22 回エアロゾル科学・技術研究討論会、2005 年 7 月、堺。

８）金泰圭、周金枚、篠原克明、栃原裕：バイオハザード防護服着用時の生理・心理反応及び作業能。第 54 回

日本生理人類学会、2005 年 10 月 29-30 日、仙台。
９）周金枚、金泰圭、篠原克明、栃原裕：バイオハザード防護服着用時の生理・心理反応に及ぼす室温の影響。第 54 回 日本生理人類学会、2005 年 10 月 29-30 日、仙台。
10)篠原克明、熊谷慎介、戸谷千夏、狐塚正夫、藤村彰冶、渡邉道彦：バイオハザード対策用防護服の各種実験成果について。第 3 回　日本防護服研究会学術総会、2006 年 2 月、東京。
11）濱野正敬、林昌宏、高木弘隆、澤辺京子、桑山勝、岸　昇、高崎智彦、倉根一郎：広島県内の野生イノシシにおける日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況。第 141 回　日本獣医学会学術集会、2006 年 3 月。
12）高木弘隆、高尾信一、福田伸治、島津幸枝、桑山勝、宮崎佳都夫、重松美加、谷口清洲、杉山和良：Human Adenovirus type3 分離株における塩素感受性についての検討。第 80 回日本感染症学会・学術講演会、2006 年 4 月、東京。
13）高木弘隆、西藤岳彦、小田切孝人、二宮愛、今井正樹、篠原克明、杉山和良：Influenza virus 株間における nonion 系界面活性剤の感受性について。日本防菌防黴学会　第 33 回年次大会、2006 年 5 月、東京。

16. 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。法改正は6月に実施されたが、所長通達により感染研では従来通り管理区域でしかRIを使用できないことになった。講習会は下表の通り新規(６回)、外国語(６回)及び継続（４回）に分けてそれぞれ実施された。受講者は新規日本語８５名、外国語１０名、継続３６６名であった。新規受講者に対する試験は全員合格した。継続者について、今年度は法改正の要約と感染研の対応について土田が、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、村山庁舎の主任者は、ウイルス第二部の武田室長にお願いした。戸山研究庁舎放射線取扱主任者として前川、土田、藤本、江崎が登録された。村山庁舎管理室業務補佐として引き続き菅原氏が在籍した。信大の及川氏、日大の中島氏が引き続き在籍した。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

（独法健康栄養研も含む）

（単位　kBq）

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	620000	900950	662730
^{14}C	128648	38850	27774
^{32}P	1330150	2275500	2525048
^{33}P	0	0	0
^{35}S	452500	610500	593100
^{51}Cr	18500	0	0
^{125}I	155400	0	74000

保管量下限数量比合計 10908.79962

２．村山庁舎

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	77788	592000	381066
^{14}C	4066.9	1850	4220
^{32}P	45510	518000	526485
^{33}P	9250	0	9250
^{35}S	92500	1053100	977260
^{51}Cr	0	0	0
^{125}I	0	0	0

（単位　kBq）

保管量下限数量比合計 372.391812

Ⅱ．従事者登録数

１．戸山庁舎　　364名

(独法健康栄養研分も含む)

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17年 4月 8日	31	新規
5月10日	}	継続
5月11日	275	継続
5月17日	71	継続（村山）
6月 1日	13	継続
6月 3日	24	新規（継続4含）
8月 8日	15	新規（継続1含）
10月 4日	4	新規（継続1含）
12月 5日	6	新規（継続1含）
平成18年 2月 3日	12	新規
合計	451	

２．外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成17年 4月18日	1	新規
7月27日	2	新規
9月27日	1	新規
11月29日	1	新規
平成18年 2月 7日	2	新規
2月20日	3	新規
合計	10	

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。

モデルとした非LTR型レトロトランスポゾンR2Bmを再度バキュロウイルスへ組み込む操作により組換ウイルスを作成中である。

［藤本、松浦（阪大微研）、武田（ウイルス第二部）、土田、高田、前川］

（２）転移因子マリナー様配列の水平伝播についての考察。日本産クワコとカイコの祖先である中国のクワコの起源について中国、韓国、日本で採集したクワコのマリナー様配列の比較により解析をすすめている。

［中島（琉球大）、伴野（九大）、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。熱処理条件を変えて比較することにより、この方法が切断に至らない損傷も検出できる可能性が示された。シミュレーション計算との比較からもこの現象を説明できると考えている。［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．熱による物理的切断のPCR法による検出

放射線による切断をリアルタイムPCR法で検出できることを示したが、切断が確かに検出されているかを他の切断法を使って検証した。95℃と60℃の温度差を繰り返し起こすことにより閉環状型のプラスミドpBR322に切断が生じることが電気泳動で確かめられた。この処理溶液をリアルタイムPCR法で解析することによりDNAの切断をPCR法で検出できることが確認された。

［及川（信大）、藤本、土田、高田、斎藤（原研東海）、渡辺（原研東海）、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。それを利用して、X線構造解析によりデータが利用できるKuヘテロダイマーと二本鎖オリゴヌクレオチドの複合体について、ヘテロダイマーの親和性についてシミュレーション計算を行っている。

［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し、他の系統（n02、P22、P20、w16、N4）に対して同様のことをコバルト60線源を使って行った。これらのデータをシグモイド曲線としてプロットすると翅の長さが50%になる点が変曲点となることから、その値をWing Less Dose 50 (WLD50)として放射線感受性抵抗性の指標として利用することにより新たな形質として系統間で比較が出来ることを提唱した。

［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CBP cDNA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。＋^{Y}のCBP遺伝子の第2エクソンにレトロトランスポゾンCATSが挿入されていることが明らかとなり、ｍＲＮＡの大きさの差はこの挿入によるエクソンの欠失と考えている。

［中島（日大）、作道（東大）、藤本、前川、伴野（九大）、藤井（九大）、高田、片岡（東大）、土田］

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。得られたクローンはCBPのアイソフォームと考えられた。ゲノムの構造解析からCBPの3’側は、BmStart1遺伝子の3’側と同じであり、alternative splicing により5’側の切り替えが起こり2種類のタンパク質を合成していると考えている。突然変異体を使ってそれらの発現解析を行っている。

［作道（東大）、中島（日大）、藤本、前川、高田、片岡（東大）、土田］

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. 日常管理業務

1. 通常の日常管理業務を行った。
2. 例年通り管理状況報告書を文部科学省に6月に提出した。このとき、2月に文科省より管理区域、非管理区域において放射性同位元素等が無いかの点検指示のもと行った点検結果もあわせ報告した。この一斉点検においては特に問題はなかった。ご協力いただいた関係者にお礼申し上げる。
来年度は戸山、村山とも定期検査に加えて法律改正後はじめての定期確認が行われる予定である。

Ⅲ. その他

法改正および部署名変更に伴い戸山研究庁舎、村山庁舎およびハンセン病研究センターの放射線障害予防規程の改定を行った。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1) 欧文発表

1. N. Takada, E. Yamauchi, H. Fujimoto, Y. Banno, K. Tsuchida, K. Hashido, Y. Nakajima, Z. Tu, M. Takahashi, H. Fujii, H. Fugo and H. Maekawa (2006) A novel indicator for radiation sensitivity using the wing size reduction of *Bombyx mori* pupae caused by γ-ray irradiation. J. Insect Biotech. Sericol. (in press、2006)

Ⅱ. 学 会 発 表

1) 国際学会

1. H. Fujimoto, M.Pinak, T. Nemoto, P.O’Neill, E. Kume, K. Saito and H.Maekawa Molecular dynamics simulation of clustered DNA damage sites containing 8-oxoguanine and abasic site. The 34th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology (ESRB) September, 2005, Leicester, England.
2. T.Sakudo, H.Kataoka, H.Fujimoto, H.Maekawa, Y.Banno, H.Fujii, T.Shimada and K.Tsuchida: Molecular analysis of *Bombyx mori* mutants in defect carotenoids transport. The 14th International Symposium on Carotenoid, July, 2005, Edinburgh, England.
3. M.Oikawa, H.Fujimoto, Z.L.Tu, K.Saito, R.Watanabe, E. Yamauchi, K.Tsuchida, M.Nakagaki, N.Takada, T.Shimada, H.Maekawa : Detection of DNA strand breaks using real-time PCR amplification for irradiated plasmid pBR322 and application for the genomic DNA analysis. Joint meeting in Radiation Biology for the Netherlands Radiobiological Society, the Association for Radiation Research in UK and Swedish Radiobiology Society, April 2006, Marstrand Sweden.

2) 国内学会

1.　川西祐一、高石礼子、中村隆、伴野豊、藤本浩文、土田耕三、前川秀彰、中島裕美子：韓国および日本に生息するクワコにおける Cecropia-ITR-MLE の解析。第 75 回日本蚕糸学会　東京 4 月、2005 年

２．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：放射線照射ゲノム DNA のリボソーマル DNA クラスターにおける損傷の検出。　第 75 回日本蚕糸学会　　東京 4 月、2005 年

３．作道隆、藤本浩文、土田耕三、伴野豊、藤井博、前川秀彰、片岡宏誌：黄血(Y)と白血(+Y)対立遺伝子のゲノム配列。第 75 回日本蚕糸学会　東京 4 月、2005 年

４．作道隆、土田耕三、前川秀彰、片岡宏誌　４回膜貫通構造を有する carotenoid-binding protein アイソフォームの同定第 75 回日本蚕糸学会　東京 4 月、2005 年

５．森林敦子、斉藤典子、土田耕三、栗原毅、津田良夫チカイエカ幼虫･蛹･成虫に見られる緑青着色物質について　第 57 回日本衛生動物学会、釧路、2005 年４月

６．高田直子、伴野豊、藤本浩文、土田耕三、山内恵美子、西川和弘、西坂章文、田村圭、藤井博、前川秀彰：カイコ蛹翅長を指標にした放射性感受性･抵抗性系統の探索　　第 75 回日本蚕糸学会　東京 4 月、2005 年

７．作道 隆、藤本浩文、土田耕三、片岡宏誌： カイコカロチノイド結合タンパク質 (CBP) の機能と遺伝子構造 第 19 回カロチノイド研究談話会 東京、2005 年 9 月

８．及川美代子、屠振力、藤本浩文、斎藤公明、山内美恵子、渡辺立子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子、前川秀彰：リアルタイム PCR 法を用いた放射線照射プラスミドの切断検出とその構造解析。第 48 回日本放射線影響学会　広島、11 月 2005 年

９．藤本浩文、M. Pinak、J.K. Bunta、根本俊行、土田耕三、前川秀彰：酸化損傷をうけた DNA 分子における塩基ミスペアリングの構造解析。第 28 回日本分子生物学会　福岡、12 月 2005 年

１０．及川美代子、屠振力、藤本浩文、斎藤公明、山内恵美子、渡辺立子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子、前川秀彰：放射線照射プラスミドの切断検出とその構造解析。第 28 回日本分子生物学会　福岡、12 月 2005 年

１１．川西祐一、高石礼子、伴野豊、藤本浩文、土田耕三、前川秀彰、中島裕美子：日本，韓国，中国に生息するクワコ集団間におけるマリナー様配列，およびマリナーに挿入された配列の比較からの考察。第 28 回日本分子生物学会　福岡、12 月 2005 年

１２．高田直子、山内恵美子、伴野豊、藤本浩文、土田耕三、藤井博、前川秀彰：系統間での放射線感受性・抵抗性指標としての蛹翅長の利用。第 76 回日本蚕糸学会　京都 3 月 2006 年

１３．中島健陽、作道隆、藤本浩文、伴野豊、藤井博、高田直子、岩野秀俊、前川秀彰、片岡宏誌、土田耕三：黄血（J^{y}）から、対立遺伝子白血（$+^{Jy}$）が生じた分子進化メカニズム。第 76 回日本蚕糸学会　京都 3 月 2006 年

１４．川西祐一、高石礼子、伴野豊、藤本浩文、前川秀彰、中島裕美子：日本、韓国、中国に生息するクワコにおける Cecropia-ITR-MLE の多様性とその地理的分布の解析、および MLE への挿入配列比較からの考察。第 76 回日本蚕糸学会　京都 3 月 2006 年

１７．動 物 管 理 室

室 長　山 田 靖 子

概　要

平成 17 年度は実験動物に関連する法律が大きく変わった。まず、動物福祉に関する法律である「動物の愛護及び管理に関する法律」（動愛法）が平成 17 年 6 月 22 日に改正された。実験動物に関して、これまでも記述されていた苦痛の軽減（refinement）に加えて、代替法の活用(replacement)及び使用動物数の削減(reduction)という動物愛護の３原則(３R)が法律に明文化された。施行は１年以内とされ、その間に関連する基準、指針等の見直し、策定作業が進められている。平成 17 年 6 月 1 日より、日本固有の動植物を保護する観点から、特定外来生物を飼養する施設は環境省へ届出が必要となり、カニクイザルが該当するため村山庁舎は届出を行った。また、輸入動物による感染症の移入を予防する観点から、平成 17 年 7 月 1 日より輸入サルの飼養施設は厚生労働省へ届出が義務となり、さらに平成 17 年 9 月 1 日よりすべての動物の輸入に際して厚生労働省または農林水産省への届出が義務付けられ、実験動物もその範疇となった。さらに、危険な動物の飼養を規制するため、動愛法の下で特定動物飼養施設は自治体から許可を得ることとなる（平成 18 年 6 月 1 日より施行）。

感染研の動物実験施設は、使用開始から 13 年を経て、機器等の補修の時期を迎えている。戸山庁舎の動物実験施設では空調機のオーバーホールのため、一部区域で 2 日間空調が停止し、その間の飼育装置等の対応を行った。村山庁舎では空調リヒーターの修理を行った。今後も機器等を含めて補修が必要となる事態が予想され、事前に対応策を立てておくことが必要と思われる。また、戸山庁舎の一部区域は動物の清浄度を優先させるため陽圧飼育装置を使用しているが、これを従事者の作業環境を優先させる陰圧飼育装置に移行する試みを行っている。

人事では平成 17 年 10 月に松野久美子研究員が辞職し、平成 18 年 3 月に星谷　武研究員が定年退官を迎えた。

動物管理室では、動物実験施設の微生物検査及びコントロールを業務としている。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、国内で流行のあったリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスの実践的検査の一端を担った。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治療モデルの研究を行った。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 17 年度も前年度と同様に、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 17 年度に申請された動物実験計画は 266 件であった。平成 17 年 7 月に動物愛護団体から情報公開法に基づいた霊長類に関わる動物実験計画書の開示請求が出された。動物実験計画書の開示については東北大学の事例で内閣府の答申が出されており、それに基づき主任研究官以上の氏名及び研究内容で開示が不適切である部分を除き開示を行った。研究者の協力により、不開示部分は非常に少なく、ほとんどの部分を開示することとなった。

動物管理区の利用状況

新規に動物実験を行う研究者を対象に、前述の動物福祉に関する動物実験委員会の講習会（全所対象）に加えて、戸山・村山各庁舎の動物実験施設利用方法の講習会を行っている。各施設の利用登録者数は平成 18 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 372 人、村山庁舎 218 人である。

実験動物施設利用者講習会および動物実験講習会　実績

		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 11 日	戸山	24	0	34
4 月 13 日	村山	0	20	0
6 月 6 日	戸山	13	0	15
7 月 28 日	*戸山（臨時）*	*1*	*0*	*1*
8 月 9 日	戸山	11	0	13
10 月 5 日	戸山	5	0	7
10 月 11 日	戸山	0	0	1
10 月 18 日	村山	0	3	0
10 月 24 日	戸山（臨時）	0	0	1
11 月 7 日	*戸山（臨時）*	*1*	*0*	*3*
12 月 6 日	戸山	9	0	12
1 月 5 日	戸山（臨時）	1	0	0
1 月 10 日	村山	0	2	0
2 月 6 日	戸山	8	0	13
3 月 7 日	村山	0	4	0
3 月 8 日	村山	0	2	0
合計		73	31	100

（斜字は外国人対照講習会）

業　績

I　動物実験施設の微生物モニタリング

I-1　定期検査

戸山、村山両庁舎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。平成 17 年度より検査項目に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加えた。結果は別表１に示す。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。

（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、大池正明、吉岡利夫、小川敏雄、山田靖子）

I-2 戸山庁舎動物管理区で発生した緑膿菌汚染について

定期微生物検査で１飼育室のモニターマウスから緑膿菌が検出された。緑膿菌は飲水を介して感染するので、同室で飼育されているマウスの給水ビンのノズル及びフタの裏側の拭き取り検査をしたところ、実験者 5 人分の 77 ケージ中 68 ケージの給水ビンから緑膿菌が検出された。マウスに 10ppm 次亜塩素酸ナトリウム添加水を 3 週間（週 2 回飲水交換）与えた後の再検査では、1 実験者が飼育している SCID マウスのケージでは 38 ケージ中 26 ケージが陽性のままであったが、その他の全ケージは陰性となった。また、常時次亜塩素酸ナトリウム添加水を与えているマウスから緑膿菌は検出されなかった。

（滝本一広，田原口元子）

II　実験動物の感染症に関する研究

II-1 実験動物施設で発生した LCMV 汚染検査における ELISA 法の実践的評価

国内某施設でマウスの SPF 化の過程で発覚した LCMV 汚染の検査を通じ、組換え LCM-NP を抗原として用いた ELISA と IFA、RT-PCR の結果を比較した。ELISA で陰性の血清が IFA で陽性の場合もあり、二次抗体等の検討を要することが示唆された。RT-PCR では、帝王切開によって得られた全産子が陽性であったが、抗 LCMV 抗体が検出されたのは産子 22 匹中 7 匹のみであった。この産子は垂直感染により免疫寛容状態にあり、このようなマウスの場合には抗体検査と RT-PCR を合わせて行う必要性が示された。

［滝本一広，山田靖子，森川　茂 [1)]，池　郁生 [2)]（[1)] ウイルス 1 部，[2)] 理研 BRC）］

II-2　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+/+ マウスに、マウス肝炎ウイルス（MHV）を感染させた結果、WBB6F1-W/W^{V} マウスは WBB6F1-+/+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。そこで、WBB6F1-W/W^{V} マウスに WBB6F1-+/+マウスから得た骨髄培養マスト細胞（BMMCs：Bone marrow-derived mast cells）を摂取してマスト細胞欠損を修復したマウスで同様の実験を行い、マスト細胞の有無による差を比較した。その結果、修復した WBB6F1-W/W^{V} マウスと未修復 WBB6F1-W/W^{V} マウスに生存率の差は、認められなかった。

（田原口元子、山田靖子）

III　モデル動物の開発

III-1 麻疹ウイルス感染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目的で、感染自己単核細胞を視床に接種したカニクイザル２頭について、脳内における麻疹ウイルスの持続感染について検討を行っている。うち１頭においては、感染後約１６０週においても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、脳脊髄液中の IgG index に変化は認められないものの、IgG 量は、増加傾向を示した。
（網　康至、須崎百合子）

III-2 低分子化合物 NOEV の GM1 ガングリオシドーシス治療効果について

培養細胞系で酵素復元効果が認められている NOEV（1mM）を飲水に混ぜて BK48 マウスに 8 週間投与し、GM1 およびアシアロ GM1 の蓄積量の変化について生化学的に調べた。投与群の GM1 は非投与群に比べ、大脳で 56%、小脳で 55%、脳幹で 68%に減少した。投与群のアシアロ GM1 は非投与群に比べ、大脳で 52%、小脳で 46%に減少したが、脳幹では差が認められなかった。肝臓では、両群ともに GM1 は検出されず、アシアロ GM1 は含有量に差はなかった。腎臓では、両群ともに GM1 は検出されず、アシアロ GM1 は投与群の方が増加する傾向が認められた。
［滝本一広, 鈴木義之 [1]（[1] 国際医療福祉大学大学院)］

IV 重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究

IV-1 フェッレット ACE2 における SARS-CoV の増殖

SARS-CoV の実験的感染によって、フェッレトは致死的である。また、SARS-CoV のレセプターであるフェレットの ACE2 について配列を調べたところ、マウスにくらべヒトと似ている。このため、さらにフェレット ACE2 の機能を調べるためにウイルスを感染させ、その増殖をみた。フェレット、マウス、ヒトの ACE2 全長を pTarget に組み込み、発現細胞クローンを作成して SARS-CoV frankfrt-1 を感染させたところ、フェレット ACE2 がマウスより高く、また、ヒトと同等の感受性を有していることが示唆された。
[座本綾、山田靖子、福祉秀悦 [1]、森川茂 [1]（[1] ウイルス１部）]

発 表 業 績 一 覧

I　誌上発表

I-1　欧文発表

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

2) Takeuchi K, Takeda M, Miyajima N, Ami Y, Nagata N, Suzaki Y, Shahnewaz J, Kadota S, Nagata K (2005): Stringent requirement for the C protein of wild-type measles virus for growth both in vitro and in macaques. J Virol. 79:7838-7844.

I-2　和文発表

1) 山田靖子(2005): 動物感染実験施設について。アニテックス (17) No.6, 208-211.

2) 社団法人日本実験動物協会　編（山田靖子分担執筆）（2005）：実験動物の微生物モニタリングマニュアル。アドスリー

Ⅱ　学会発表

II-1　国際学会

1) Zamoto A, Taguchi F, Fukushi S, Morikawa S and Yamada Y K. Identification of ferret ACE2 and its receptor function for SARS-coronavirus. Xth International Nidovirus Symposium. Colorado. September 2005, Colorado, U.S.A.

II -2　国内学会

1) 滝本一広・田原口元子・森川　茂・山田靖子：小型齧歯類実験動物のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスに対する感受性と ELISA 法による抗体検出。第 52 回日本実験動物学会総会、平成 17 年 5 月、東京。

2) 山田靖子：動物感染実験におけるバイオセーフティー。日本実験動物技術者協会九州支部第 28 回総会、平成 17 年 4 月、佐賀市。

3) 山田靖子：感染実験を含む動物実験施設のありかた。第 52 回日本実験動物学会、平成 17 年 5 月、東京。

（別表１）

定期的微生物モニタリング成績

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	0/269	0/2	0/10	0/192	0/74	0/96
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/269	0/2	0/10	0/192	0/74	0/96
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	1/269	0/2	0/10	22/192	0/74	0/96
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	25/269	0/11	29/55	31/192	0/74	68/96
腸粘膜肥厚菌	Citrobacter rodentium	培養	0/269			0/192		
肺パスツレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/269			0/192		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/269			0/192		
肺マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養･血清反応	0/269			0/192		
ウサギパスツレラ	Pasteurella multocida	培養		0/11			0/74	0/96
気管支敗血症菌	Bordetella bronchiseptica	培養		0/11	0/55		0/74	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	0/269	0/2	0/10	0/192	0/74	0/96
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus(MHV)	血清反応	0/269			0/192		
エクトロメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/98			0/192		
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス	Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)	血清反応	0/98					
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/269					
スピロヌクレウス (ヘキサミタ)	Spironucleus muris (Hexamita muris)	鏡検	0/269					
ネズミ盲腸蟯虫	Syphacia spp.	鏡検	0/269					
ネズミ大腸蟯虫	Aspiculuris tetraptera	鏡検	0/269					
嚢尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検･肉眼所見	0/269					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/269					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/269					
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				

（空欄は検査を実施していない）

１８．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 Disease 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。

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：谷口清州室長）

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：木村幹男室長）

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。感染症情報の還元、提供は、感染症週報(IDWR)、病原微生物検出情報(IASR)､感染症発生動向調査事業年報、感染症情報センターホームページなどによって、主に同室の業務として行われている。

第三室　（予防接種室：多屋馨子室長）

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。また感染症研究所業務として行われている国内血清銀行の管理運営を行っている。

第四室　（病原診断室：稲田俊樹室長）

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。全国衛生微生物協議会の病原微生物レファレンスセンターのうち、アデノウイルスレファレンスセンターを担当している。

第五室 （細菌研修室：伊藤健一郎室長）

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：西尾　治室長）

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。国内・国外における感染症対策調査、対策案策定、種々の討議への参加、研修なども同様である。したがってそれぞれの業務研究等について各室別に表すのではなく、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、国における感染症対策検討の多くに参画している。その背景には、情報センターにおける業務・研究の結果があり、委員会等においてはこれらの結果に基づいた資料などを、多く提供している。

また同様に WHO の依頼による、専門委員等の委嘱もうけている。

- 厚生省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、新型インフルエンザ対策ワーキンググループ委員長）
- 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委員長）
- 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（ワーキンググループ委員長）
- 医薬品医療機器総合機構専門委員

業　績

調査・研究

Ⅰ．感染症発生動向調査事業に関する研究

１．サーベイランスシステムの改善に関する研究

厚生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い、後述のシステムの改善事業に対して技術的支援を行った。

［谷口清州、重松美加、安井良則、多田有希、山下和予、中瀬克己（岡山保健所）、岡部信彦］

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、4 類および 5 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、橋本修二（藤田保健衛生大学）、村上義孝（国立環境研究所）、永井正規（埼玉医科大学）、多田有希、安井良則］

３．症候群サーベイランスの基礎的研究

症候群サーベイランスの基礎的研究として、一般用医薬品、外来受診時の症状、救急車搬送、救急外来初療時の症状、自衛隊駐屯地等広範な対象でその可能性を検討した。特に外来受診時における症状のサーベイランスでは、地方都市を中心に数カ所の医療機関の協力を得て、地域的な感染症流行を探知するシステムを開発した。また、院内感染の早期探知システムとしての症候群サーベイランスの可能性を検討し、その実用化を試みた。得られた成果は国内における症候群サーベイランスへの活用に止まらず、国内外の学会で報告し、東南アジア諸国、あるいは中国へも紹介されている。また、韓国、台湾との技術的な相互交流を行った。

［大日康史・菅原民枝・重松美加・谷口清州・岡部信彦］

４．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

昨年度に、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たが、本年度も引き続き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に協力した。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った。

［森兼啓太、Teresa Horan（CDC）、Mary Andrus（CDC）、Jonathan Edwards（CDC）］

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．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)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、国内の実践的パンデミック対策計画を確立する礎とし、厚生労働省の新型インフルエンザ行動計画策定に対して全面的に協力した。

［谷口清州、森兼啓太、中島一敏、大日康史、田中政宏、安井良則］

２．バイオテロ防止におけるバイオセキュリティ管理、教育、訓練の方法論に関する研究

バイオテロにおいて利用される病原体保有施設に対する意図的破壊工作や盗難に限らず、意図的に病原体が持ち出されることを未然に防ぐバイオセキュリティは新しい領域である。対策の背景には、疾病の原因病原体の科学的なリスク評価、実効法制を含めた周辺環境を考慮した管理手法の導入、リスクコミュニケーションを含めた意識向上活動、研究活動への支障を最小限留める日常的活動の訓練などが必要であり、これらの効果的手法について各国の実態の情報収集と分析、翻訳、解説などによる情報の普及、バイオセキュリティにおける疫学情報の利用方法の提示、施設毎の自己診断ツール草案作成準備などを行った。

［重松美加、安藤秀二（ウイルス第一部）、杉山和良（バイオセイフティ管理室）］

３．バイオテロの数理モデルの開発

数理モデルを多くの感染症、特に新興感染症に関して応用し、そこでの公衆衛生対応について事前的に評価した。天然痘、SARS、狂犬病を対象としている。特に、東京大学生産技術研究所との共同研究を進め、スーパーコンピューターを用いての大規模なシミュレーションを行い、その成果を出しつつある。成果は、新型インフルエンザに関しては G7 や WHO での報告、議論、あるいは数理モデルにおける G7 諸国との国際協調に従事した。また、こうした研究業務を前提として、厚生労働省が進めている新型インフルエンザ行動計画において活用されている。

［大日康史・菅原民枝・谷口清州・岡部信彦］

Ⅲ．感染症の疫学、統計等に関する研究

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。中規模の流行であった 2003/04 シーズンは、推計患者数 923 万人、超過死亡 2,400 人と非常に少なかったのに対し、最近の 11 シーズンで最大の流行を経験した 2004/05 シーズンは患者数約 1,770 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は 2 月から 4 月にかけて見られ、15,100 人と非常に多かった。この結果は、病原微生物情報 vol.26,No.11, pp.293-295, 2005 で情報還元した。2005/06 シーズンは、5 月を越えて患者報告がみられ、夏に超過死亡が見られる可能性がある。

［大日康史、重松美加、谷口清州］

２．インフルエンザ関連死亡迅速把握に関する研究

15 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、各都市毎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、15 大都市・特別区衛生主幹部局］

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］

４．沖縄県における 2005 年夏期のインフルエンザ流行の疫学的特徴に関する研究

沖縄県では、従来、夏期のインフルエンザ流行はなかったが､2005 年は 3 月に発生のピークを迎えた後一度は収束したが、7 月（28 週）に再び小流行が認められた。今後のインフルエンザ対策の検討に資することを目的として、沖縄県福祉保健部健康増進課伊礼壬紀夫課長（当時）と共同で、沖縄県の夏期におけるインフルエンザ流行の疫学的特徴を分析した。

［中島一敏、安井良則］

５．高齢者に対するインフルエンザワクチンの接種半年から一年後の効果に関する血清疫学的研究

従来日本のインフルエンザワクチンは冬季の流行対策としてのみ実施されてきた｡2005 年の沖縄県における夏期の A 型インフルエンザの流行と近年の夏期にインフルエンザが流行する南半球の国々への渡航者の増加から、接種後半年～一年のワクチン効果の評価が重要と考えられた。そこで 1998 年度から 2003 年度の感染症流行予測調査事業結果を用い、高齢者における A 型インフルエンザに対するワクチン接種の半年から一年後の人口レベルでの効果について、血清疫学的に研究を行った。

［中島一敏、多屋馨子、佐藤弘、岡部信彦、感染症流行予測調査事業担当者グループ］

６．障害児施設内におけるインフルエンザの発生動向の調査研究について

乳幼児の集団生活施設における流行シーズンのインフルエンザ流行状況、インフルエンザ罹患後の経過、インフルエンザワクチンの接種状況等を明らかにすることを目的として、特に障害を合併している児の集団生活施設（第 1M 園：肢体不自由児通園施設、第 2M 園：知的障害児通園施設）に対して、ワクチン接種状況に関する調査を実施し、加えてインフルエンザの罹患・発生状況の調査を行った｡インフルエンザ発生の鋭敏な指標として、施設内において発熱者のサーベイランスを行うことは、できる限りインフルエンザの発生を抑制することが望ましい、このような障害児施設内でのインフルエンザの集団発生を防止するためにも有用であると思われる。

［安井良則、今村淳子（堺市立北こどもリハビリテーションセンターもず診療所)、岡部信彦、谷口清州］

７．インフルエンザ脳症の発生報告について

感染症発生動向調査に基づいた 2005/06 シーズンまでの過去 3 シーズンの国内におけるインフルエンザの発生動向とインフルエンザ脳症の発生報告について感染症発生動向調査による全国のインフルエンザ定点医療機関からのインフルエンザ患者発生報告結果と、地方衛生研究所及び検疫所からのインフルエンザウイルス分離報告結果､及び 2004 年 3 月から新たに 5 類全数把握疾患として急性脳炎の中での届出対象疾患となったインフルエンザ脳症の発生報告結果を、2003/04、2004/05、2005/06 の 3 シーズンに渡って集計・解析し、その関連性と現在のインフルエンザ脳症発生例の把握システムに関する課題について考察を行った。

［安井良則、多屋馨子、上野久美、岡部信彦、森島恒雄（岡山大学大学院小児医科学)］

８．沖縄県における日本脳炎ウイルス感染症の強化サーベイランスに関する研究

2005 年度、厚生労働省の勧告により、沖縄県は、日本脳炎ワクチンの積極的な接種を中止した。沖縄県はブタの抗日本脳炎抗体陽性率は例年ほぼ 100%となり日本脳炎ウイルス(JEV)の浸淫地域と考えられており、平成 3 年以降 4 名の症例が確定されている。しかし、いずれも商業衛生検査所の臨床検査では診断されず琉球大学で確定されており確定診断は容易でない。そのため、JEV 感染症の把握を目的とし、沖縄県福祉保健部健康増進課、沖縄県衛生環境研究所、琉球大学医学部病原生物学分野と共同で、沖縄県全県的な急性脳炎及び無菌性髄膜炎の

強化サーベイランスを実施した。
［中島一敏、上野久美、佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦］

９．エンテロウイルス重症感染症の疫学研究

重症エンテロウイルス感染症のリスク評価に関する疫学調査を実施した。重症例を超重症例と一般重症例に分類して検討すると、超重症例に保育園児が多いことが注目された。しかし今回の超重症例の定義に合致した症例のうち、多くの症例は入院期間によって分類されていることを考慮すると、保育園児をもつ家庭背景の影響を受けている可能性も考えられた。重症化に関わる因子としてウイルスの違いが重要であるが、原因ウイルスを確定している例は少なく、積極的なウイルス検査ができるよう体制を整える必要があると考えられた。
［鈴木葉子、多屋馨子、中島一敏、大山卓昭、大日康史、岡部信彦］

１０．性感染症（STD）発生動向調査の評価と解析

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業)「性感染症の効果的な蔓延防止に関する研究班（主任研究者　小野寺昭一)」の分担研究として、現行の STD 発生動向調査に関して、近年のわが国における STD の最近の動向を解析するとともに、定点の妥当性等を含め、その信頼性を調査研究した。
［小坂円、岡部信彦、多田有希］

１１．海外で感染した可能性のある症例報告およびリケッチア感染症例報告の検討

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感染症例の最近の動向、報告における問題点、推定される宿主要因の変化などと、ツツガムシ病および日本紅斑熱について、発生動向調査および研究班によるアンケート調査の情報を解析し、感染に関わる活動、都道府県における季節的傾向の変動などにつき描写疫学的検討を行い、国内外の学会、研究集会において報告した。
［重松美加、安藤秀二（ウイルス 1 部)、岸本寿男（ウイルス 1 部)、山下和予、岡部信彦］

１２．風疹と先天性風疹症候群の疫学に関する研究

発生動向調査から風疹と先天性風疹症候群の疫学的関連に関する研究を行った。風疹感受性者の年齢層上昇により、10 代から若年成人の風疹発生リスクが増加することで先天性風疹発生の懸念が高まっている事を示し、日本ワクチン学会や日本小児科学会等で発表した。
［中島一敏、多田有希、多屋馨子、田中政宏、安井良則、佐藤弘、上野久美、岡部信彦］

１３．水痘、ムンプス疫学に関する研究

(1)重症化例に関する疫学研究

2004 年 1 月～2005 年 12 月の 2 年間に、国内で水痘、帯状疱疹、ムンプスに関連して入院あるいは死亡、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。回収率 41.0%の中間集計で、2004 年は水痘、ムンプスにより計 3,290 名（水痘関連 1,655 名、ムンプス関連 1,616 名、不明 19 名；うち、水痘関連で 7 名死亡）の入院患者が報告された。2005 年については、回収率 31.4%の時点で、水痘関連 415 名、帯状疱疹関連 3,497 名（うち 4 名死亡）、ムンプス関連 632 名、計 4,544 名の入院患者が報告された。両疾患の対策には、まずワクチン接種率を上げることによって小児での流行を抑制する必要があり、そのためには、両ワクチンの定期予防接種化が望まれる。帯状疱疹については、水痘、ムンプスをはるかに超える入院数であり高齢化社会に向けて、益々その対策が求められる。
［多屋馨子、佐藤弘、上野久美、荒木和子、森兼啓太、吉川哲史（藤田保健衛生大学小児科）、中野貴司（国立病院機構三重病院)、庵原俊昭(国立病院機構三重病院)、堤　裕幸（札幌医科大学小児科）、浅野喜造（藤田保健衛生大学小児科)、神谷　齊（国立病院機構三重病院)、岡部信彦］

(2)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。また、水痘・おたふくかぜに対する KAP 調査を堺市保健所との共同で実施した。
［安井良則、柴田仙子（堺市保健所）、藤井史敏（堺市保健所）、越田理恵（金沢市）、近藤弘一（松山市）、上野久美、佐藤弘、中島一敏、大日康史、多屋馨子、岡部信彦］

１４．麻疹、風疹感受性人口に関する研究

2004 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 250 万人、風疹で約 1,200 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 400 万人、男性約 800 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。麻疹感受性人口は 2003 年度より減少したが、風疹感受性人口は減少が見られなかった。

［多屋馨子、佐藤弘、北本理恵、担当都道府県ならびに都道府県衛生研究所］

１５．わが国における日本脳炎の現状と日本脳炎ワクチンの必要性の評価に関する緊急研究

(1)感染症発生動向調査から見た急性脳炎に関する研究

2005 年感染症発生動向調査における、急性脳炎と無菌性髄膜炎に関して、特に 4 月から 11 月に病原体不明の脳炎、髄膜炎の届出がどのような疫学状況であるかを中心に解析した。全体で約 60～70%の病原体不明脳炎が届け出られており、無菌性髄膜炎に関しては夏に小児を中心に病原体不明の報告が増加していた。これらの症例の中に、日本脳炎の症例が紛れ込んでいる可能性は否定できず、公衆衛生上の対策に大きな影響を与える可能性もあり、より積極的な病原体検索とその必要性の更なる啓発、支援が重要であると結論付けられた。

［上野久美、多屋馨子、岡部信彦］

(2)ADEM 症例の研究

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 3,000 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。その結果、MS を除く、ADEM とその類縁疾患の発症頻度は 15 歳以下の人口 10 万人あたり年間 0.32 と推計された。発症 1 か月以内のワクチン接種は、インフルエンザ、日本脳炎、ポリオ、風疹の報告があったが、先行感染を伴うものも多かった。

［宮崎千明（福岡市立西部療育センター）、多屋馨子、岡部信彦］

１６．沖縄県における急性ウイルス性脳炎・無菌性髄膜炎強化サーベイランス

日本脳炎ウイルス感染症の積極的な把握を目的とし、感染症法に基づく国の感染症発生動向調査の強化、と位置づけ、沖縄県全県的な急性脳炎及び無菌性髄膜炎の強化サーベイランスを構築した。本研究で構築されたネットワークは日本脳炎ウイルス感染症の把握に非常に有益であり、さらにそれ以外の感染症に対する危機管理上も有益である。今後も、改善、強化しながら継続する必要があると考えられた。

［中島一敏、多屋馨子、佐藤　弘、上野久美、伊礼壬紀夫（沖縄県福祉保健部健康増進課）、田盛広三（沖縄県福祉保健部健康増進課）、大野　惇（沖縄県衛生環境研究所微生物室）、只野昌之（琉球大学医学部病原微生物分野）、岡部信彦］

１７．小児における急性脳炎、脳症の病態、診断、治療に関する研究

2003 年 11 月～2005 年 10 月の急性脳炎全数報告データを時、場所、人の要素に関して分析し、発生動向推移や症例の特徴等を検討した。337 例（男性 186 例、女性 151 例）の症例が報告されており、16 歳未満では、43%が病原体不明、37%がインフルエンザ関連であった。一方、16 歳以上では 73%が病原体不明という結果であった。1 例の報告もない自治体もあり、今後、更なる全数報告の啓発と、積極的な病原体検索の推進・支援が必要と考えられた。

［上野久美、多屋馨子、岡部信彦］

１８．2 類感染症の発生状況とリスクファクターに関する研究

国内で発生した 2 類感染症と推定原因食品の情報を収集し、リスクファクターを解析している。（1）感染症発生動向調査から、2005 年度に報告された腸チフス患者は 48 名(推定国内感染 7 名)、パラチフス 18 名(同 3 名)、コレラ 49 名(同 9 名)、赤痢患者 528 名(同 122 名)であった。2 割近くが国内で感染している。増減はあるが、2001 年から同様な傾向である。原因食品はほとんどが不明であった。（2）原因食品情報を各種報告、ホームページ等から収集した。原因食品として生食に供される生鮮食品や加工品が挙げられている。（3）パイロット試験として食材を検査した。主に給食用食材 316 件の食材を検査した。

［伊藤健一郎、飯田真里子、多田有希、山下和予、松野重夫、太田正樹、小林幹子、森山和郎、松崎充宏（日本海事検定協会食中毒チーム）、岡部信彦］

１９．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（東京医療保健大学）、倉辻忠俊（国立国際医療センター）］

２０．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］

21．感染症疫学情報の解析・評価に関する研究

特定の感染症を患者発生情報と病原体情報の両面から総合的解析を行った。本年度中に「病原微生物検出情報」特集記事として掲載されたテーマは、2005 年 4 月号：腸チフス・パラチフス、5 月号：HIV/AIDS、6 月号：腸管出血性大腸菌感染症、7 月号：クリプトスポリジウム症、8 月号：動物由来感染症、9 月号：ヘルパンギーナ、10 月号：E 型肝炎、11 月号：インフルエンザ、12 月号：ノロウイルス、2004 年 1 月号：コレラ、2 月号：つつが虫病／日本紅斑熱、3 月号：細菌性赤痢である。

［山下和予、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、安井良則、岡部信彦、谷口清州、重松美加、多屋馨子、佐藤弘、伊藤健一郎、西尾治、井上栄（感染症情報センター）、渡邊治雄（副所長、細菌第一部）、廣瀬健二（細菌第一部）、寺嶋淳（細菌第一部）、荒川英二（細菌第一部）、三戸部治郎（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）、宮村達男（ウイルス第二部）、武田直和（ウイルス第二部）、清水博之（ウイルス第二部）、吉田弘（ウイルス第二部）、田代真人（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）、遠藤卓郎（寄生動物部）、八木田健司（寄生動物部）、小林睦生（昆虫医科学部）、山田章雄（獣医科学部）、神山恒夫（獣医科学部）、今岡浩一（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）、中嶋建介（国際協力室）、山本茂貴（国立衛研）、三宅智（企画調整主幹）、倉田毅（所長）、吉倉廣（前所長）、金成由美子（厚生労働省）、滝本浩司（厚生労働省）、井上隆弘（厚生労働省）、河村成彦（厚生労働省）、仲庭裕司（厚生労働省）］

Ⅳ．予防接種、薬剤等に関する研究

１．水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌の研究

(1)水痘ワクチン導入に伴う水痘‐帯状疱疹ウイルスに対する血清抗体陽性率の推移に関する研究

水痘ワクチンの導入に関する日本国民の水痘‐帯状疱疹ウイルスに対する年齢群別血清抗体保有状況の推移を把握するとともに、感受性者の蓄積状況に関して考察し、今後の水痘流行阻止に有効な対策を提言することを目的に水痘の血清疫学調査を実施した。National Serum Reference Bank / Tokyo, National Institute of Infectious Diseases, Japan から分与を受けた 972 検体を用いた。ワクチン導入前と比較すると、ワクチン導入後は 1 歳児における抗体陽性率が 20～30%上昇していたが、1 歳児で約 79 万人、20-29 歳群で約 158 万人の感受性者が存在すると推計された。

［上野久美、佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦］

(2)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疾病負担の推定に基づいて、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］

２．予防接種制度の改定に関する検討

平成 17 年度に行われた予防接種法に関連する政省令改正に関連し、その後の自治体の予防接種事業の現状についての調査をおこなった。これまでの結果は、厚生労働科学研究（H17-特別-058）「麻疹・風疹の予防接種率とワクチンの需要に関する調査研究」総括・分担研究報告書（平成 18 年 3 月）で報告した（「麻疹・風疹の定期予防接種制度改正に伴う定期接種の実施に関する全国市町村および特別区への実態調査」、「日本脳炎ワクチン、水痘ワクチン、ムンプスワクチン、インフルエンザワクチンの接種事業に関する調査」）［田中政宏、大日康史、菅原民枝］

３．米国 ACIP 会議参加と日本の予防接種戦略に関する検討

わが国の感染症対策の一環として、米国 ACIP（予防接種の実施に関する諮問委員会）に参加し、日本版 ACIP 作成に向けた検討を行った。

［横田俊平（横浜市立大学小児科）、多屋馨子、岡部信彦］

４．麻疹、風疹ワクチンに関する研究

1 歳児麻疹ワクチン接種率は、2001 年 52%、2003 年 63.4%。2004 年 76.1%と上昇を認めた。2-3 歳児の接種率も 92.9%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%、2004 年 40.9%と麻疹並みの増加はなく低値であった。MMR ワクチンについては、接種世代のピークが 2004 年度 15-16 歳であり、接種率は約 40%であった。

［多屋馨子、佐藤弘、上野久美、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］

５．混合ワクチンの品質確保に関する研究

厚生科学研究医薬安全総合研究事業（宮村班）の分担研究 3 年目として研究を行った。現行の生ポリオワクチンの接種率は良好であり、3 型以外においては、抗体陽性率は高く維持されていた。一方、昭和 50-52 年生まれの世代の 1 型ポリオウイルス抗体陽性率は、前後の年齢群より低い傾向は変化が無かった。

［多屋馨子、佐藤　弘、上野久美、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、北海道、宮城県、山形県、富山県、愛知県、山口県、愛媛県の各道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）］

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 2 年目として実施した。シードロットシステム導入後の品質管理に関する臨床・疫学的検討方法として、今年度は、血清疫学調査を用いて検討した。シードロットシステム導入後の臨床・疫学的調査として、本方法を用いることにより、免疫獲得状況を把握し、ワクチンの品質管理に用いることが可能と考えられた。

［上野久美、多屋馨子、佐藤　弘、岡部信彦］

７．ワクチンの需要予測

ワクチンの安定供給を目的として、毎年インフルエンザワクチンの需要予測を行っているが、本年度はそれに加えて、日本脳炎ワクチンの積極的勧奨の中止、ＭＲ2 回接種制度移行に伴い麻疹あるいは風疹の単味ワクチンの定期接種の中止に伴う、日本脳炎ワクチン、麻疹あるいは風疹の単味ワクチンの需要予測を行い、予防接種行政に貢献した。

［大日康史、菅原民枝、岡部信彦］

８．インフルエンザ予防接種の政策評価

厚生科学研究費補助金　（新興・再興感染症研究事業）「インフルエンザをはじめとした、各種の予防接種の政策評価に関する分析疫学研究」研究班（主任研究者：廣田良夫）の中島一敏分担研究班の研究の一環として、以下の調査・研究を実施した。

全国約 4700 箇所のインフルエンザ定点医療機関より都道府県、政令市を通じて報告されるインフルエンザの発生状況並びに全国の地方衛生研究所から送られてくる病原体検出結果に基づいて 2004/2005 年シーズン、2005/2006 年シーズンの 2 シーズンのインフルエンザの流行状況の解析を行った。2004/2005 年シーズンの流行開始は 2005 年第 3 週と遅く、そのピークも第 9 週と例年よりも遅れたが、その流行規模は非常に大きく、推定患者発生数は 1770 万人であった。ウイルス分離では B 型インフルエンザウイルスが 55.3%を占めており、B 型が流行の中心であった。流行間期である 2005 年夏期に、沖縄県において本島を中心にインフルエンザの流行がみられた。分離されたウイルスは全て AH3 型であった。2005/2006 年シーズン（2006 年第 6 週まで）は第 50 週と比較的早くにインフルエンザの流行が始まり、そのピークは例年と同様第 4 週になると推定される。これまでのところ流行の主流は AH3 型であり、中部地域から西日本地域からの患者報告数が多い。今後とも流行間期も含めたインフルエンザの地域的な流行発生に注意していくべきであると思われる。

［安井良則、中島一敏、廣田良夫（大阪市立大学大学院公衆衛生学）］

９．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 21 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 17 年度には医療従事者を対象とした研修会「医療従事者に必要な寄生虫症・輸入感染症の知識」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 5.5 版」に更新されている。
［木村幹男、日谷明裕、宮村和夫］

１０．トラベルワクチンの適切な接種方法に関する研究

平成 17 年度より開始された厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「海外渡航者に対する予防接種のあり方に関する研究」の分担研究「トラベルワクチンで予防できる疾患の国内発生状況」（分担研究者：岡部信彦）に参加した。1999 年 4 月～2005 年における感染症発生動向調査から、ワクチン予防可能疾患での国外感染例をまとめたが、それぞれの疾患で年毎の変動がみられた。推定感染国としてはコレラではフィリピン、インド、腸チフスではインド、バングラデシュ、ネパール、A 型肝炎ではフィリピンが多く、B 型肝炎ではタイ、中国などに多い傾向がみられた。さらに、国際観光振興機構が発表している国別日本人渡航者数を分母として、2004 年における疾患別・国別罹患率の算定を試みた。その結果、コレラではインド、腸チフスおよび A 型肝炎ではインドとネパールでの罹患率が高かった。B 型肝炎については特別な傾向はみられなかった。平成 18 年度には、ワクチン予防可能疾患の中で厳密に日本人渡航者に限った解析を行い、年度毎での変化も明らかにし、日本人海外渡航者におけるワクチン予防可能疾患の罹患についての全体像をまとめる。そして、最終的にワクチン接種の優先順位に関する指針を示す。
［岡部信彦、多田有希、木村幹男］

Ｖ．病原体等の研究

１．風疹ウイルスの体外診断薬に関する標準品に関する研究

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、麻疹抗体検出キットの品質管理に関する研究を行った。麻疹抗体測定において迅速で簡便なゼラチン粒子凝集反応（PA 法）及び酵素免疫法（EIA 法）による成績を比較した。その結果、両方法にほとんど差はみられず、また中和抗体との相関性が認められている PA 抗体価を基準とした場合の EIA 法における測定値の評価の目安を陽性的中率から算出した。
［佐藤弘、多屋馨子、竹森利忠（免疫部）］

２．エンテロウイルスの同定法の検討

エンテロウイルスの同定法の検討：エコー16 標準株および分離株を用いて、エンテロウイルスの検出同定法の検討を行った。また、最近の流行株と標準株との性状、遺伝子配列の違いを明らかにした。
［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］

３．ポリオワクチン接種後のウイルスの排出

初回 OPV 投与を受けた 1 児（1 歳 6 ヶ月）の糞便中へのウイルス量を調べた。投与後 35 日間のウイルス量をプラック法により測定した結果、投与 2 日後から血清型 2 を主とするウイルスの排出が始まり 9、10 日をピークとし、13 日までみられた。また、観察期間中に発熱、嘔吐等の臨床症状が見られた。培養細胞を用いたウイルス分離同定およびゲノム検索を行った結果、アデノウイルス 2 型およびノロウイルスが検出された。
［荒木和子、多屋馨子、松野重夫、岡部信彦］

４．急性脳炎関連ウイルス

(1)急性脳炎患者における原因ウイルスの検索

原因不明の急性脳炎患者の髄液、血清、便等から PCR 法（あるいは RT-PCR 法）によりウイルスゲノムの検出を行った。当室において、ヘルペスウイルス（HSV-1、HSV-2、HHV-6）、エンテロウイルスについて検討した。また、ウイルス第一部において、日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルスについて検討した。PCR の結果、3 例からエンテロウイルスゲノムが検出されたが、血清型の同定は不能であった。他の検体からは検索したウイルスは検出されなかった。
［佐藤弘、荒木和子、上野久美、多屋馨子、岡部信彦］

５．腸管病原性大腸菌（EPEC）の研究

(1)EPEC に特徴的なマイクロコロニー形成に関与する *bfpA* 遺伝子の分布と遺伝子型

わが国とタイ国で分離された局在性付着大腸菌（*eae* 遺伝子陽性）のマイクロコロニー形成に関連する *bfpA* 遺伝子の分布と遺伝子型を調べた。*bfpA* の遺伝子型別は Heteroduplex Mobility Assay（HMA）法で行った。

調べた 204 株のうち *bfpA* 遺伝子陽性は 34 株で、その *eae* 遺伝子型はほとんどが α1 であった（29 株）。*bfpA* の遺伝子型は 5 種類（7 亜種）の型に分類できた。*eae* と異なり、*bfpA* は同血清型でも異なる遺伝子型に分布する菌株が存在した。
［飯田真里子、山崎貢（愛知県衛生研究所）、八柳潤（秋田県健康環境センター）、Orn-Anong-Ratchtrachenchai,

Sarayoot Subpasu（タイ国保健衛生研究所)、岡村登（東京医科歯科大学)、伊藤健一郎］

(2) EPEC 血清型O157：H45 における付着関連遺伝子の分布

典型的な EPEC は LEE 遺伝子座 （ｅａｅを含む）と EAF プラスミド（ｂｆｐ*A*を含む）を有する。本邦では O157：H45 が最も多い。O157：H45 は集団下痢症患者からも分離され、広く分布していると考えられるが、その特徴は明らかではない。本血清型における病原因子保有状況と自己凝集性を調べた。

調べた 19 株全てがｅａｅを有し、HMA 型はａ1 であった。集団事例株はｂｆｐ*A*－1 型でＥＡＦを保有し強い凝集を示したが、散発事例株はｂｆｐ*A*型, EAF の保有、及び凝集性において多様性を示した。本血清型は株間で病原性の強さが異なっている可能性があり、より詳細に検討する必要がある。

［飯田真里子、岡村登（東京医科歯科大学)、山﨑貢（愛知県衛生研究所)、成松浩志（大分県日田玖珠県民保健福祉センター）、鈴木理恵子（神奈川県衛生研究所）、倉園貴至（埼玉県衛生研究所）、蛭田徳昭（横須賀市健康安全科学センター）、磯部順子（富山県衛生研究所）、勢戸和子（大阪府立公衆衛生研究所）、金子通治（山梨県衛生公害研究所）、河野喜美子（宮崎県衛生環境研究所）、八柳潤（秋田県健康環境センター)、伊藤健一郎］

６．リアルタイム PCR（SmartCycler）による迅速診断法の開発

サイクリングプローブ法を用いて、H 抗原（ｆｌｉ*C*）及び O 抗原の成分である tyvelose の変異部分にプライマーを設計し、チフス菌とパラチフス菌を明確に区別できる方法を確立した。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、同定結果と完全に一致した。

［伊藤健一郎・広瀬健二（細菌第一部)］

７．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

ムンプスウイルス株の神経病原性をラット及びマーモセットを用いて検討した。また、ラット脳内のウイルスの増殖経過及びサイトカインの発現経過について検討した。

［斉加志津子（千葉県衛生研究所）、一戸貞人（千葉県衛生研究所)、木所稔（ウイルス第三部)、永田典代（感染病理部）、岡部信彦］

サーベイランス業務

Ⅰ．感染症発生動向調査事業の実施および情報の還元

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：2005 年 1 月-2005 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 7,708、検疫所 2,825、都市立感染症指定医療機関 534 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 16,363 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 26 巻）および第 26 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 2001 年年報が、Japan J. Infect. Dis., 2002 Vol.55 Supplement として編集・発行された。

［山下和予、赤塚昌江、加藤信子、野地元子、徳永真里子、砂川明英、木村幹男、岡部信彦］

2．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、小坂円、山下和予、赤塚昌江、徳永真里子、

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 6 期＆7 期、中島一敏、大山卓昭］

3．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 WWW-WISH の個別情報システムの還元情報速報閲覧のページ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。また、ウイルス第三部から地研への 2005/06 シーズン HI 試験成績還元データを 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。

(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更新し、毎月の予定についての連絡、システムバージョンアップ等の連絡、ウイルス担当者や細菌検査担当者への臨時情報の提供を行った。

［山下和予、赤塚昌江、徳永真理子、野地元子、加藤信子、砂川明英］

4．インフルエンザ流行レベルマップの作成

感染症発生動向調査により得られた全国のインフルエンザ患者発生動向を、過去の患者発生状況をもとに設けられた基準値に基づいて解析し、保健所ごとに警報レベル､注意報レベルを超えたことを情報還元するための｢インフルエンザ流行レベルマップ」を作成し、毎週火曜日に感染症情報センターのホームページ上にアップデートした。コメント欄には、最新の患者発生状況と病原体情報から得られたインフルエンザウイルス分離結果を合わせて掲載している。2005 年度は 2004/2005 年シーズンに含まれる 2005 年第 14 週～第 26 週、2005/2006 年シーズン中の 2005 年第 43 週～2006 年第 13 週までのインフルエンザ流行レベルマップ作成を行った。

［安井良則、柴田博子、木村幹男、谷口清州］

5．感染症発生動向調査、各種疾患別情報および新着情報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各種集計および解析結果、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、およびインフルエンザ様疾患発生報告のページについても内容を検討し、HTML 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］

Ⅱ．感染症発生動向調査のシステムの改善

１．感染症検査情報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、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 Version4.80 を平成 17 年 10 月に、さらに市区町村コード・保健所コードなどを追加修正した Version4.81 を平成 17 年 1 月より運用開始した。

［山下和予、赤塚昌江、徳永真里子、野地元子］

２．感染症発生動向調査新システムの開発支援

(1)感染症発生動向調査システム

「感染症の患者の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づく、感染症発生動向調査は、感染症の発生情報を迅速に把握し的確に対応することにより、感染症の蔓延を防止する目的で、1999 年 4 月の法制定以降、厚生労働行政総合情報システム（ＷＩＳＨ）上に構築され運用されている。しかし、システム稼動後の法改正に未対応の部分がある等の課題があったことから、再構築することとされた。新システムの方向性、概要については発生動向調査システム開発事業評価委員会（委員長：谷口清州）により示された。 この新システムの開発に当たり、具体的な技術的支援を行った。特に迅速な報告を要する事項に対する判断・早期対応を可能とするため、集計途中での状況把握が可能な仕組みとし、セントラルデータベースでのデータ一元管理により、保健所、地方感染症情報センター、中央感染症情報センター等の関係機関の間で情報共有が可能とされた。新システムは 2006 年 4 月 3 日に稼動開始された。

［多田有希、加藤信子、安井良則、木村幹男、松岡静香、中里篤、大竹由里子、谷口清州、神谷信行（東京都健康

安全センター)、池田一夫（東京都健康安全センター)、灘岡陽子（東京都健康安全センター)、中村廣志（神奈川県衛生研究所)、橋本修二（藤田保健衛生大学)］

(2) 病原体検出情報システム

平成 18 年度に感染症発生動向調査等システムの全体が全面的に更新されるため、病原体検出情報サブシステムについて現行システム評価のための資料提供、調達仕様書への要求資料作成、地方衛生研究所に対するアンケート調査、基本設計～詳細設計の仕様確認およびユーザー試験を行った。併せて 1980 年から蓄積されている過去データを新システムのセントラルデータベースに移行するため、データのマッピング・再確認等を行った。

［山下和予、赤塚昌江、徳永真里子、野地元子、加藤信子］

(3)疑い症例調査支援システム

SARS、新型インフルエンザ、バイオテロといった重大な感染症の策のための情報共有システムとしてを構築した。また、その概要説明等、都道府県に対する説明を行った。

［大日康史、重松美加、谷口清州］

(4)症候群サーベイランス

バイオテロあるいは新型インフルエンザ対策に利用できる症候群サーベイランスのシステムとして、医療機関から Web を通じて直接に患者の情報あるいは患者数の情報を登録、閲覧できるシステムを開発した。その機能として自動的に流行を探知するシステムを開発し、実装した。また、その概要説明等、都道府県に対する説明を行った。

［大日康史、重松美加、谷口清州］

(5) 感染症流行予測調査システム

感染症流行予測調査システムの設計・開発・検証を平成 18 年 4 月稼働開始に向け行った。データはセントラルデータベースで一元管理することとし、データ登録、集計が迅速で多様な還元を可能とした。

［佐藤弘、北本理恵、多屋馨子］

(6)インフルエンザ関連死亡

東京都特別区および政令指定都市の協力の下に厚生労働省健康局結核感染症課が行っている「インフルエンザ関連死亡者迅速把握」事業のための入力画面を作成し、感染症発生動向調査新システムの一部として稼働させた。また、その概要説明等、都道府県に対する説明を行った。

［大日康史、重松美加、谷口清州］

Ⅲ．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、安井良則、重松美加、森兼啓太、大日康史、田中政宏、大山卓昭、中島一敏、ポール・キツタニ、FETP 研修生 6 期＆7 期］

Ⅳ．感染症流行予測調査事業に関する業務

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 16 年度（2004 年度）報告書を作成した。

［多屋馨子、佐藤弘、上野久美、北本理恵、丹生隆、荒木和子、田中幸江、岡部信彦］

２．感染症流行予測調査結果速報の発信

平成 17 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 29 日から 12 月 26 日まで計 2 回、B）全国日本脳炎ブタ情報（HI 抗体保有状況）を 7 月 4 日～12 月 28 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。

［佐藤弘、多屋馨子、上野久美、北本理恵、丹生隆、荒木和子、岡部信彦］

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 17 年度版を作成した。

［多屋馨子、佐藤弘、丹生隆、上野久美、北本理恵、荒木和子、岡部信彦］

４．データバンク保存

［佐藤弘、上野久美、北本理恵、丹生隆、荒木和子、多屋馨子、岡部信彦］

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平成 17 年度版に改訂、検証した。

［北本理恵、佐藤弘、多屋馨子、上野久美、丹生隆、荒

木和子、岡部信彦］

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、佐藤弘、上野久美、北本理恵、丹生隆、荒木和子、田中幸江、岡部信彦］

Ⅴ．サーベイランス事業の支援

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 2 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．国内院内感染症集団発生事例に対する調査支援

急性 C 型肝炎集団発生事例（北海道札幌市）

［森兼啓太、安井良則、(FETP)、谷口清州、岡部信彦］

３．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った。第 58 会世界保健総会（ジュネーブ)および第 57 会 WHO 西太平洋地域委員会(ヌーメア)に出席し、感染症関連議題（新型インフルエンザによる世界流行対策、マラリア対策、世界予防接種戦略、薬剤耐性菌対策、新興感染症対策戦略、ポリオ根絶・麻疹排除・B 型肝炎コントロール等）の情報提供、議論、決議草案作成に参加した。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。また政府間調整会議で議論を行った。

［中島一敏、大日康史、田中政宏、谷口清州］

Ⅵ．感染症情報の収集、評価及び予防対策の策定

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し、実施に向けた最終調整を行った。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。2005 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、生物学的製剤に関連を検討評価し、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、感染症研究所として科学的見知からコメントし、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、試験稼働を開始するとともに、よりよい検出アルゴリズム開発のための検討を行った。

［重松美加、谷口清州、多屋馨子、柴田博子、岡部信彦］

２．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。

［森兼啓太、田中政宏、大日康史、重松美加、砂川富正、中島一敏、ポール・キツタニ、大山卓昭、FETP6 期＆7 期、谷口清州、岡部信彦］

３．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）

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、大山卓昭、砂川富正、中島一敏、柴田博子、FETP 研修生 6 期＆7 期］

国際協力関係業務

Ⅰ．国際的調査協力及び支援

１．インドネシアにおける鳥インフルエンザ発生に伴う緊急支援

インドネシアにおける鳥インフルエンザの発生とヒトへの感染をうけて、日本政府としての緊急援助隊派遣に伴い、その事前調査と実際の臨床、疫学、ラボの三つの立場から技術的支援を行った。
［中島一敏、谷口清州、他免疫部、ウイルス第三部］

２．インドシナ諸国における鳥インフルエンザ対策の現状評価と感染研の協力の可能性に関する調査

2004 年から、インドシナ諸国で鳥インフルエンザの流行とヒト症例の報告が続いていることへの対応策として、2006 年 3 月から 4 月にかけて、厚生労働省国際協力室長、感染研国際協力室長、感染研ウイルス 3 部インフルエンザ室長らとともに、ベトナム南部、ラオス、カンボジア、ミャンマーの保健省のレファレンスラボおよび担当部局を訪問し聞き取り調査を行い、今後の感染研との協力についての可能性につき協議した。その結果は、国際協力室による感染研報告会および厚生労働科学研究特別研究事業報告書（2005 年 3 月）において報告した。
［田中政宏］

３．カンボジアにおけるワクチン由来ポリオ症例発生に対する現地担当者との情報交換　2006．3．7．-15.

［上野久美］

４．Botulism antitoxin supply to Thailand from Japan 2006．3．22．-26.

［上野久美］

Ⅱ．国際研修

１．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、予防接種、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研修、情報提供、広報業務をおこなった。
［岡部信彦、谷口清州、大日康史、重松美加、森兼啓太、田中政宏、大山卓昭、中島一敏、木村幹男、山下和予、多田有希、多屋馨子］

研修業務

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

１．全般実施状況

FETP の実施は 7 年目となり、平成 17 年 4 月、7 期生 3 名（阿保満、鈴木智之、鷲見宏）を迎えた。平成 18 年 3 月には 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）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継続依頼し、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。

２．感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 17 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。

- 原因不明の急性脳症集団発生事例（新潟県、秋田県、山形県）（前年度から継続）
- 施設内ＶＲＥ集団発生事例（京都府京都市山科区）（前年度から継続）
- 施設内病原性大腸菌 O157 感染症集団発生事例（大分県臼杵市）
- 施設内病原性大腸菌 O157 感染症集団発生事例（香川県香川市）

３．研修活動

FETP のトレーニングの一環として、初期導入研修前期（John Kobayashi, Richard Dicker；4 月）、初期導入研修後期（John Kobayashi, Fadzilah Kamaludin；7-8 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；7 月）、感染症対策の国際的なネットワーク（Thomas Grein；11 月）、HIV/AIDS に関する予防対策（Dawson Heffelfinger；1 月）、米国における検疫システム（Peter Houck；2 月）に関するセミナーを開催した。

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（岩手県、秋田県、茨城県、東京都、愛知県、三重県、大分県、熊本県、沖縄県）での講義・討論をおこなった。

５．感染症疫学研究

平成17年度に研修終了した6期生が以下の長期プロジェクト研究発表をおこなった。

「原因不明脳症事例の介入の評価」山口亮
「EHEC 関連溶血性尿毒症症候群について」神垣太郎
「食肉衛生検査所における EHEC 検査の現状」松舘宏樹
「国内で感染したことが疑われるコレラ症例」太田正樹
「手足口病重症化リスクについて」鈴木葉子
「サーベイランス報告遅れの現状と対策」森山和郎
「沖縄県麻疹全数把握事業のサーベイランス評価」登坂直規
「2005 年細菌性赤痢のサルのサーベイランスについて」小林幹子
「症候群サーベイランス有用性の評価」三村敬司

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。

CJD サーベイランスに対する情報交換・還元

HIV／AIDS 発生動向に基づいた提言

ウイルス性肝炎（特に A 型および E 型）の集積についての注意喚起と提言

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

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、FETP6 期＆7 期、感染症情報センタースタッフ一同]

II. 危機管理研修会、健康危機管理保健所長等研修会

１．危機管理研修会

感染症情報センターが事務局を務め、平成 9 年度より定期的に実施している感染症危機管理研修会を 9 月 29 日、30 日に開催した。全国の衛生主幹部局等から 122 人が受講者として参加した。研修内容として、国の健康危機管理体制、内閣府食品安全委員会の緊急時対応、地域保健見直し、福祉施設の感染症対策、感染症法関連、動物由来感染症対策など国の保健行政に関する講演、日本脳炎・消毒・鳥/新型インフルエンザ等の感染症トピックス、集団発生事例調査対応事例紹介、感染症集団発生時の疫学調査に関するケーススタディ演習等を行った。

［感染症情報センター一同］

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。

［重松美加、谷口清州］

III. 国立保健医療科学院による研修

１．特定研修新興再興感染症技術研修

平成 17 年度特定研修新興再興感染症技術研修として、平成 17 年 9 月 12 日から 16 日に感染症研究所村山庁舎で研修会を実施した。ノロウイルス検査の現状に対応した新しい知識及び技術を習得することを目的とし、地方衛生研究所または保健所でウイルスに関する業務につく 21 名が参加した。

［西尾治、伊藤健一郎、杉山和良(バイオセーフテイ管理室)、篠原克明(バイオセーフテイ管理室)、永田典代(感染病理部)、波多野煜持(感染病理部)、大瀬戸光明(愛媛県立衛生環境研究所)、杉枝正明(静岡県環境衛生科学研究所)、木村博一(群馬県衛生環境研究所)、西田知子（山口県環境保健研究センター)、吉澄志磨(北海道立衛生研究所)、篠原美千代（埼玉県衛生研究所）］

２．特別課程細菌コース

平成１７年１０月２５日から１１月１８日まで、国立保健医療科学院及び感染症研究所村山分室で研修会を行った。本研修は、保健所あるい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、細菌学の体系的な理解と現状に対応した新しい知識及び技術の習得を目的としている。対象は経験の少ない初級者を対象としている。保健所８名・地方衛生研究所１３名・中核市保健所５名の合計２６名であった。本研修は感染症情報センターを初めとして、感染研関連各部室、名古屋検疫所、東京都安全健康研究センター、神奈川県衛生研究所、結核研究所、帝京大学、東京顕微鏡院　、海事検定

協会、エムエス機器の支援・協力を得て遂行された。
［伊藤健一郎、西尾治、重松美加、飯田真里子］

Ⅳ．その他の研修の実施

１．国立感染症研究所安全連絡協議会研修

わが国の日本脳炎と日本脳炎ワクチンに関する最近の話題について． 2005. 9.13.
［多屋馨子］

２．希少感染症診断技術向上事業に関する業務

平成 17 年度は対象疾患として、ウエストナイル熱・日本脳炎と媒介蚊、高病原性鳥インフルエンザ、ノロウイルス、結核/その他の抗酸菌感染症、動物由来感染症、劇症型溶血性レンサ球菌、ダニ媒介性感染症、エキノコックスが取り上げられた。研修会は平成 18 年 2 月、当感染研で 2 日間開催され、73 地研、127 名が参加した。それぞれの疾患は細菌第一部、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、昆虫医科学部、生体防御部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。
［上野久美、多屋馨子、岡部信彦、倉根一郎（ウイルス第一部）］

３．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、インフルエンザの疫学的動向について、研修を実施した。
［多屋馨子、安井良則、岡部信彦］

４．厚生労働省、日本臨床微生物学会主催平成 17 年度院内感染対策研修

臨床検査技師対象-院内ウイルス感染対策.2005.9.17.（神戸大学）
［多屋馨子］

５．文部科学省　健康教育指導者中央研修会

［多屋馨子］

６．社団法人日本感染症学会主催、日本臨床微生物学会後援院内感染対策講習会

［多屋馨子］

７．平成17年度国公立私立大学病院臨床検査技術関係職員研修

［多屋馨子］

その他

Ⅰ．情報提供及び広報活動

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電話約 5000 件、メール約 500 件である。
［岡部信彦、谷口清州、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］

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、谷口清州、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］

３．メディアへの対応

メデイアからの問い合わせに対しては、通常は情報センター内に於いて問い合わせ内容別に担当者を決め、取材等に依頼に応じている。

平成 15 年 SARS 対応時には、メデイアからの取材依頼殺到に応じるため、１週間に１回定例として SARS に関し、行政発表とは異なった科学的視点からの解説、状況説明を行った。これをきっかけにメデイア希望者に対して毎月１回、情報センター・メデイア感染症情報交換会として、感染症情報の提供、解説、意見交換を行っている。話題として、病原体検出情報(IASR)の特集を取り上げるほか、その都度のトピックスを取り上げている。また緊急的に伝え他方がよいと考えられた時（例：ウエストナイル熱本邦初発症例）には、臨時に開催し、コメントを出すようにしている。感染研としての公式発表ということではなく、あくまで情報センターからの科学的情

報提供、としている。情報提供は主に感染症情報センター長および適時情報センタースタッフとしているが、IASR 特集のように感染研内部の担当専門者に依頼することもある。本会の登録者は 60-70 人程度となっており、Risk communinication の一手段として、メデイア側の協力も得て継続、実施している。(岡部信彦、情報センタースタッフ一同)

II. 血清銀行に関する業務

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 17 年度に受け入れた血清は、計 3,371 本であった。また、平成 17 年職員血清として計 502 本の血清を受け入れ保管した。

［荒木和子、田中幸江、丹生隆、佐藤弘、上野久美、多屋馨子、岡部信彦］

２．研究目的での血清の払い出し

使用申請があった 2 研究に対して計 1,199 本の分与を行った。

［荒木和子、田中幸江、丹生隆、佐藤弘、上野久美、多屋馨子、岡部信彦］

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し 10 月 12 日付けで承認を得た。

血清銀行運営委員会規程を作成し血清銀行運営委員会および部長会の承認を得、10 月 6 日より施行となった。

［荒木和子、多屋馨子、岡部信彦］

４．保管血清の管理

［荒木和子、田中幸江、丹生隆、佐藤弘、上野久美、多屋馨子、岡部信彦］

Ⅲ. 予防接種に関する業務

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 2005 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、佐藤弘、岡部信彦］

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］

IV. 公的機関の委員

新型インフルエンザ専門家会議委員

［岡部信彦、森兼啓太、谷口清州、田中政宏、多屋馨子、安井良則、中島一敏、大日康史、上野久美］

感染症発生動向調査システム開発評価委員会委員長

［谷口清州］

厚生労働省　予防接種健康被害認定部会/分科会

［岡部信彦（委員長）、多屋馨子（委員）］

厚生労働省　予防接種後副反応・健康状況調査検討会委員

［岡部信彦、多屋馨子］

厚生労働省　薬事・食品衛生審議会

［多屋馨子（専門委員）、西尾治（乳肉水産食品部会臨時委員）］

独立行政法人医薬品医療機器総合機構専門委員

［多屋馨子］

内閣府食品安全委員会専門委員

［西尾治］

Ⅴ．学校（大学、大学院等）における教育への参加

以下の教育機関より、非常勤講師、客員教授などの委嘱（併任、兼任）を受け、医学教育等への参加を積極的に行っている。

岡部信彦

- 東京慈恵会医科大学客員教授（小児科講座）
- 首都大学東京客員教授（大学院・国際保健学）
- 東京大学非常勤講師（大学院医学系研究科・国際保健学）
- 名古屋大学非常勤講師（医学部感染症科）
- 国立看護大学非常勤講師（感染症学）
- 大阪市立大学非常勤講師（大学院医学研究科・医学部、公衆衛生学）
- 共立薬科大学大学院非常勤講師（感染症学）
- 京都大学医学部非常勤講師（感染病学）
- 京都大学大学院医学研究科非常勤講師(国際保健学)
- 東北大学医学部非常勤講師（感染症制御学）
- お茶の水女子大非常勤講師（化学・生物総合管理の再教育講座）

木村幹男

- 岡山大学大学院（薬学系）(日本における感染症サーベイランス)

多屋馨子

- 東京慈恵会医科大学医学部（微生物学講座第一（臨

床基礎医学ウイルスと感染（ワクチンの基礎と応用））
- お茶の水女子大非常勤講師（化学・生物総合管理の再教育講座）

西尾治
- 東京大学医学部非常勤講師（ウイルス学, 公衆衛生学）

安井良則
- 大阪市立大学医学部非常勤講師（臨床検査医学（院内感染））

大山卓昭
- 京都大学大学院社会医学系非常勤講師（環境科学『フィールド・エピデミオロジー』）
- お茶の水女子大非常勤講師（化学・生物総合管理の再教育講座）

中島一敏
- 大分大学医学部非常勤講師（微生物学講義）

大日康史
- 慶應義塾大学医学部非常勤講師（医療経済学）
- 呉大学看護学部非常勤講師（医療経済学）
- 大阪市立大学大学院医科学研究科非常勤講師（医療経済学）
- 岐阜大学大学院医学研究科非常勤講師(医療経済学)

東京慈恵会医科大学医学部４年生、６年生の学外実習機関として学生教育実施
その他、医学部およびその他の医育機関の学生より見学研修の依頼を受け、実施している。

Ⅵ. 検査実施状況

	行　政	研　究	合　計
ウイルス分離同定	0	29	29
核酸・抗原検出	3	80	83
血清反応	0	1490	1490
合　計	3	1599	1599

Ⅶ. 研究員・研究生

氏　名	身　分	期　間	出　身
斉藤優子	協力研究員	H18.2.1-H18.3.31	(株)中部衛生検査センター
吉田健介	協力研究員	H17.8.29-H17.9.30	(財)日本食品衛生協会
宗村徹也	協力研究員	H17.5.1-	横浜市食肉衛生検査所
長谷川斐子	客員研究員	H17.4.1-	元職員
加藤由美子	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	バイオマトリックス研究所
森下高行	協力研究員	H17.4.1-	愛知県食品衛生検査所
太田正樹	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	札幌市保健福祉局
神垣太郎	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	岩手県立磐井病院
小林幹子	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	富山県新川厚生センター
鈴木葉子	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	東京女子医大第二病院小児科
登坂直規	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	日本医大高度救命救急センター
松舘宏樹	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	岩手県食肉衛生検査所
三村敬司	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	陸上自衛隊幕僚監部衛生部
森山和郎	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	大阪府茨木保健所
山口　亮	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	北海道保健福祉部
阿保　満	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	東京都福祉保健局島しょ保健所
鷲見　宏	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	兵庫県山崎健康福祉保健事務所
鈴木智之	協力研究員	H17.4.1-H18.3.31	産業医大医学部寄生虫熱帯医学

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Okabe N and Members of SARS Response Team：Severe Acute Respiratory Syndrom (SARS) : Summary of SARS outbreak, response in Japan, and actions at Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases. JAMJ 48(6):291-300, 2005.

2) Suzuki S, Sakai T, Tanabe, N and Okabe N. Peak rotavirus activity shifted from winter to early spring in Japan. Pediatric Inf Dis J 24(3):1-4, 2005.

3) Hashimoto S, Kawado M, Seko R, Kato M, Okabe N.: Bias of vaccination coverage in a household questionnaire survey in Japan. J Epidemiol. 2005;15(1):15-9.

4) Banik U, Adhikary AK, Suzuki E, Inada T, Okabe N.: Links Multiplex PCR assay for rapid identification of oculopathogenic adenoviruses by amplification of the fiber and hexon genes. J Clin Microbiol. 2005 Mar;43(3):1064-8.

5) Sakuma M, Urashima M, Okabe N.: Verocytotoxin-producing Escherichia coli, Japan, 1999-2004. Emerg Infect Dis. 2006 Feb;12(2):323-5.

6) Kanemitsu K, Kunishima H, Inden K, Hatta M, Saga T, Ueno K, Harigae H, Ishizawa K, Kaku M, Assessment of RAISUS, a novel system for identification and antimicrobial susceptibility testing for enterococci. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, vol. 53, pp. 23-27, 2005.

7) Hirakata Y, Arisawa K, Nishio O, Nakagomi O, Multifectural pread of gastroenteritis outbreaks attributable to a single genogroup II norovirus strain from a tourist restaurant in Nagasaki, Japan. J Clin Microbiol, vol.43, pp.1093-1098, 2005.

8) Phan TG, Okame M, Nguyen TA, Nishio O, Okitsu S,Ushijima H, Genetic of Sapovirus in fecal specimens from infants and children with acute gastroenteritis in Pakistan. Arch Virol, vol.150, pp.371-377, 2005.

9) Seto Y, Iritani N, Kudo H, Kaida A, Murakami T, Haruki K, Nishio O, Ayata M, Ogura H, Genotyping of norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 And March 2003 in Osaka City, Japan. Microbiol Immunol, vol.49, pp. 275-283, 2005.

10) Saitoh M, Shinkawa N, Shimada S, Kato M, Shinohara M, Sadamasu K, Hasegawa M, Kozawa K, Nishio O , Kimura H, Sequence and phylogenetic analysis of envelope glycoprotein (E1) gene in rubella virus detected in Japan, 2004, Microbiol Immunol, vol.50, pp. 179-185, 2006.

11) Ohkusa Y, Shigematsu M, Taniguchi K, Okabe N, An Experimental OTC Surveillance in Japan, MMWR, vol.54, supplement, pp.47-52, 2005.

12) Ohkusa Y, Taniguchi K, et al. , Prediction of Outbreak in Smallpox and Evaluation of Control Measure Policy in Japan, by using Mathematical Model, Journal of Infection and Chemotherapy , vol.11 (2), pp.71-80, 2005.

13) Ohkusa Y, Policy evaluation for the subsidy for influenza vaccination in elderly, Vaccine, vol.23, pp. 2256-2260, 2005.

14) Ohkusa, Sugawara: Cost-Effectiveness Analysis and Its Application for Policy Evaluation for Medicine or Public Health, Public Policy review ,Policy Research Institute Ministry of Finance,Japan,2(1),January,2006

15) Konishi T, Watanabe T, Morikane K, Fukatsu K, Kitayama J, Umetani N, Kishimoto J, Nagawa H. Prospective surveillance effectively reduced rates of surgical site infection associated with elective colorectal surgery at a university hospital in Japan. Infect Control Hosp Epidemiol, vol. 27, pp.526-528, 2006.

16) Editorial Committee of Findings of Infectious Agents in Japan. Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan, 2001. Jpn J Infect Dis,55(Suppl), 2002.

17) Miura T, Kimura M, Koibuchi T, Endo T, Nakamura H, Odawara T, Wataya Y, Nakamura T, Iwamoto A, Clinical characteristics of imported malaria in Japan: analysis at a referral hospital, Am J Trop Med Hyg, vol.73, pp. 599-603, 2005.

18) Yoshikawa H, Kimura M, Ogawa M, Rolain J-M, Raoult D. Laboratory- confirmed Mediterranean spotted fever in a Japanese traveler to Kenya. Am J Trop Med Hyg, vol.73, pp. 1086-1089, 2005.

19) Kimura M, Kawakami K, Hashimoto M, Hamada M. Malaria prevention and stand-by emergency treatment among Japanese travelers, Travel Med Infect Dis , vol.4, pp.81-85,2006.

20) Laurie T. Krug, Chong-Gee Teo, Tanaka-Taya K, Inoue N, Chapter 6. Newly identified. human herpesviruses: HHV-6, HHV-7, and HHV-8. New and Evolving Infections of the 21st Century. Springer-NY. 2006.

２．和文発表

1) 岡部信彦「ウイルスによる新興感染症とその対策」 Drug Delivery System 20(4):467-470, 2005.
2) 岡部信彦「予防接種」小児医療研修のための基礎知識（改訂 3 版）P.31-39 監修・衛藤義勝 三共株式会社 2005.5.
3) 岡部信彦「スポーツ活動と感染症予防」整形・災害外科 48(5):677-686, 2005.
4) 岡部信彦「国際感染症が重要となった背景」Modern Physician 25(5):481-486, 2005.
5) 岡部信彦「学校におけるリスクマネージメント／感染症対策」日本医師会雑誌 134(4)別冊:32-36、2005.
6) 岡部信彦「学校／幼稚園保育園等での感染症対策, 登校登園停止など」小児科臨床 58(9):1929-1934, 2005.
7) 岡部信彦「感染症マニュアル 全面改訂第 4 版」監修 山崎修道 編著 小早川隆敏 スパイラル出版 2005.11.
8) 岡部信彦「SARS –その後-」小児科 46(11):1891-1896, 2005.
9) 岡部信彦「新興呼吸器感染症とその対策」結核 80(11):701-708, 2005.
10) 岡部信彦「予防接種（麻疹、風疹）の変更およびそれに関連する麻疹、風疹ワクチン勧奨と接種控えの問題」小児科臨床 58(11)2309-2312, 2005.
11) 岡部信彦「日本脳炎ワクチン問題-その背景-」ウイルス 55(2):303-306, 2005.
12) 岡部信彦「ジフテリア」今日の治療指針 2006 P.136 総編集・山口 徹、北原光夫、福井次夫 医学書院 2006.1.
13) 岡部信彦「日本の感染症サーベイランス」公衆衛生 70(1):56-59, 2006.
14) 岡部信彦「海外渡航時、留学時の予防接種スケジュール」予防接種マニュアル 改訂版 P.47-55 編著・加藤達夫 新興医学出版 2006.2.
15) 岡部信彦「インフルエンザの発生動向（サーベイランス）」感染症学雑誌 80(2):59-63, 2006.
16) 田中 毅、岡部信彦「セラチア敗血症の集団発生事例」 臨床医 31(8):1472-1474, 2005.
17) 加藤昌弘、川戸美由紀、世古留美、橋本修二、岡部信彦「予防接種の接種月齢、接種順と接種完了率」日本公衆衛生雑誌 53(2):105-111, 2006.
18) 田中 毅、岡部信彦「マールブルグ病の発生（アンゴラ）と検疫」小児科 47(2):213-218, 2006.
19) 水野泰孝、岡部信彦「渡航地域ごとの特殊な感染症」 小児科 47(2):179-185, 2006.
20) 新井智,鈴木里和,多屋馨子,大山卓昭,小坂 健,谷口清州,岡部信彦「1999 年 2002 年までの日本におけるヒトエキノコックス症サーベイランスの集計と評価-感染症発生動向調査から-」感染症学雑誌, vol.79,pp.181-190, （感染症学雑誌 vol.77,pp.957-964,2003．の修正・改訂項）,2005.
21) 斉藤若菜,永井英明,鈴木純子,益田公彦,田村厚久,長山直弘,赤川志のぶ,川辺芳子,町田和子,倉島篤行,四元秀毅,斉藤 剛,新井 智,岡部信彦 「慢性呼吸器疾患患者における 23 価肺炎球菌ワクチン接種前後の血清型特異抗体濃度の検討」 日本呼吸器会雑誌, vol. 43,pp.277-282,2005.
22) 新井智「動物由来ウイルス感染症対策としてのサーベイランス」日本臨床, vol.63,pp.2097-2102,2005.
23) 佐藤弘,多屋馨子,岡部信彦「ヒトメタニューモウイルスによる呼吸器感染症」呼吸, vol.24,pp.830-834,2005.
24) 佐藤弘,多屋馨子「インフルエンザの抗体保有状況調査と流行予測（感染症流行予測調査事業より）」インフルエンザ, vol.6,pp.31-39,2005.
25) 荒木和子,岡部信彦「研修医のための検査データの読み方、ウイルス検査」小児科診療, vol.68,pp.811-816,2005.
26) 多屋馨子「日本におけるワクチンの現状と今後最近のわが国の麻疹の現状とワクチン接種の今後」日本小児臨床薬理学会雑誌, vol.18(1), pp.35-41, 2005.
27) 多屋馨子,馬場宏一,佐藤弘,上野久美,安井良則,新井 智,奥野良信,岡部信彦：感染症緊急提言 改正麻疹「風疹ワクチンはどう変わるか」小児科診療,2005,vol.58(12),pp.Ⅰ-Ⅶ,2005.
28) 多屋馨子「知っておきたい医学の知識 Q&A．予防接種は有効か」,学校保健フォーラム, vol.9(86), pp.72-73, 2005.
29) 森島恒雄,富樫武弘,中村祐輔,横田俊平,田代眞人,岡部信彦,奥野良信,布井博幸,山口清次,細矢光亮,

市川光太郎,水口 雅,河島尚志,塩見正司,市山高志,玉腰暁子,佐多徹太郎,木村 宏,山田至康,宮崎千明,黒木春郎,鍵本聖一,岩崎琢也,栗原まな,奥村彰久,前田明彦,中野貴司,荒川浩一,尾内一信,藤井史敏,安井良則,坂下裕子,黒川雅代子,瀬藤万里子,井上ひとみ,多屋馨子,岡田晴恵,二宮伸介,山下信子,長尾隆志,和田智顕,厚生労働省インフルエンザ脳症研究班「インフルエンザ脳症ガイドライン」小児感染免疫, vol.17（4）, pp. 341-366, 2005.

30) 加藤達夫,岡田賢司,庵原俊昭,宇加江進,古賀伸子,住友眞佐美,多屋馨子,馬場宏一,三田村敬子,日本小児保健協会予防接種委員会「集団免疫率からみる MR ワクチン 2 回接種法の誤解」小児保健研究, vol.64(6), pp. 820-821, 2005.
31) 多屋馨子「輸入感染症」小児内科, vol.37 (増刊), pp.611-621,2005.
32) 多屋馨子「インフルエンザワクチンの効果分析」内科, vol.96(5), pp.813-819, 2005.
33) 多屋馨子「免疫不全状態におけるウイルス感染」小児科診療, vol. 68(11), pp.2019-2024, 2005.
34) 多屋馨子「わが国における風疹予防接種の歴史と今後」チャイルドヘルス, vol.8(9),pp.643-648,2005.
35) 多屋馨子,橋本迪子「これからの予防接種 海外渡航者の予防接種」小児内科, vol.37(7),pp.889-896,2005.
36) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題．臨床と微生物」vol.32(4), pp. 390-392, 2005.
37) 多屋馨子「日本から輸出している感染症」Modern Physician, vol.25(5), pp. 621-625, 2005.
38) 多屋馨子「サイトメガロウイルス感染症」日本臨床,vol.63(増刊 4) , pp.528-533, 2005.
39) 多屋馨子,岡部信彦「わが国における感染症の現状．産婦人科治療」vol,90(増刊),pp.469-476, 2005.
40) 多屋馨子「ワクチンによるインフルエンザの予防」綜合臨床,vol.54(2), pp. 279-287, 2005.
41) 上野久美,多屋馨子,岡部信彦「予防接種とその効果」こころのオアシス, vol .33, pp.16-19, 2005.
42) 上野久美,岡部信彦「鳥インフルエンザについて」心とからだの健康, vol. 96,pp.70-72,2006.
43) 上野久美,岡部信彦「SARS．侵襲と免疫」vol .4,pp.6-9, 2005.
44) 上野久美,多屋馨子「新 2 種混合ワクチン−麻疹・風疹混合生ワクチン(MR ワクチン)」クリニカルプラクティス, vol.3,pp.11-15, 2006.
45) 廣瀬健二,伊藤健一郎,渡邉治雄「サイクリングプローブ法を利用したチフス菌・パラチフス A 菌の *gyrA* 変異検出方法の開発」Bio View, No.49, pp.16-21, 2005.
46) 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,渡辺治雄「赤痢菌同定の問題点：アンケート調査結果」病原微生物情報（IASR）vol.26,pp.94-96, 2005.
47) 入谷展弘, 勢戸祥介, 春木孝祐, 西尾治, 久保英幸, 改田厚, 村上司, 綾田稔, 小倉壽「市販生カキからのノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルスの検出」生活衛生, vol.49, pp.279-287, 2005.
48) 西尾治, 古屋由美子, 大瀬戸光明「ウイルス性食中毒の予防―ノロウイルス, A 型肝炎ウイルス―」食品衛生研究, vol.55(4),pp.19-24, 2005.
49) 西尾治, 山下育孝, 宇宿秀三「ノロウイルスによる食中毒，感染症」食品衛生研究, vol.55(10),pp.7-16, 2005.
50) 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, vol 447,pp. 3-6, 2005.
51) 西尾治「ノロウイルスの感染と遺伝子迅速検査の現状と期待」The Medical Journal, vol.915,p.11, 2005.
52) 西尾治「ノロウイルスによる感染症と食中毒」日本医事新報, vol.4221,p. 105, 2005.
53) 西尾治「ノロウイルス感染予防のための手指消毒」日本医事新報, vol. 4234,pp.98-99, 2005.
54) 西田知子, 岡本玲子, 中尾利器, 松村健道, 大瀬戸光明, 西尾治「山口県内におけるノロウイルス胃腸炎集団発生事例および市販生食カキの汚染状況」獣医公衆衛生研究, vol.7,pp. 24-25, 2005.
55) 西尾治「広範囲 血液・尿化学検査免疫学的検査―その数値をどう読むか―ノロウイルス」日本臨床, vol.63 増刊号 7,pp. 332-333, 2005.
56) 藤本嗣人, 近平雅嗣, 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および分子疫学的検討」臨床とウイルス, vol.33,pp. 141-145, 2005.
57) 田中俊光, 西尾治「輸入生鮮魚介類からのノロウイルス遺伝子検出状況」日本獣医公衆衛生学会誌, vol.58,pp. 627-630, 2005.
58) 西尾治, 秋山美穂, 愛木智香子, 杉枝正明, 福田伸治, 西田知子, 植木洋, 入谷展弘, 篠原美千代, 木村博一「ノロウイルスによる食中毒について」

食品衛生学雑誌, vol. 46(6), pp. 235-245, 2005.
59) 大日康史,重松美加,谷口清州「2004/05 シーズンのインフルエンザ流行のインパクト」病原微生物情報,vol.26(11), pp.7-9, 2005.11.
60) 大日康史,菅原民枝「医療・公衆衛生分野の費用対効果分析」ファイナンシャルレビュー,財務省, vol.77. pp. 164-195, 2005.7.
61) 大日康史,西村龍夫「Hib ワクチン導入の医療経済学」外来小児科，vol.8(2),pp.198-200，2005.
62) 菅原民枝,大日康史他 2 名「禁煙支援プログラムの需要分析」医療と社会，vol.14(4)，pp.127-144，2005.
63) 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,vol.6(1), pp.51-60, 2005.
64) 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, vol.6(1), pp.61-69,2005.
65) 森兼啓太,岡部信彦「手術部位感染サーベイランスに関する全国実態調査」環境感染,vol.20(4), pp.275-278, 2005.
66) 森兼啓太「大腸外科における手術部位感染」日本医事新報,vol.4214, pp.85, 2005.
67) 森兼啓太「院内感染予防」治療,vol. 87(2), pp.351-355, 2005.
68) 森兼啓太「米国における感染制御教育システム・認定制度」 INFECTION CONTROL, vol.14(5), pp. 432-435, 2005.
69) 森兼啓太「CDC の最近の状況」感染と消毒,vol.12(1),pp.19-23, 2005.
70) 森兼啓太「院内感染とその対策の基礎知識」函館五稜郭病院医誌,vol.13, pp.2-5, 2005.
71) 森兼啓太「周術期の抗菌薬予防投与」EBNursing vol.5(3),pp.351-353, 2005.
72) 森兼啓太「数字で見る CDC」 INFECTION CONTROL ,vol. 14(7), pp.588, 2005.
73) 森兼啓太「NNIS 改訂：アメリカにおける 21 世紀の医療への対応」 感染制御,vol.1(3), pp.223-227, 2005
74) 森兼啓太「第 15 回 SHEA 年次集会に参加して」Carlisle, vol.10(2), pp.11, 2005.
75) 森兼啓太「病院感染サーベイランスと経済効果」INFECTION CONTROL ,vol.14(10), pp. 903-906, 2005.
76) 森兼啓太「「APIC2005」印象記」 INFECTION CONTROL, vol.14(11), pp. 1032-1036, 2005.
77) 森兼啓太「手術部位感染サーベイランス-CDC 研修で学んだこと-」 感染症 ,vol.35(6),pp. 236-240, 2005.
78) 森兼啓太「鳥インフルエンザと新型インフルエンザの大流行」 Nurselink , vol.13, pp.5, 2005.
79) 森兼啓太「パンデミックに関して私たちが今知っておきたいこと」 INFECTION CONTROL,vol.15(1),pp. 4-7, 2006.
80) 森兼啓太「MRSA,VRE などの多剤耐性菌」感染制御,vol.2(1),pp.53-57, 2006.
81) 森兼啓太「介護施設でのノロウイルス集団」感染事例 病院設備 , vol .48(2), pp. 126-127, 2006.
82) 森兼啓太「感染制御：米国 CDC の動向と日本のトピックス」病院設備,vol .48(2),pp. 194-195, 2006.
83) ポール橘谷,太田正樹「ニパウイルス感染症」日本臨床,vol.63(12), pp. 2143-2153, 2005.
84) 大山卓昭「日本の FETP についての背景と概要」, 公衆衛生, vol .70(3), pp. 215-218,2005.
85) 大山卓昭「国内におけるサーベイランスの強化とアウトブレイク対応」Modern Physician,vol.25(5), pp.487- 491, 2005.
86) 谷口清州「WHO におけるサーベイランス強化とアウトブレイク対応」モダンフィジシアン,vol.25(5), pp.499 -503, 2005.5.
87) 谷口清州「GOARN」感染症,vol .35(3), pp.12-23, 2005.5.
88) 谷口清州「新興･再興感染症」臨床免疫学,日本臨床社, pp.540-548, 2005.4.
89) 谷口清州「ヒト感染を視点においた日本における鳥インフルエンザ対策の現状」日中医学,vol.20（2）, pp.27-31, 2006.
90) 谷口清州「鳥インフルエンザの現状と対策」ヒューマンサイエンス,vol . 17(2), pp. 20-24, 2006.
91) 谷口清州「高病原性鳥インフルエンザの現状」日本薬剤師学会雑誌 vol .58(2), pp.191-194, 2006.
92) 谷口清州「国際的な感染症対策ネットワーク」公衆衛生,vol .70(2), pp. 128-131, 2006.
93) 谷口清州「SARS とトリ型インフルエンザへの対応」小児感染免疫,vol.17(3), pp.203-209, 2005.
94) 中島一敏「鳥インフルエンザ（ヒトでの感染）」Modern Physician, vol.25(5), pp.537-541, 2005.
95) 重松美加, 菊池均，木村幹男「航者感染症およびその取り組みの現状」化学療法の領域, vol .21(10), pp. 1401-1407,2005.
96) 重松美加「SARS：重症急性呼吸器症候群」チャイル

ドヘルス,vol.8(11) pp.36-37，2005.
97) 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 vol .26(4)～27(3)，2005-2006.
98) 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,No5.404-415， 2005- 2006.
99) 多田有希,岡部信彦「風疹－なぜ再び問題に－」小児科,vol.46(4), pp. 497-505, 2005.
100) 多田有希「風疹と先天性風疹症候群はどんな病気か～感染と症状について～」チャイルドヘルス, vol .8(9), pp. 9-13, 2005.
101) 多田有希「鳥インフルエンザ」複十字 , vol .305, pp.16-17,2005.
102) 多田有希「インフルエンザの予防について」複十字, vol.307, pp.28,2006.
103) 多田有希「新型インフルエンザ」複十字 , vol .308, pp.26-27, 2006.
104) 多田有希,岡部信彦「ウイルス感染症の動向－感染症サーベイランスによる動向把握－」小児科診療, vol .68(11), pp.17-25, 2005.
105) 宮村和夫，日谷明裕，木村幹男「わが国における旅行医学の質の向上を目指して - 海外における取り組みから学ぶ」日本医師会雑誌,vol.134, pp. 1763-1769, 2005.
106) 木村幹男，狩野繁之「臨床検査 Yearbook 2006. 臨床微生物（感染症学）に関する基礎知識 – 認定臨床微生物検査技師への道しるべ -. 第 2 章 注目される感染症 7. マラリア」臨床病理レビュー, 特集,vol.134, pp.75-82 , 2006.
107) 安井良則「インフルエンザの国内外での流行について」チャイルドヘルス, vol .8, pp.787-792, 2005.
108) 安井良則「保健所における麻疹ワクチン接種率向上に向けた取り組み」公衆衛生,vol .69,pp.889-894, 2005.
109) 多屋馨子,寺田喜平編集,「Ⅳ予防接種と関連する法律」pp.191-222．実践予防接種マニュアル,中外医学社,東京,2005.11.
110) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 2.5）「麻疹(成人含む)、風疹(CRS ふくむ)、おたふくかぜ(流行性耳下腺炎)」pp.46-55,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御,中外医学社,東京,2005.3.
111) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.11）「手足口病」pp.68-70,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御,中外医学社,東京,2005.3
112) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.12)「水痘」pp.70-71, ネオエスカ感染症･アレルギーと生体防御,中外医学社,東京,2005.3.
113) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.13）「RS ウイルス感染症」,pp.71-74,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御,中外医学社,東京,2005.3.
114) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.14）「咽頭結膜熱」pp.74-75,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御．中外医学社,東京,2005.3.
115) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.15）「急性出血性結膜炎」pp.75-76,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御．中外医学社,東京,2005.3.
116) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.16）「流行性角結膜炎」pp.76-77,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御．中外医学社,東京,2005.3.
117) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.17）「ヘルパンギーナ」pp.77-79．ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御．中外医学社,東京,2005.3.
118) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.18）「無菌性髄膜炎」pp.79-82,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御,中外医学社,東京,2005.3.
119) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.19）「伝染性紅斑」pp.82-83,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御,中外医学社,東京,2005.3.
120) 多屋馨子,倉田毅編著,第 3 章 3.20）「突発性発疹」pp.83-84,ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御,中外医学社,東京,2005.3.
121) 多屋馨子,倉田毅編著,第 4 章 5「ジフテリア・破傷風・百日咳」pp.110-116, ネオエスカ感染症・アレルギーと生体防御,中外医学社,東京, 2005.3.
122) 岡部信彦,多屋馨子,監修,2005「予防接種に関する Q&A 集」 pp.1-98,社団法人細菌製剤協会,東京,2005.9.
123) 西尾治「ノロウイルスの知識と感染予防」pp.10-48, ノロウイルス現場対策，丸山務監修，幸書房，2006.
124) 森兼啓太「IV 手術部位感染」 pp.94-98 ,大久保憲（監修） エビデンスに基づいた ICT のための感染対策トレーニングブック,メディカ出版,東京, 2005.
125) 森兼啓太「V 手術部位感染サーベイランス」pp.131-136,大久保憲（監修）エビデンスに基づいた ICT のための感染対策トレーニングブック,メディカ出版,東京,2005.
126) 森兼啓太「II-2 SSI サーベイランスの実践」

pp.23-31,竹末芳生（編集）　手術部位感染対策の実践,医薬ジャーナル社,東京,　2005.
127) 森兼啓太「Ⅲ-7　医療関連感染アウトブレイクへの対応」 pp.278-283,ICP テキスト編集委員会(監修）,ICP テキスト　メディカ出版,東京,2006.
128) 中島一敏「麻疹ゼロ対策と連動する風疹対策」pp.218-230 安次嶺馨,知念正雄(編集)　日本から麻疹が無くなる日―沖縄はしかゼロプロジェクト活動の記録,日本小児医事出版,東京,2005.
129) 廣田良夫,葛西健(監修),小笹晃太郎他(編),中島一敏他(訳) 2005年版米国疾病管理センター（CDC）予防接種諮問委員会（ACIP）勧告　インフルエンザの予防と対策　日本公衆衛生協会,東京,2005.
130) 国立感染症研究所 感染症情報センター, 同 ウイルス三部. インフルエンザパンデミック事前対策計画用チェックリスト,（翻訳）,2005.4.
131) 国立感染症研究所 感染症情報センター第一室,WHO の世界インフルエンザ事前対策計画：WHO の役割と前パンデミック期とパンデミック期における国家レベルへの対策への提言（翻訳）, 2005.5.
132) 国立感染症研究所（倉田毅,杉山和良,重松美加,富田康浩,安藤秀二,篠原克明,高木弘隆）,感染性物質の輸送規則に関するガイダンス (WHO/CDS/CRS/LYO/2005.22),（翻訳）, 2006.3.
133) 木村幹男.「4. 原虫症、寄生虫症．マラリア (バベシア症を含む)」pp.178-180,今日の治療指針2006年版 (山口 徹, 北原光夫, 福井次矢 総編集), 医学書院,　2006.
134) 安井良則「環境保健の実際」pp.77-83,保育保健活動の実際,全国社会福祉協議会, 2006.

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1) Tanaka-Taya K, Okabe N, Current situation in Japan with Rubella, Measles, Mumps and Chickenpox in Japan. 2nd International Workshop in Vaccinology, 2005.7.
2) Suzuki Y, Tanaka-Taya K, Nakashima K, Ohyama T, Ohkusa Y, Okabe N, Aggravation of Enterovirus Infection Represented by Hand-foot-mouth Disease(HFMD) and Herpangina- Study on risk factors for severe HFMD- , 第 3 回アジア小児感染症学会, 2006.3.
3) Satoh H, Tanaka-Taya K, Okabe N, Japanese encephalitis in Japan； Seroepidemiology of antibodies to Japanese encephalitis virus in humans and swine. 第 3 回アジア小児感染症学会, 2006.3.
4) Morikane K, Edwards J, Tierney B, Horan T,　Risk adjustment of surgical site infection rates following gastric surgery: Results from the National Nosocomial Infections Surveillance system.　The 15th annual scientific meeting of the Society for Healthcare Epidemiology of America.　, Los Angeles, California, poster, 2005. 4.11.
5) Morikane K, Konishi T, Nishioka M, Harihara Y, Kobayashi H,　Implementation and establishment of nationwide surgical site infections surveillance database in Japan.　The 32nd annual educational conference of the Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Baltimore, Maryland, poster, 2005 .6. 21.
6) Morikane K. Preventing surgical site infection.　The 15th meeting of the Chinese Medical Association, Division of Surgery.　Jinan, China, seminar, 2005.10.29.
7) Morikane K, Konishi T, Harihara Y, Nishioka M, Kobayashi H,　Evaluation of nationwide surgical site infections surveillance system in Japan.　The 16th annual scientific meeting of the Society for Healthcare Epidemiology of America. Chicago, Illinois, oral presentation, 2006.3.19.
8) Suzuki Y. et al., Aggravation of Enterovirus Infection Represented by Hand-foot-and-mouth Disease: study on risk factors causing aggravation, (poster presentation).Third Asian Congress of Pediatric Infectious Disease, Philippines, 2006.
9) Kamigaki T. et al., A nosocomial outbreak of salmonella Enteritidis in Ibaraki, Japan 2004, (poster presentation). Third Biregional TEPHINET Scientific Conference, India, 2005.
10) Tosaka N.　et al.,　An outbreak of shigellosis among airline passengers travelling from Hawaii to Japan, 2004, (poster presentation). Third Biregional TEPHINET Scientific Conference, India, 2005.
11) Moriyama K. et al., Outbreak of Multidrug- Resistant Enterococucus faecium with transferable vanB class Vancomycin Resistance in a hospital in Japan, (poster presentation). Third Biregional TEPHINET Scientific Conference, India, 2005.

12) Yamaguchi R. et al., A multi- prefectural outbreak of acute encephalopathy of unknown etiology in Northern Japan, (poster presentation). Third Biregional TEPHINET Scientific Conference, India, 2005.
13) Ohkusa Y, Shigematsu M, Taniguchi K, Second Year of the Survei llance on Over-the-Counter Medication Sales Data in Japan, 2005 Syndromic Surveillance Conference, 2005.9.
14) Ohkusa Y, Tammy S, Sugiura H, et al., Experimental Syndromic Surveillances in Japan Using Three Aspects: OTC, Outpatients Visits and Ambulatory, 2005 Syndromic Surveillance Conference, 2005.9.
15) Ohkusa Y, An Experimental Syndromic Surveillance in Japan, Training Course on Prevention and Crisis Management of Biological Terrorism, Malaysia, 2005.7.
16) Ohkusa Y, Tammy S , Sugiura H, et al., Syndromic Surveillance as a Control Measure for Bioterrorism Attack, the 5th World Congress of International Health Economics Association, 2005.7.
17) Shigematsu M,Special Session: Tsunami - Personal Experiences of Medical Personnel in Affected Areas; Banda Aceh: Qualitative Rapid Assessment for Infectious Diseases and Identification of Further Needs of Support. 9th Conference of the International Society of Travel Medicine, 2005.5.
18) Shigematsu M, Okabe N,Trends of statutory reporting cases of travel associated Typhoid fever, paratyphoid fever, cholera, and HAV infection in recent five years in Japan. 9th Conference of the International Society of Travel Medicine, 2005.5.
19) Shigematsu M,Public Health Elements for Control and Prevention of Transmissions. The Second International Symposium on Transmission Models for Infectious Diseases-Preparing for Pandemic Influenza, 2006.1.
20) Ohkusa Y, Sugawara T, Sugiura H, Kawaguchi Y, Shigematsu M, Taniguchi K, Okabe N, Experimental Syndromic Surveillance In Japan using Three Aspects: OTC, Outpatient Visits and Ambulance Transfer, 2006.3.
21) Taniguichi K, Preparedness and Reponse for Bioterrorism. International symposium for counter-bioterrorism, Busan, Korea, 2005.7.
22) Kimura M, Kawakami K, Hashimoto M, Hamada M. Malaria prevention and stand-by emergency treatment among Japanese travelers. 9th Conference of the International Society of Travel Medicine. Lisbon, 2005.
23) Kimura M. Overview and update on the development of travel medicine in Japan. GeoSentinel Site Directors' Meeting, Cascais, 2005.
24) Yoshikawa H, Kimura M, Ogawa M, Rolain J-M, Raoult D, Laboratory confirmed Mediterranean spotted fever in a Japanese traveler to Kenya. 4th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases. Logroño (La Rioja), 2005
25) Kimura M, Nakamura T, Nawa Y. Evaluation of intravenous metronidazole treatment in severe amebiasis. 16th Internacional Congress for Tropical Medicine and Malaria. Marseille, 2005.
26) Yasui Y. About infectious disease surveillance in Japan, influenza in particular. The Second Workshop on Public Health – Public Health in the 21st Century. Beijing, 2005.9.

２．国内学会

1) 上野久美,中島一敏,多屋馨子,岡部信彦「感染症発生動向調査における5年間の地域別麻疹流行状況の解析」第 9 回日本ワクチン学会,大阪府大阪市,2005.10.
2) 上野久美,多田有希,多屋馨子,岡部信彦「感染症発生動向調査における急性脳炎の疫学」第 37 回日本小児感染症学会,三重県津市,2005.11.
3) 佐藤 弘,多屋馨子,逸見佳美,岡部信彦「測定方法による風疹抗体価の比較検討及びその臨床応用について」第 46 回日本臨床ウイルス学会,福岡県福岡市,2005.6.
4) 佐藤 弘,多屋馨子,新井 智,高崎智彦,倉根一郎,岡部信彦,担当都道府県ならびに都道府県衛生研究所「ヒトおよびブタにおける全国の日本脳炎抗体保有状況（感染症流行予測調査事業より）」第 9 回日本ワクチン学会,大阪府大阪市,2005.10.
5) 佐藤 弘,多屋馨子,堀内善信,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による百日咳，ジフテリア，破傷風の抗体保有状況調査」第 37 回日本小児感染症学会,三重県津市,2005.11.
6) 多屋馨子「MR ワクチン法改正に伴う最新情報－

その他の予防接種情報を含めて－」船橋市医師会（小児科医会・内科医会）講演会,2006.3.

7) 多屋馨子「最新の予防接種の話題」山梨県小児科医会学術集会,2006.3.
8) 多屋馨子「第二分科会 保育所における感染症対策」平成 17 年度保育所保育・保健推進セミナー,2006.3.
9) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題について」横浜市医師会,横浜市医師会学校医部会,2006.3.
10) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題」蕨戸田市医師会予防接種学術講演会,2006.3.
11) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題」豊島区医師会講演会,2006.2.
12) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題」大宮医師会・大宮小児科医会講演会,2006.2.
13) 多屋馨子「最新の予防接種の話題」水鏡会講演会,2006.2.
14) 多屋馨子「感染症を予防するために-予防接種の役割-～子ども達と先生方を感染症から守るために～」練馬区保健講演会,2006.1.
15) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題」高崎市小児科医会,2006.1.
16) 安井良則,多屋馨子,高木弘隆「集団保育施設における感染症について」文京区保育園講演会,2006.1.
17) 多屋馨子「集団保育施設における感染症について -ノロウイルスと新しい予防接種制度」 文京区保育園講演会,2006. 1.
18) 多屋馨子「実地医家のためのワクチン接種の実際－インフルエンザワクチンを中心として－」尼崎市内科医会,2006. 1.
19) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題」京都市市医会臨時総会,2005.12.
20) 多屋馨子「感染症だより」第 534 回小児科学会東京都地方会講話会,2005.12.
21) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題」伊勢崎市佐波郡医師会講演会, 2005.12.
22) 鈴木葉子,多屋馨子,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 重症化に関連するリスク因子の検討」第 37 回小児感染症学会. 2005.11.
23) 多屋馨子「予防接種に関する最新の話題について」平成 17 年度感染症危機管理・予防接種実務担当者研修会, 2005.11.
24) 多屋馨子「サーベイランスの見方と保育園での感染症対策～予防接種で防げる感染症は防ぎたい子ども達と先生方を守るために～」新宿区保育園講演会, 2005.11.
25) 多屋馨子「予防接種 最新の話題」草加・八潮医師会 10 月学術講演会, 2005.10.
26) 多屋馨子「予防接種の最近の話題」南多摩地区病診連携懇話会,2005.10.
27) 多屋馨子,佐藤 弘,上野久美,荒木和子,森兼啓太,吉川哲史,中野貴司,庵原俊昭,堤 裕幸,浅野喜造,神谷 齊,岡部信彦「水痘、ムンプスによる入院例に関する検討～全国アンケート調査より～」第 9 回日本ワクチン学会．2005.10.
28) 馬場宏一,多屋馨子,奥野良信,神谷 齊,岡部信彦,厚生労働科学研究「ワクチンの意義と安全性の健康教育と情報伝達に関する研究」班：「学校伝染病などの感染症と予防接種に関するアンケート」の試み-ワクチンの施設内流行阻止効果を検証する-第 9 回日本ワクチン学会シンポジウム,2005.10.
29) 堀内善信,豊泉裕美,片岡紀代,落合雅樹,山本明彦,蒲池一成,高橋元秀,多屋馨子,佐藤 弘,岡部信彦,荒川宜親,倉田 毅「ワクチンの安全性・有効性と評価システム」第 9 回日本ワクチン学会,2005.10.
30) 多屋馨子「予防接種に関する最近のトピックス」岡崎市医師会予防接種協力医講演会,2005.10.
31) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題」宇都宮市 Wednesday 会,2005.9.
32) 多屋馨子「予防接種に関する最近の話題」伊丹市医師会講演会,2005.9.
33) Tanaka-Taya K, Hashimoto M, Okabe N,Multiple simultaneous vaccinations among Japanese travelers, 学友会セミナー,2005.7.
34) 多屋馨子「予防接種に関する最新の話題」第 1 回大阪小児感染症研究会,2005.7.
35) 多屋馨子「子どもと感染症～保育園の子ども達と先生方を感染症から守りたい～」東京都保育園協会講演会,2005.7.
36) 多屋馨子「心臓移植 移植後の治療・フォローアップの問題点 Vaccination for the transplant recipients」第 41 回日本小児循環器学会,2005.7.
37) 越田理恵,中村英夫,五十嵐登,多屋馨子,岡部信彦「金沢市の水痘・流行性耳下腺炎の流行状況と小児科医への予防接種に関する意識調査」第 284 回日本小児科学会北陸地方会,2005. 6.
38) 多屋馨子「わが国の風疹および先天性風疹症候群(congenital rubella syndrome:CRS)の現状と対策」

第 23 回日本産婦人科感染症研究会学術講演会シンポジウム 2 先天性風疹症候群ー急増への対策,2005.5.

39) 多屋馨子「海外からの新興感染症と集団感染への対応」第 41 回大阪小児保健研究会,2005.4.

40) 山崎貢,松本昌門,松井博範,栄賢司,岩出義人,福島博,八柳潤,尾畑浩魅,甲斐明美,荒川英二,伊藤健一郎「腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒類似毒素（TDH-related hemolysin: TRH）遺伝子型の違いによる TRH 溶血活性及び TDH 産生量の差に関する検討」第 79 回日本感染症学会総会,名古屋,2005.4/14～15.

41) 岩崎知美,森田耕司,渡辺登,金森政人,倉園貴至,山口正則,鈴木理恵子,沖津忠行,伊藤健一郎「下痢原性大腸菌の *eae* 遺伝子を中心とした病原性関連遺伝子多型」第 79 回日本細菌学会総会,金沢,2006.3/29～31.

42) 陸彦,伊予田淳、伊藤健一郎、齋藤剛仁、渡邉治雄「LEE 非保有型 EHEC に存在する新規免疫グロブリン結合蛋白質は宿主細胞への接着因子として機能する」第 79 回日本細菌学会総会,金沢,2006.3/29～31.

43) 西尾治「食品を介するノロウイルスによる食中毒の現状と対策」 第 46 回日本臨床ウイルス学会, 福岡県福岡市, 2005. 6.

44) 杉枝正明, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治「*Norovirus* による集団発生事例について」 第 46 回日本臨床ウイルス学会,福岡県福岡市, 2005.6.

45) 杉枝正明, 稲吉恵, 足立聡, 三輪好伸, 増田高志, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治「*Norovirus* による集団発生事例について」 平成 17 年度地方衛生研究所全国協議会 第 20 回関東甲信静支部ウイルス研究部会,群馬県前橋市, 2005.9.

46) 原俊吉, 大石陽子, 山上隆也, 小澤茂, 西尾治「2004 年度冬季に山梨県内の高齢者施設で発生したノロウイルス急性胃腸炎集団事例」 平成 17 年度地方衛生研究所全国協議会 第 20 回関東甲信静支部ウイルス研究部会,群馬県前橋市, 2005.9.

47) 齋藤美香, 木村博一, 塚越博之, 星野利得, 小澤邦壽, 島田慎一, 瀬川由加里, 貞升健志, 長谷川道弥, 新川奈緒美, 藏元強, 西尾治「2004 年に本邦で検出された風疹ウイルスの分子疫学」 平成 17 年度地方衛生研究所全国協議会 第 20 回関東甲信静支部ウイルス研究部会, 群馬県前橋市, 2005.9.

48) 秋山美穂, 愛木智香子, 西尾治, 山下育孝, 大瀬戸光明, 杉枝正明, 古屋由美子, 田中俊光, 宇宿秀三 「輸入食品のノロウイルス汚染状況について」日本食品衛生学会第 90 回学術講演会,埼玉県さいたま市, 2005.10.

49) 西尾治「ノロウイルスによる感染症, 食中毒の現状と予防」平成 17 年度獣医公衆衛生講習会,山口県山口市, 2005.11.

50) 山下育孝, 豊嶋千俊, 近藤玲子, 大瀬戸光明, 杉枝正明, 古屋由美子, 田中俊光, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治「輸入生鮮魚介類及び急性胃腸炎患者から検出されたノロウイルス（NV）の分子疫学的解析」第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 神奈川県横浜市, 2005.11.

51) 西田知子, 中尾利器, 岩田祐之, 秋山美穂, 愛木智香子, 西尾治「山口県内で発生したノロウイルスによる胃腸炎」 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 神奈川県横浜市, 2005.11.

52) 古屋由美子, 片山丘, 宮原香代子, 西尾治 「小学校におけるサポウイルスの集団発生」 第 53 回日本ウイルス学会学術集会,神奈川県横浜市, 2005.11.

53) 秋山美穂, 愛木智香子, 杉枝正明, 入谷展弘, 吉澄志磨, 西田知子, 田中俊光, 中込治, 岡部信彦, 西尾治 「ノロウイルスの Mexico 株類似リコンビナント株の国内での検出状況」 第 53 回日本ウイルス学会学術集会,神奈川県横浜市, 2005.11.

54) 愛木智香子, 杉枝正明, 山下育孝, 福田伸治, 吉澄志磨, 西田知子, 田中俊光, 岩切章, 田村務, 大矢英紀, 秋山美穂, 岡部信彦, 西尾治 「欧米で流行している G2/4 変異型ノロウイルスの国内での検出状況」第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 神奈川県横浜市, 2005.11.

55) 松岡由美子, 平野敬之, 小河正雄, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治 「熊本市, 佐賀県, 大分県で検出されたノロウイルス（NV）の分子疫学について」 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 神奈川県横浜市, 2005.11.

56) 大石絢子, 松井清彦, 藤本嗣人, 武下文彦, Sakumar Saha, 斎藤正明, 西尾治, 奥田研爾「2000 から 2003 年の 3 年間における横浜市内のアデノウイルス感染状況」 第 53 回日本ウイルス学会学術集会,神奈川県横浜市, 2005.11.

57) 森兼啓太「SSI サーベイランスの実際－外科医の協力を得るには－」 第 79 回日本感染症学会・

教育セミナー,名古屋市,講演,2005.4.15

58) 森兼啓太「SSI サーベイランスの実際」癌研究会付属有明病院院内感染対策セミナー,東京,講演, 2005.4.21.

59) 森兼啓太「院内感染対策の基礎と実際」第 13 回県央・西蒲感染症研究会,新潟県燕市,特別講演, 2005.4.22 .

60) 森兼啓太「SSI サーベイランスの実際」東京都済生会中央病院院内感染対策講習会,東京,講演, 2005.4.26.

61) 森兼啓太「経路別感染予防策と感染症法」川越市保健所院内感染対策研修会,埼玉県川越市,講演 2005. 5.26.

62) 森兼啓太「院内感染って何？」洗心洞大学市民講座,横浜市,講演, 2005.6.29.

63) 森兼啓太「最近の院内感染制御の動向と外科手術部位感染の防止」愛媛大学院内感染防止研修会, 愛媛県東温市,講演, 2005.7.1.

64) 森兼啓太「院内感染サーベイランスとアウトブレイク対応」川越市保健所院内感染対策研修会,埼玉県川越市,講演, 2005.7.7.

65) 森兼啓太「周術期の感染対策」癌研究会付属有明病院院内感染対策セミナー,東京,講演, 2005.7.13.

66) 森兼啓太「サーベイランスで院内感染を減らそう！」日本大学医学部第 1 回手術部位感染対策セミナー,東京,講演, 2005.7.14.

67) 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」 埼玉医科大学卒後教育委員会研修会,埼玉県毛呂山町,特別講演, 2005.7.19.

68) 森兼啓太「SSI 防止ガイドラインとサーベイランスーその建前と本音ー」第 60 回日本消化器外科学会・イブニングセミナー,東京,講演, 2005.7.21.

69) 森兼啓太「米国にみる SSI 対策の現状と将来」第 60 回日本消化器外科学会・ランチョンセミナー, 東京,講演, 2005.7.22.

70) 森兼啓太「最近の院内感染制御の動向と外科手術部位感染の防止」藤枝市立総合病院院内感染対策研修会,静岡県藤枝市,講演, 2005.7.26.

71) 森兼啓太「院内感染は減らせるのか？ー対策の基本と周術期感染対策ー」君津中央病院院内感染対策講習会,千葉県木更津市,講演, 2005. 9.7 .

72) 森兼啓太「鳥インフルエンザー新型インフルエンザ大流行の序章か？ー」第 11 回高知県感染症研究会,高知県高知市,特別講演, 2005.9.16.

73) 森兼啓太「サーベイランスで SSI を減らそう！」徳島大学病院手術部位感染対策セミナー,徳島県徳島市,講演, 2005.9.22.

74) 森兼啓太「日本病院感染サーベイランスの現状と将来」第 7 回臨床外科共同研究会リスクマネジメント分科会,大阪市,講演, 2005.9.24.

75) 森兼啓太「SSI 防止対策の取り組み」 東邦大学大森病院手術部位感染対策セミナー,東京,講演, 2005.10.3.

76) 森兼啓太「手術部位感染の減少を目指してー手術部スタッフの果たす役割ー」第 27 回日本手術医学会総会,東京,招請講演, 2005.10.8.

77) 森兼啓太「職業感染のない安全な職場を目指して」世田谷区医師会・院内環境整備推進講演会, 東京,講演, 2005.10.12.

78) 森兼啓太「感染制御：米国 CDC の動向と日本のトピックス」第 34 回日本医療福祉設備学会・ランチョンセミナー,東京,講演, 2005.11. 9.

79) 森兼啓太「介護施設での施設内感染事例」第 34 回日本医療福祉設備学会,東京,シンポジウム, 2005. 11.9.

80) 森兼啓太「鳥インフルエンザ 第 11 回東北院内感染対策研究会」仙台市,講演, 2005.11.12.

81) 森兼啓太「術後感染の減少を目指して」信州大学医学部感染防止講演会,長野県松本市,講演, 2005. 12.9.

82) 森兼啓太「手術部位感染の減少を目指して」第 18 回信州日和見感染懇話会,長野県松本市,特別講演, 2005. 12.10.

83) 森兼啓太「新型インフルエンザ」川越市保健所・新型インフルエンザ研修会,埼玉県川越市,講演, 2005. 12.20.

84) 森兼啓太「手術部位感染の減少を目指して」自治医科大学大学院特別講演会,栃木県下野市,講演, 2006.1.12.

85) 森兼啓太「手術部位感染対策」 国立病院機構院内感染対策研修会, 熊本市,講演, 2006.1.25.

86) 森兼啓太「最近の院内感染対策の潮流ー手術部位感染対策の実践からー」富山大学感染予防講習会, 富山市,講演, 2006.1.27.

87) 森兼啓太「病院感染制御の職種間連携ー各々の特性を生かしてー」第 27 回日本病院薬剤師会近畿学術大会,和歌山市,講演, 2006.1.29.

88) 森兼啓太「鳥インフルエンザと新型インフルエンザ」福井県新型インフルエンザ対策研修会,福井市, 講演, 2006. 2.7.

89) 森兼啓太「院内感染サーベイランスについて」第19回公衆衛生情報研究協議会研究会,秋田市,講演, 2006. 2.9.
90) 森兼啓太「感染症と感染制御：日本は先進国なのか」Bayer SSI Symposium in Mie,三重県津市,特別講演, 2006.2.17.
91) 森兼啓太「アメリカ合衆国における病院感染制御の現状」第21回日本環境感染学会学術総会,東京, 講演, 2006.2.24.
92) 森兼啓太「CDC ガイドラインを考える」 第21回日本環境感染学会学術総会,東京,シンポジウム, 2006. 2.25.
93) 森兼啓太「各国の MRSA 対策の現状」 第21回日本環境感染学会学術総会,東京,シンポジウム, 2006.2.25.
94) 森兼啓太,谷口清州,岡部信彦「厚生労働省事業「院内感染対策サーベイランス」における解析結果の還元・提供に関する研究」第 21 回日本環境感染学会学術総会,東京,ポスター, 2006.2.25.
95) 森兼啓太「インフルエンザ対策」第 21 回日本環境感染学会学術総会・ICP 講習会,東京, 2006.2.25.
96) 森兼啓太「手術部位感染対策およびそのサーベイランス」越谷市立病院院内感染対策研修会,埼玉県越谷市,講演, 2006.3.2.
97) 森兼啓太「感染制御におけるクリティカルパスの役割」第 11 回呼吸器クリティカルパス研究会,東京,特別講演, 2006.3.25.
98) 森兼啓太「サーベイランスによる手術部位感染の減少」第 106 回日本外科学会学術集会,東京,シンポジウム, 2006.3.30.
99) 神垣太郎他「サルモネラ症感染に関するリスク因子」（口演）.第 21 回日本環境感染学会,東京都,2006.
100) 登坂直規他「O 病院におけるバンコマイシン耐性腸球菌保菌者集団発生事例に関する疫学調査」（口演）,第 21 回日本環境感染学会,東京都,2006.
101) 神垣太郎他「大学病院における Salmonella Enteritidis 集団発生事例」（口演）,日本公衆衛生学会,北海道,2005.
102) 太田正樹他「秋田県で発生した急性脳炎・脳症の発症危険因子に関する解析疫学」(ポスター発表), 日本公衆衛生学会,北海道,2005.
103) 山口亮他「新潟県、秋田県、山形県で発生した急性脳炎・脳症の記述疫学について」（ポスター発表）,日本公衆衛生学会,北海道,2005.
104) 大日康史,杉浦弘明他 7 名「症状における症候群サーベイランスのための基礎的研究」第 48 回感染症学会中日本地方会,2005.
105) 西村龍夫,大日康史「Hib の疾病負担に関する検討」ワクチン学会,2005.10.
106) 大日康史,菅原民枝,岡部信彦「パンデミック時の抗ウイルス剤及びワクチンの使用優先順位に関する調査研究」ワクチン学会,2005.10.
107) 菅原民枝,大日康史他 7 名「水痘・ムンプス予防接種定期接種化の費用対効果分析」ワクチン学会,2005.10.
108) 大日康史「リアルタイム・アウトブレーク・サーベイランスシステムの研究状況とご協力のお願い」外来小児科学会,2005.8.
109) 大日康史,重松美加他 3 名「OTC 売り上げデータを用いての症候群サーベイランスの試み」第 79 回日本感染症学会総会,2005.4
110) 西藤なるを,大日康史他 4 名,「ML インフルエンザ流行前線情報データベース 2004/2005 シーズン報告と今後の方向性」 第 79 回日本感染症学会総会会,2005.4.
111) 菅原民枝,大日康史他 7 名「水痘・ムンプス予防接種 定期接種化の費用対効果分析」感染症学会,2005.4
112) 大日康史,西村龍夫「HIb の疾病負担に関する検討」外来小児科学会,2005.4.
113) 谷口清州「SARS とトリ型インフルエンザへの対応」第 36 回日本小児感染症学会,第 20 回 ICD 講習会．名古屋, 2005.4.
114) 谷口清州「最近の感染症の話題～インフルエンザを中心に」入間狭山医師会感染症研究会,埼玉, 2005.4.
115) 谷口清州「高齢者施設における感染症対策～ノロウイルスを中心に」福山市感染症研究会, 福山市,2005.5.
116) 谷口清州「国際的視野から見た最近のインフルエンザの動向」埼玉県感染症研究会,さいたま市,2005.7.
117) 谷口清州「インフルエンザのパンデミック対策と最近のトピックス」豊橋市医師会インフルエンザ講習会,豊橋市,2005.8.
118) 谷口清州「細菌の感染症の話題」三重県小児科医会,津市, 2005.10.
119) 谷口清州「鳥インフルエンザはヒトの世界に侵入するか」37 回小児感染症学会,津市, 2005.11.

120) 谷口清州「感染症危機管理」　宮城県健康危機管理研修会,仙台市, 2006.1.
121) 谷口清州「鳥インフルエンザと新型インフルエンザ」第 33 回集中治療医学会学術集会,大阪市, 2006.3.
122) 中島一敏 「わが国における風疹流行と先天性風疹症候群の発症状況と緊急提言」 第 108 回日本小児科学会特別講演「風疹の流行と先天性風疹症候群増加の危機における緊急提言」東京,2005.
123) 中島一敏,多田有希,多屋馨子,岡部信彦「2000～2005 年の風疹及び先天性風疹症候群の発生動向－」感染症発生動向調査より－第 9 回ワクチン学会,大阪, 2005.10.
124) 中島一敏 「スマトラ沖地震災害における感染症対策（シンポジウム)」 第 49 回全国環境衛生大会シンポジウム「災害発生と生活衛生」, 新潟,2005.10.
125) 中島一敏 「社会福祉施設における感染症の基礎知識」 大分県社会福祉施設看護担当研修会,大分, 講演, 2005.6.
126) 中島一敏「日本と世界の感染症と対策」国立保健医療科学院研修　　和光,講演, 2005.7.
127) 中島一敏「社会福祉施設における感染症の対策と施設内サーベイランス－施設内症状別発生動向調査－」大分県中津保健所感染症対策検討会,中津, 講演, 2005.10.
128) 中島一敏「高病原性鳥インフルエンザについて」第三回日本防護服研究会学術集会,東京,講演, 2006. 2.
129) 中島一敏 「海外からの注意すべき共通感染症」ヒトと動物の共通感染症シンポジウム,東京,2006.3.
130) 中島一敏「茨城における抗高病原性鳥インフルエンザ A/H5N2 血清抗体検査の意義」 第 7 回生物兵器対処セミナー,東京,講演, 2006.3.
131) 重松美加「バイオテロ対策会議からの報告」感染症アウトブレイクの脅威に対処するための数理モデリングに関する研究集会,東京,2005.8.
132) 村上義孝，橋本修二，川戸美由紀，泉田美知子，永井正規，多田有希，重松美加，谷口清州「感染症発生動向調査に基づく検討　第 1 報　都道府県別警報基準値の可能性」第 64 回日本公衆衛生学会総会,札幌,2005.9.
133) 川戸美由紀，橋本修二，村上義孝，泉田美知子，永井正規，多田有希，重松美加，谷口清州「感染症発生動向調査に基づく検討」第 2 報　都道府県別罹患数推計,第 64 回日本公衆衛生学会総会,札幌,2005.9.
134) 泉田美知子，永井正規，村上義孝，橋本修二，川戸美由紀，多田有希，重松美加，谷口清州「感染症発生動向調査に基づく検討　第 3 報　基幹定点対象疾患の情報の有効活用方法の検討」第 64 回日本公衆衛生学会総会,札幌,2005.9.
135) 橋本修二，川戸美由紀，村上義孝，泉田美知子，永井正規，多田有希，重松美加，谷口清州「感染症発生動向調査に基づく検討　第 4 報　全数把握対象疾患の流行状況」第 64 回日本公衆衛生学会総会,札幌,2005.9.
136) 重松美加「SARS and Avian influenza in Japan」国際厚生事業団（JICWELS）セミナー,東京,講演 2005.10.
137) 重松美加「新興・再興感染症の動向」平成 17 年度 第 2 回健康危機管理保健所長等研修会,和光, 講演, 2005.10.
138) 安藤秀二，小川基彦，重松美加，岸本寿男，山本徳栄「国内のリケッチア感染症の現状（2005 年)」第 12 回リケッチア研究会・第 23 回日本クラミジア研究会,東京,2005.10.
139) 重松美加，大日康史「バイオテロ・パンデミックにおける早期検知の手法:症候群サーベイランスの試み」第 5 回日本バイオセーフティ学会総会, 横浜,2005.11.
140) 重松美加「新興・再興感染症の動向」平成 17 年度 第 4 回健康危機管理保健所長等研修会,和光, 講演, 2006.1.
141) 安藤秀二，小川基彦，重松美加，山下和予，岸本寿男「日本のリケッチア感染症の現状」平成 17 年度希少感染症診断技術研修会,東京,2006.2.
142) 安藤秀二，小川基彦，重松美加，岸本寿男「衛生微生物技術協議会リケッチア症小委員会調査票について」平成 17 年度希少感染症診断技術研修会,東京,2006.2.
143) 多田有希「感染症の疫学」第 8 回国際感染症等専門家要請研修, 2005.9.
144) 多田有希「咽頭結膜熱の感染症発生動向調査における迅速診断キットの影響」日本小児感染症学会総会,学術集会,2005.11.
145) 多田有希「感染症への対応」平成 17 年度　児童生徒の心身の健康問題に対応するための指導者の養成を目的とした研修,独立行政法人　教員研

修センター,2005.12.
146) 多田有希「感染症発生動向調査（海外の動向と日本の状況)」第 21 回日本感染症学会シンポジウム「感染症対策の危機に挑戦する電子化システム」,2006.2.
147) 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.
148) 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.
149) 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.
150) 菊池　均，木村幹男「第 9 回国際旅行医学会大会での予防接種関連トピックスについて」第 9 回海外渡航者健康学会, 2005.
151) 木村幹男．シンポジウム I「旅行医学とイミグラントディスンの黎明」．旅行医学における migrant medicine. 第 46 回日本熱帯医学会大会， 2005.
152) 安井良則，藤井史敏，柴田仙子，多屋馨子，岡部信彦「堺市の予防接種対策について保育施設における水痘・ムンプスの罹患状況とワクチン接種状況に関する検討」日本ワクチン学会， 2005.10.
153) 安井良則，藤井史敏「BCG ワクチン直接接種に関する堺市の対応について」日本ワクチン学会, 2005.10.
154) 安井良則「日本国内の鳥インフルエンザについて」東北ブロック感染症危機管理会議, 2005.11.
155) 安井良則「結核対策及び院内感染について」公立昭和病院院内感染研修会, 2005.5.
156) 安井良則「保育施設等乳幼児の集団生活の場における感染症について」平成 18 年度保育所保健・衛生専門研修会, 2005.7.
157) 安井良則「院内感染対策について」同仁会研修会,2005.7.
158) 安井良則「高齢者施設における感染症（結核対策・疥癬を中心に)」高齢者施設における感染症予防研修会,川越市保健所,2005.8.
159) 安井良則「高齢者施設における感染症（ウイルス感染)」高齢者施設における感染症予防研修会,川越市保健所,2005.10.
160) 安井良則「2005 年予防接種法改正における麻疹・風疹ワクチン運用の変更点及び問題点」小平市医師会研修会, 2005.10.
161) 安井良則「障害児施設における感染症対策について」もず園・つぼみ園講演会, 2005.10.
162) 安井良則「高齢者施設における感染症」高齢者施設における感染症予防研修会,川越市保健所, 2005.10.
163) 安井良則「SARS & インフルエンザ」広島市佐伯区医師会,2005.11.
164) 安井良則「乳幼児の集団生活施設における感染症対策について」松山市保育士研修会， 2005.11.
165) 安井良則「2005 年予防接種法改正における麻疹・風疹ワクチン運用の変更点及び問題点」新潟市医師会研修会, 2005.11.
166) 安井良則「水と空気を媒介する感染症について」東京都特別区環境衛生監視研修会, 2005.12.
167) 安井良則「インフルエンザ（鳥インフルエンザ、新型インフルエンザを含めて)」堺市市民講座 2005.12.
168) 安井良則「インフルエンザ」文京区保育園講習会, 2006.1.
169) 安井良則「インフルエンザ（鳥インフルエンザ、新型インフルエンザを含めて)」世田谷区医師会研修会， 2006.1.
170) 安井良則「新型インフルエンザ」近畿中央胸部疾患センター研修会， 2006.2.
171) 安井良則「2005 年予防接種法改正における麻疹・風疹ワクチン運用の変更点及び問題点」多摩小児感染症・免疫研究会, 2006.2.
172) 安井良則「2005 年予防接種法改正における麻疹・風疹ワクチン運用の変更点及び問題点」東京都北区医師会研修会, 2006,2.
173) 安井良則「感染性胃腸炎の発生動向と病態および感染経路について」日本環境感染症学会 ICP 講習会， 2006.2.
174) 安井良則「インフルエンザ（鳥インフルエンザと新型インフルエンザ)」堺市医師会研修会,2006.3.
175) 安井良則「インフルエンザ（鳥インフルエンザと新型インフルエンザ)」山形県村山保健所感染症防疫研修会, 2006.3.
176) 山下和予「病原体サーベイランスの現状と課題」地域における病原体サーベイランスに関する講演会,埼玉県さいたま市,2005.10.
177) 山下和予「感染症サーベイランスから見たウイル

ス性下痢症」第 37 回日本小児感染症学会ワークショップ 1「ウイルス性下痢症－特にノロウイルス感染症の動向－」,三重県津市,2005.11.

．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,2003.12～2004.5. 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, 2005.10.～2006.3.(8 月 8 日現在継続中), http://idsc.nih.go.jp/disease/influenza/inf-keiho/index.html.

4) 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.

5) 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.

6) 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

7) 感染症情報センター・ トリインフルエンザの分布図, 2005.4.4 http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/toriinf-map.html.

8) 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 17 年度版）, 2005.11. http://idsc.nih.go.jp/disease/influenza/fluQA/index.html.

9) 感染症情報センター・インフルエンザパンデミック WHO による情報・ガイドライン,2005.4 http://idsc.nih.go.jp/disease/influenza/pandemic-who.html

10) 佐藤弘,丹生隆,上野久美,北本理恵,荒木和子,新井智,多屋馨子.「全国日本脳炎ウイルス抗体保有状況調査」第 1 報：2005 年 7 月 4 日、第 17 報：2005(12/18), http://idsc.nih.go.jp/yosoku/Smenu.html.

11) 佐藤弘,丹生隆,上野久美,北本理恵,荒木和子,新井智,多屋馨子「インフルエンザ HI 抗体保有状況（速報）」第 1 報：2005.(11/29),第 2 報：2005.(12/26),http://idsc.nih.go.jp/yosoku/Flumenu.html.

12) 松岡静香,多屋馨子,佐藤 弘,上野久美,岡部信彦「日本の定期/任意予防接種スケジュール」2005.(4/1-7/28). http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/GIF/JP2005new.gif

13) 松岡静香,多屋馨子,佐藤 弘,上野久美,岡部信彦「日本の定期/任意予防接種スケジュール 2005.(7/29 以降)」 http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/ImmJP-050729rev.gif

14) 松岡静香,多屋馨子,佐藤 弘,上野久美,岡部信彦,Immunization schedule, Japan 2005(Apr.1-Jul.28). http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/GIF/EN-new.gif

15) 松岡静香,多屋馨子,佐藤 弘,上野久美,岡部信彦,Immunization schedule, Japan 2005(Jul.29-). http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/ImmEN_050729rev.gif

16) 松岡静香,多屋馨子,岡部信彦. 麻疹・風疹ワクチンキャンペーンポスター, http://idsc.nih.go.jp/vaccine/cpn05-06.html

19. エイズ研究センター

センター長 山本直樹

概 要

1981 年に最初のエイズ患者が報告されてから、20 年以上が経過した。2005 年末現在、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染者とエイズ患者の数は、全世界で累積 6000 万人におよぶ。このうち、サハラ砂漠以南のアフリカ諸国が、2940 万人と圧倒的に多い。 また、2005 年の 1 年間で、あらたに HIV に感染した人の数は、全世界で 500 万人になり、サハラ砂漠以南のアフリカ諸国が、350 万人を占める。しかし新たな感染地域として、アジアでの感染が拡大している。アジアではその感染率はまだ低いが、人口の絶対数が多いため、感染者の人数も増えている。インドでは最近南アフリカ共和国を抜いて 400 万人を超え、世界最大の感染者を擁する国となった。中国では、2000 年なかばの感染者数は 100 万人だが、2010 年には 1000 万人に達する可能性がある。我が国でも 2005 年度は感染者の数が 2 年連続で 1000 人を超えるなど、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況である。

1995 年ごろから始まった HAART の効果には目覚しいものがあり、感染者に大きな希望を与えている。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 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、現在米国 NIH のワクチン研究センターとの共同研究を発展させている。またアジアに流行する HIV-1 株に関する研究が進展し、流行の広がりや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)のアジアやアフリカにおけるエイズプロジェクト等にも積極的に協力してきた。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ており、我が国エイズ研究の中核となっている。

人事では、駒野淳第 3 室研究員が主任研究官に昇任（平成 17 年 4 月 1 日付）、鈴木寿子第 2 室研究員が第 2 研究グループに併任（10 月 1 日付）した。

当センターの運営に当たっては宮村達男所長、渡邊治雄副所長、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、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で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

(1) 液性免疫誘導型ワクチンの開発を目的とした、改変型 HIV-1 Env 抗原発現型組換え BCG の作製

米国 NIH で作製された subtype B HIV-1 由来改変型 gp140 及び gp145 遺伝子を、 *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繋ぎ 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。gp145 も菌体内での発現が認められたが、菌体内では分解産物が主であった。

[松尾和浩、岡村智崇、服部真一朗、Gary J. Nabel(米国 NIH)、山本直樹、本多三男]

(2) 改変型 HIV-1 Env 抗原発現型組換え BCG のマウスでの免疫誘導能の解析

HIV-1 subtype B 由来改変型 gp140 及び gp145 遺伝子をそれぞれ発現する BCG 株を BALB/c マウスの皮下に免疫し、Env V3 特異的抗体の産生を調べた所、いずれも免疫後 4 週以降で特異抗体の上昇が認められた。更に、その組換えワクシニア DIs をブースター免疫すると、HIV-1 MN 株に対する中和能誘導した。その中和活性は、gp140 発現型 BCG 免疫マウス血清の方が、有意に高い値を示した。Gp140 遺伝子は V1V2 領域を欠失しており、その中和抗体産生における重要性が示唆された。

[松尾和浩、服部真一朗、岡村智崇、Gary J. Nabel(米国 NIH)、山本直樹、本多三男]

(3) 組換え BCG-および組換え DIs-HIV/SIV ワクチンのサル評価

前年度までに、組換え BCG と組換え DIs による抗 HIV/SIV 免疫誘導は、カニクイサルにおいてヒト投与量でも可能であること、更に、組換え BCG では、導入 HIV/SIV 遺伝子のコドン使用頻度を BCG 化することが、抗原発現および免疫誘導に非常に有効であることを明らかにした。本年度は、組換え BCG の実用化で最も懸念されている BCG 既往症反応の影響を検討した。サルモデルにおいて結核ワクチンとしての非組換え BCG の先行免疫を行い、続いて組み替え BCG-HIV・DIs-HIV ワクチンを接種すると、組換え BCG 免疫後に重大な副反応は見られず、組換え HIV/SIV 抗原に対する免疫応答が誘導され、組換え DIs の免疫増強にも影響を与えないことが明らかになった。これらの結果から本レジメンは、BCG 接種歴のあるヒトに応用可能であることが明らかになった。

[兼清優、網康至(動物管理室)、松尾和浩、染谷健二(ウイルス３部)、須崎百合子(動物管理室)、吉野直人、山本直樹、本多三男]

(4) HIV-1CRF01_A/Egag を発現する組換え BCG 及び DIs ワクチンの prime-boost 接種による特異免疫誘導の評価

野生型ワクシニアウイルスを雌性マウスに接種すると、一週間以内に接種ウイルスが卵巣に集積する。これを利用し、組換えワクチンと同じ HIV 遺伝子を発現する野生型ワクシニアをワクチン接種後にチャレンジし、卵巣に蓄積する接種ウイルス量の抑制レベルを指標としたワクチン効果の解析がなされている。本研究では、HIV-1CRF01_A/Egag を発現する組換え BCG 及び DIs ワクチン、rBCG/HIVgagA/E+rDIs/HIVgagA/E の prime-boost 接種により、gag に対する免疫が効果的に誘導されていることを確認するために、免疫マウスに、gag を発現する組換え野生型ワクシニア NYCBH をチャレンジし、卵巣中の接種ウイルス量を対照群と比較検討する。以前に行ったプレ実験では、prime-boost 免疫群において卵巣中ウイルス量が軽減される傾向にあったが、今後、組換え NYCBH チャレンジ等の条件を考慮して再検討する。

[泉泰之、山本直樹、本多三男]

(5) 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、PSFJ、p7.5）を用いて、SIVGag 抗原発現ワクシニア DIs ワクチンを構築し、最も効率の良い Promoter の選択を検討した。抗原の発現量は、様々な哺乳類細胞株において、mH5 を利用した rDIs ワクチン（rDIs/mH5/Gag）で発現量が高いことが確認された。さらに、マウスを用いた動物実験においても、rDIs/mH5/Gag が誘導した細胞性免疫は、他の Promoter を利用した rDIs の免疫応答よりも有意に優れていることが確認された。本研究の結果、ワクシニア DIs は、mH5 promoter を利用することが、一番適切であることが分かった。

[岡村智崇、松尾和浩、兼清優、堀端重男、泉泰之、染谷健二(ウイルス３部)、志田壽利(北海道大学)、山本直樹、本多三男]

(6) HIV 中和抗体誘導能を有する修飾型 HIV Env 発現ワ

クシニア DIs の開発

安全性が極めて高いワクシニア DIs 株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（gp140-mu）を発現する組換え DIs ワクチン（rDIs/gp140-mu）を構築した。更に、その免疫誘導能を検討すると、BALB/c マウスに 5 回接種し、血清 Env 抗体価並びに中和能を測定すると、抗体価は 1024～2048 倍の上昇し、またヘテロのウイルスである HIV MN 株、および JRCSF 株に対する中和反応が認められた。現在、誘導された Env 抗体のエピトープの解析を行っている。

[岡村智崇、松尾和浩、杉山高啓、兼清優、堀端重男、染谷健二(ウイルス３部)、Gary J. Nabel(米国 NIH)、山本直樹、本多三男]

(7) HIV マルチエピトープ DIs ワクチンの開発

本研究は、ワクシニア DIs をワクチンベクターに用いて、2 つ以上の HIV 抗原を同時に発現する HIV ワクチンの開発を行う。抗原は、サルエイズモデルでの SHIV 攻撃接種を考慮して、SIVGag と HIVEnv を用いて構築し、Western blotting 法によって両抗原の発現を確認した。次に、このワクチンの両抗原の発現力および複製能について検討した。その結果、両抗原をそれぞれ単独で発現する rDIs とほぼ変わらず、安定したワクチンである事が確認された。現在、小動物モデルを用いて免疫誘導能について検討している。

[岡村智崇、服部真一朗、松尾和浩、染谷健二(ウイルス３部)、兼清優、堀端重男、Gary J. Nabel(米国 NIH)、山本直樹、本多三男]

(8) rDIsSIV*gag/pol* の経鼻および皮内接種による脳への非移行性

rDIsSIV*gag/pol* の経鼻免疫を行ったマウスでのワクシニアウイルスベクターの脳への移行の有無を nested-PCR 法で確認した。接種後マウスの嗅球、大脳、小脳を解析した結果、いずれも陰性でありワクシニアウイルスベクターの経鼻および皮内接種での脳への移行は確認されなかった。

[吉野直人、兼清優、岡村智崇、染谷健二(ウイルス３部)、松尾和浩、山本直樹、本多三男]

2．修飾型 HIV Env 発現プラスミドによる抗 HIV 抗体の誘導

可変領域を至適化、および gp41 の一部を truncate した修飾型 HIV Env を発現する組換え DNA ワクチン（1012CMV プロモーターを有する）を用いて、その免疫誘導能についてマウスを用いて検討した。プラスミドを細胞に導入し細胞内での Env タンパクの発現を確認した後、マウスに接種し血清中の抗体価と細胞性免疫の誘導能を評価した。DNA ワクチンによるマウスの免疫誘導は、上記組換え BCG および DIs 免疫のものに比較して、抗体価、細胞性免疫ともに低いレベルであった。

現在は DNA/DIs プライムブーストワクチンでのマウスにおける免疫応答を解析中である。

[高橋慎、岡村智崇、千葉丈(東京理科大学)、山本直樹、本多三男]

3．モノクロナール抗体 KD-247 における中和効果

これまで免疫原性が低い中和エピトープに対する効果的な能動免疫法の開発を試み、そのコア領域を高親和性に認識する連続免疫法を確立した。その実用化のために、マウスモノクロナール抗体の CDR 遺伝子を組み込んだ人型化抗体 KD-247 を作成し、その中和能の交差反応性を検討した。Env V3 領域の GPGR エピトープを認識する KD-247 抗体は、T-tropic、M-tropic、TCLA および Primary isolate にかかわらず、高い交差反応中和活性を示した。また、他の 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 の中和力価と比較検討しても交差反応性に優れていた。しかし、GPGR エピトープを持つサブタイプ B において 20 ウイルス中 8 ウイルスが中和されず、GPGR エピトープを持つサブタイプ E においては 5 ウイルスすべて中和されなかった。これらの事から、KD-247 抗体の中和活性は、V3 コア領域のリニアエピトープ結合能とは違いがあり、活性発現にはさらにその周囲の構造が関与していることが示唆された。今後、中和されたウイルスとされなかったものの V3 シークエンス配列の差のみならず Env 蛋白構造における中和エピトープを比較することにより、中和活性と蛋白構造相関についても検討する。

[滝澤万里、山本直樹、本多三男]

4．低病原性 SIV 感染、高病原性 SIV に対する感染後早期治療等による誘導される高病原性 SIV に対する感染抑制に関する解析

ウイルスベクター等を用いる prime-boost ワクチンは高頻度の CTL を誘導し慢性感染の抑制、発症遅延効果が確認されているが、その効果は特定 MHC I allele をもつ宿主に限定される。ところが弱毒ウイルス感染により誘導される防御免疫は初期感染に対しても強い抑制効果が

あり宿主 MHC の影響が少ないことからエイズワクチン開発への応用が期待されている。その機序の解明を目的に低病原性 SIV（糖鎖欠失変異 SIV, nef 遺伝子欠損 SIV）感染ザル 5 頭、病原性 SHIV-RT 感染後早期治療(PEP)ザル 3 頭、病原性 SIV239 感染長期未発症ザル 3 頭に高用量 SIV239 の静脈内接種チャレンジ感染を行った。10/11 頭ではチャレンジ感染による初期感染は検出されなかった。しかし PEP の 1/3 頭では通常の SIV239 感染と同等の初期感染が観察された。PEP 全３頭では PEP 後に明らかな細胞性免疫の誘導と維持が確認されたが、感染後７年経過したチャレンジ感染７日前では、感染抑制があった２頭と比べ感染抑制のなかった１頭では細胞性免疫はわずかに検出される程度であった。またこのサルのみ PEP 後の抗体誘導が一過性であった。この結果は感染防御における細胞性免疫の重要性、さらに非常に低レベルの SIV 感染と感染抑制と関連する宿主応答のの重要性が示唆された。
[杉本智恵、森　一泰]

5．感染制御ザルから分離された SIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞の解析

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(PEP)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。そこでワクチンによるウイルス特異的CD4 T細胞を誘導と感染防御効果の検討を計画している。Nef 遺伝子欠損 SIV 感染ザル(Mm9429)、PEP ザル(Mm9703)から同一の MHC ハプロタイプ（R90-120b）の MHC II allele により抗原提示される Gag 特異的 CD4+T 細胞を分離し、それぞれのエピトープを決定した。エピトープは大部分が重なっていたが両端の 1 アミノ酸だけが異なっていた。今年度はこの２種の細胞の性質(メモリー細胞、抗原刺激によるサイトカイン発現、effector 機能、細胞表面 CCR5 発現、SIV 感染性)を調べた。Mm9429 細胞は、central memory, IFN-gamma 高発現、TNF-alpha 高発現、IL-2 中発現、granzyme B 低発現、CCR5 高発現を示し、Mm9703 は effector memory, IFN-gamma 高発現、TNF-alpha 高発現、IL-2 低発現、granzyme B 高発現、CCR5 低発現を示した。まとめると Mm9429 はより central memory 細胞,Mm9703 は effector memory 細胞の性質を示した。エピトープ peptide に対する反応性は Mm9703 細胞は Mm9429 細胞の 1/10 の濃度（10 nM）で活性化した。いずれの細胞も SIV239 感染に対する感受性を示した。これらの細胞の性質は、SIV 感染に対する免疫誘導、感染制御における機能として理解されるが、その機能を果たすためには SIV239 感染に対する抵抗性の機序が必要であることが示唆された。
[杉本智恵、森　一泰]

6．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、SHIVenvDNA 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。その結果を受け、6 頭のカニクイサルを用いて感染防御試験を行った。すなわち SHIVenvDNA と HVJenv ベクターを用い 3 回経鼻投与を行った。しかしながら、抗 env 抗体は認められず、施設の使用期間の関係で SHIV を経直腸ルートで攻撃接種を行ったがワクチン候補免疫群でもウイルス量の抑制は認められなかった。理由に関しては、投与 DNA 量および HVJ 量が低かった事が考えられる。現在再度プロトコールを検討中である。またキトサンに関しては分子量、脱アセチル化度等を変化させたアジュバント候補を作成し活性を検討している。
[基盤研筑波霊長類センター、石川晃一、小林丘（協力研究員）]

II．HIV 感染症の治療

1．自然免疫による HIV 感染修飾の解析：マンノース結合レクチン（MBL）の *in vitro* 抗 HIV 効果の同定

マンノース結合型レクチン（MBL）が *in vitro* で抗 HIV 効果を示すことを明らかにした。天然型 MBL は大量精製が難しいので、MBL の特性を明らかにするために、組換え MBL (Recombinant Mannose Binding Lectin：rMBL)の作成を試みた。そこで、12 種類の rMBL を作成し天然型 MBL と比較検討した。さらに、他の高産生 rMBL を 3 株作成し、3 種類の培地（IS CHO CD, IS CHO-CD4, IS CHO-V）で、それぞれ培養時間を検討した rMBL を作成した。現在、どの細胞、培地、培養時間が *in vitro* において HIV-1 中和活性の発現にベストであるかを明らかにし、SOP を作成中である。
[滝澤万里、若宮伸隆(旭川医大)、鈴木定彦(北海道大学)、岸雄一郎(扶桑薬品)、堀端重男、山本直樹、本多三男]

2. 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１7 年度末までに参加した施設は 92 施設、解析を行った検体は平成 17 年 3 月の時点で累積 7396 検体、1659 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。

[松田昌和、三浦秀佳、千葉智子、西澤雅子、柿澤淳子、藤野真之、山本直樹、杉浦 亙]

3．2003-2005 年における新規 HIV/AIDS 診断患者の動向調査

HAART が普及した今日、HIV/AIDS に新たに感染し、治療前にもかかわらず既に薬剤耐性を獲得している症例が世界各国で報告されており、その頻度は 10-20%ともいわれている。日本では、2 年続けて新規 HIV 感染者数およびエイズ患者数の合計が 1000 人を越えて HIV/AIDS の感染拡大が進行しつつあるが、本邦においても新規 HIV/AIDS 診断確定未治療患者への薬剤耐性 HIV の拡大が大きな関心をもたれている。このような背景から、我々は 2003 年から 2005 年にかけて全国の治療拠点病院、衛生研究所等の協力のもとに新規 HIV/AIDS 診断患者を対象に耐性検査を実施した。薬剤耐性検査ではプロテアーゼおよび逆転写酵素領域を、HIV サブタイプには *env* C2/V3 領域を RT-PCR にて増幅し、その配列解析を行った。対象症例は 03 年：267 例、04 年：308 例、05 年：454 例であった。症例は 30-40 歳代の男性が中心で（>90%）感染経路は同性間性的接触が 65-72%を占めていた。耐性症例の頻度は 2003 年：5.2%、2004 年:4.9%年、2005 年：5.9%であった。クラス別に見るとヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性の頻度は 4.1%；4.5%； 4.6%（03;04;05 年）で、M41L 、M62A、K65R 、D67N 、K70R 、L74V、M184V 、L210W 、T215X、K219Q が見られた。非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤では 1.1%；1.3%；2.2%（03;04;05 年）で、V108I 、K103N 、L100I 、V106A 、Y181C 、G190A が見られた。同プロテアーゼ阻害剤では 1.5%；0.3%；1.5%（03;04;05 年）で、耐性変異は、M46I、D30N、V82A が観察された。サブタイプは、いずれの年も 70%以上が B であり。次いで CRF_01AE であった。また少数ながらサブタイプ A、C、AG、G も観察された。感染経路とサブタイプの関連を見ると、B の半数以上が同性間性的接触であり、これとは対象に他は異性間性的接触であることが明らかになった。

[武田 哲、藤野真之、松田昌和、三浦秀佳、西澤雅子、山本直樹、杉浦 亙]

4．hPBMC を用いた感受性検査による逆転写酵素 K65R 変異の Tenofovir 耐性に与える影響の解析

本研究では LAI 株に Tenofovir（TDF）耐性変異として知られる K65R 変異を導入した LAI/K65R を作製し TDF に対する耐性を hPBMC を用いた感受性検査によって評価した。また K65R に加えて M184V を持つ臨床分離株の TDF 耐性も評価した。K65R 変異を持つ CRF01_AE 株の TDF 耐性も評価しサブタイプ B の結果と比較検討した。その結果 LAI/K65R はリファレンス株の LAI と比較して約 1.7 倍の TDF 耐性を示し、3TC と AZT に対しては感受性だった。サブタイプ B で K65R/M184V を持つ臨床分離株は AZT に対しては 1.1 倍とほぼ感受性だったが 3TC に対しては 300 倍以上の耐性を獲得し TDF に対しては 0.8 倍で感受性を回復した。これらの結果はこれまでに報告されている知見と合致した。CRF01_AE/K65R の臨床分離株は TDF に対する耐性を獲得し、また CRF01_AE で TAM を持つ分離株も TDF に対する耐性を獲得していた。上記の結果から本研究で用いた感受性検査により高感度でこれらの薬剤耐性プロファイルを検出可能である事が示された。

[西澤雅子、藤野真之、松田昌和、三浦秀佳、加藤真吾（慶応大）、山本直樹、杉浦 亙、ウルビ パリカ（ピッツバーグ大学）]

5. 細胞内におけるプロテアーゼ阻害剤の薬剤濃度のモニタリング

現在薬剤感受性検査には、末梢血単核球、あるいは T 細胞系細胞株や HeLa 細胞を基にしたレポーター細胞が使用されているが HeLa 細胞のような非宿主細胞から構築された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。本研究では細胞内への抗 HIV-1 薬の取り込みやその細胞内の濃度に着目し、T 細胞系細胞株の HPB-M(a)、CEM 及び上皮細胞系細胞株の HeLa 細胞における PI の各々の細胞内濃度を HPLC を用いて測定し比較検討した。4 種類のプロテアーゼ阻害剤（PI）、ネルフィナビル（NFV）、サキナビル（SQV）、ロピナビル（LPV）そしてリトナビル（RTV）を各々1、2.5、5 及び 10μM の

濃度で培地中に添加し各々の細胞に 10 分間取り込ませた後、細胞から PI を抽出し HPLC で細胞内 PI 濃度を測定した。10μM の PI 濃度で比較した結果、NFV は HPB-M(a)と CEM の細胞内で約 120～150 倍、HeLa 細胞では約 200 倍に濃縮された。SQV は HPB-M(a)及び CEM 細胞で約 70 倍、HeLa 細胞では約 200 倍であった。LPV では HPB-M(a)と CEM 細胞で約 10 倍、HeLa 細胞で約 45 倍であった。RTV は HPB-M(a)と CEM 細胞で約 10 倍、HeLa 細胞で約 15 倍に濃縮された。NFV、SQV、LPV 及び RTV はどれも培地中の薬剤濃度依存的に細胞内濃度が上昇した。細胞内 PI 濃度は NFV、SQV、LPV において HeLa 細胞の方が T 細胞系の細胞よりも高い傾向が見られた。細胞種によって細胞内の PI 濃度が異なることから、これらの細胞における細胞内への PI の取り込みのメカニズムが異なる可能性が示唆された。

[西澤雅子、三浦秀佳、山本直樹、杉浦 亙、加藤真吾（慶応大）]

6. 新規抗 HIV 薬の開発に関する研究

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、従来とは異なる化合物を複数見出すことに成功した。さらに、抗 HIV-1 活性の認められた化合物のうち幾つかについて、M8166 細胞および SupT1 細胞を用い薬剤耐性誘導を行った。最終的に M8166 細胞では IC_{50} の 40～128000 倍の耐性ウイルスが誘導され、SupT1 細胞でも 40～5000 倍の耐性ウイルスが誘導された。次に、耐性誘導ウイルスの薬剤感受性試験を行ったところ、MaRBLE cell assay を用いた薬剤感受性試験でそれぞれの薬剤に対して耐性を示した。また SupT1 細胞に野生株 HXB2 を感染させ、候補薬剤存在下で培養し、透過型電子顕微鏡で粒子形態等を観察したところ、薬剤存在下では、粒子のサイズが不均一で、また内部の核構造が明瞭でない未熟な粒子が観察された。この形態はプロテアーゼを欠損したウイルスに見る厚い外皮に囲まれ、内部に核のない像とは異なっており、従来とは異なる阻害機序が強く示唆された。今後、引き続き機序解析を行っていく予定である。

[武田 哲、三浦秀佳、厳 ・、西澤雅子、藤野真之、村田大悟、杉浦 亙、田中晴雄（北里大学）、野村伸彦（富山化学研究所）]

7. 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ではネルフィナビル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を行い、現在結晶化に入っている。本年度は結晶化に加えて、熱力学的解析を行うために、活性のあるプロテアーゼの作製・生成に取り組んでいる、

[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）]

8. タイ流行株 HIV-1（CRF01_AE）の薬剤耐性スクリーニングとしての MS-PCR の有用性に関する研究

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。本年度はランパンコホートで回収された GPOvir 脱落症例について通常の塩基配列解析と MS-PCR による検査を行い、MS-PCR がスクリーニング手法として活用できることを実証した。

[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）、レイミント吉田、有吉紅也、松田昌和、杉浦 亙]

9. Single genome sequencing を用いた薬剤耐性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。中でもプロテアーゼとその基質である Gag タンパク間には相互に干渉しながら進化選択を受けていることが推察されている。本研究ではこれを明らかにするためにプロテアーゼ阻害剤耐性変異を獲得した症例につい

て定期的にサンプルを採取し、Gag 全域とプロエアーゼ約 2.5Kb を Single genome sequencing 法によって増幅・クローニングし解析を進めている。
[杉浦 亙、松田昌和、千葉智子、柿澤淳子、田中 博（東京医科歯科大学情報）、任 鳳蓉（東京医科歯科大学情報）、柴田潤子（東京医科歯科大学情報）]

10．HIV クローンを用いた決定木の作成

薬剤治療下における HIV の進化・選択を理解するために決定木(Decision Tree)の作成を試みた。薬剤治療中の３症例について血漿中の HIV をクローニングし、系統樹解析を行い、治療薬剤の組み合わせ及びアミノ酸置換をもとに逆転写酵素(RT)とプロテアーゼ(PR)領域について決定木の作成を行った。１症例あたり６～７サンプル、約 120 クローンについて決定木を作成した。作成した決定木を見ると、PR は 35,74 など薬剤耐性とは関係のないなアミノ酸置換が、RT でははは 181,184,190 など重要な耐性変異がツリーの分岐部に位置していることが明らかになった。今回の３症例は使用薬剤の組み合わせが異なるため共通分類ルールを見出せなかったので、今後共通な薬剤の組み合わせのサンプルにより共通する分類ルールを得たいと考えている。
[鈴木寿子、杉浦 亙、田中 博（東京医科歯科大学情報）、茂櫛 薫（東京医科歯科大学情報）]

11．薬剤耐性とRNase H活性の関与に関する研究

大腸菌由来の精製酵素を用いて逆転写酵素活性の酵素学的特性を解析する実験系を樹立し、患者由来の薬剤耐性ウイルスを対象とした研究により、NRTI耐性を誘導する非RNase Hドメインへの挿入変異・点変異によってRT活性だけでなくRNaseH活性も減少することが明らかとなった。両酵素活性低下は並行して変化することから、NRTI耐性獲得とin vivoにおける選択には逆転写酵素活性の変化が同調する必要があるという可能性が示唆された。薬剤耐性変異ウイルスを発生させる過程におけるRNase H活性の関与が明らかとなった。p66 homodimerとp51/p66 heterodimer ではRNase H活性が異なるがpolymerase活性は影響しないことが示された。各酵素活性の独立性の評価と薬剤耐性能との比較により、新たな治療strategyを提示することが出来るかもしれない。
[二橋悠子、浦野恵美子、宮内浩典、磯貝まや、武部 豊、松田善衛、駒野 淳、佐藤裕徳（遺伝子ゲノム解析センター）]

12．新たな抗 HIV-1 薬剤の開発

現存する化学療法（HAART 療法）の重大な問題点である薬剤耐性ウイルスの発生を回避するためには、多様な作用機序を持つ薬剤を速やかに同定し、実用化することが求められる。これらは、薬剤耐性ウイルスによる難治症例の治療をも可能にする。現在市場に流通している抗エイズ薬の標的は逆転写酵素、プロテアーゼ、エンベロープタンパク質などである。未だにインテグラーゼは実用化されていない。我々は新たに integrase 阻害剤としてのリード化合物を発見することに着手し、約千種類のペプチドライブラリーから２種類同定した。これらは塩野義製薬が副作用のため開発を断念した diketo 構造を持つ integrase 阻害剤とほぼ同じ IC50 を有する非常に強い integrase 阻害活性を持つ。細胞培養レベルでウイルス複製抑制効果を評価するため、非ペプチド化を推進すべく酵素の立体構造をもとに電算機的解析を駆使した integrase―ペプチド相互作用ドメインの解析を行っている。
[駒野 淳、浦野恵美子、二橋悠子、宮内浩典、松田善衛、杉浦 亙]

13．経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

CXCR4 は HIV-1 の主要なコレセプターの一つであり、そのアンタゴニストは新しい作用機序を有する抗 HIV-1 剤の候補として期待されている。私達は、新規 CXCR4 アンタゴニスト KRH-3166 が経口投与可能で、in vitro、hu-PBL-SCID マウスモデルの両方で高い抗 HIV-1 活性を示すことを見出した。KRH-3153 は活性化 PBMC に対する X4 HIV-1 の増殖を低濃度（EC_{50}: 4 nM）で阻害し、R5 ウイルスとの共感染も R5 阻害剤との併用で完全に抑制した。KRH-3153 と相互作用する CXCR4 のアミノ酸は、Asp171、Asp262、His281、Trp283 と推定された。KRH-3166 をラットに 10 mg/kg で経口投与したときの bioavailability は 17%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自由飲水投与によって X4 HIV-1 感染を顕著に阻害した。以上の結果は、KRH-3166 はエイズに対する臨床応用に向けて有望な、経口投与可能な新規 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）、大隈 和（琉球大学）、熊倉 成（(株)クレハ)、広瀬国孝（(株)クレハ)、谷中幹郎（(株)クレハ）、山本直樹）

III．HIV の分子疫学研究

1. マレーシアに流布する新しいタイプの組換え型流行株 CRF33_01B の発見

我々はマレーシア大学医学部（クアラルンプール市）

との共同研究によって新しいタイプの組換え型流行株（CRF）を見出した。このウイルス株はCRF01_AEを骨格とし、プロテアーゼRT遺伝子部分が短い２つのサブタイプB断片からなる組換えウイルスであった。注射薬物乱用者（IDU）の40%に分布し、また性感染者の中にも数%見出され、またマレー、インド、中国系のいずれにも均しく分布している。昨年１月に国際的HIVデータベースより新型の組換型流行株CRF33_01Bとして正式承認された。わが国研究機関から発信される最初のCRFとなった。

[Kok Keng Tee、Xiaojie Li、納富香子、K.P.Ng、Adeeba Karulzamen.（マレーシア大医学部）、武部豊]

2．中国東北部（遼寧省）における HIV-1 感染症の分子疫学

中国雲南省や新疆ウイグル自治区、広西チワン族自治区のような中国における HIV 流行のエピセンターの辺縁部の低浸淫地域における HIV 感染症の様相を明らかにするために、そのモデル地域として中国東北部（遼寧省）を選び、分子疫学研究を行った。その結果、多様なHIV-1 サブタイプと同定した。サブタイプ B’(49)、CRF01_AE (15), CRF07_BC (8), CRF08_BC, A1, B (5), C, Gの他にC, G, CRF05_AB, CRF06_cpx (各1)を見出した。サブタイプB’は過去の売血経験者（Former plasma donor, FPD）と輸血による感染者のすべてにおいて見出され、このタイプのウイルスの強いファウンダー効果が示された。IDUにはCRF07_BC, CRF08_BCの2種の組換型流行株が見い出された。最も多様なウイルスサブタイプが見い出されたのは異性間性接触による感染者でCRF01_AE, B’, B, A1, CRF07_BC, CRF08_BC, C, Gとさらに新しいタイプの組換えウイルスが見出され、この集団には中国およびアジアの他地域に由来する様々なウイルス群が流入していることが明らかになった。

[X Han、Hong Shang（中国医科大学第一病院エイズ研究センター）、Kok Keng Tee、武部　豊]

3. HIV-1 スーパー感染後にみられる組換えウイルスの急速な出現

昨年、HIV-1 スーパー感染の国内最初の症例を見出したが、経時的検体の組織的解析の結果、スーパー感染が疑われる時点の約２ヵ月後にもとのウイルス（resident virus）とスーパー感染したウイルス（superinfecting virus）間の組換えウイルスが急速に出現し、時間と共にその割合が増加していくことを明らかにした。その様相は領域毎に異なり、nef 領域では最も急速に組換えウイルスに置換されるのに対し、gag, pol 領域ではその置換速度はよりゆるやかであった。領域ごとの違いの原因は現時点では明らかでない。これらの知見は組換えウイルスの何らかの生物学的優位性を示すものである。

[武部　豊、横田侑子、Xiao-Jie Li、小泉寛和（熊大エイズ学研究センター）、滝口雅文（熊大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）]

4．中国雲南省の HIV-1/HCV 共感染注射薬物乱用者における HCV 遺伝子型に関する分子疫学

中国雲南省の HIV 感染注射者注射薬物乱用者（IDU）においては HCV 共感染が著しく高く、ほぼ 100%の共感染率を示す。そこで我々は HIV-1 の伝播経路を解析する補完的な手段で、共感染した HCV の遺伝子型に関する分子疫学研究を開始した。その結果、雲南省においては極めて多様な HCV 遺伝子型（1b, 3a, 3b, 6a に加え経路不明のウイルスサブタイプが検出される）が存在し、中国の他地域と著しく異なる分布パターンを示すこと、特に西部地域は雲南省内の他地域とも異なる HCV 遺伝子型分布を示すことが明らかになった。HIV-1 サブタイプ分布との関連性に関して解析が進行中である。

[Xueshan Xia（昆明理工大）、Kok Keng Tee、武部豊]

5．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、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い。耐性変異の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。我々は、RT 領域の様々な変異株に中立遺伝マーカーとして多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、これらのウイルスを用いた in vitro 共感染実験を行うことでどのような薬剤濃度環境・ウイルス負荷条件で高度耐性変異への進化が生じるかを検証している。制限酵素切断部位欠失クローン（NH1-dRS,210W,215Y）と、M41L, D67N, 挿入配列, T69I を持つ感染性クローン(NH1－41L,Ins69)をNP2-CD4-CCR5 細胞に共感染したところ、抗ウイルス剤非存在下では Ins69 と 210W の間の連鎖は感染６日～８日で平衡に達し、組換えウイルスは in vitro では速やかに生成されることが示唆された。感染後１２日以降では薬剤感受性遺伝子型の組換えウイルスが選択的に増加し、野生型ウイルスが高い適応度を持つことがわかった。一方、薬剤存在下では逆に、濃度依存的に多くの耐性変異

を持つ組換えウイルスが選択される様子が観察された。組換え体の遺伝マーカーを解析した結果、RT のこの領域（約 400bp）では組換えの乗換え点の分布は塩基長とほぼ比例関係にあり、組換えが極端に生じにくい領域は存在しなかった。
[椎野禎一郎・保科佳美・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-1 感染力価を迅速に測定する X4 および R5 に感受性を示す T 細胞系のレポーター細胞株 X4R5MaRBLE 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 ｌuciferase）および CMV 制御の reniｌla luciferase を組み込み、HIV-1 の力価を定量する新たな細胞株 X4MaRBLE cell を樹立し薬剤感受性検査および新規薬剤スクリーニングなどに活用してきた。本年度はさらに R5 嗜好性 HIV に対しても感受性を付与するために CMV 制御の CCR５発現遺伝子を組み込み X4R5MaRBLE cell を完成させた。これにより臨床分離株に対しても精度の高い感受性の評価が可能となった。
[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]

2．pseudotype HIV-1 を用いた簡便な薬剤感受性検査法の開発

HIV-1 感染者血液サンプルより HIV-1 を直接回収するのは、時間と費用を要するだけでなく、不可能な場合も多い。特に薬剤耐性を多数集積した増殖能力の低下したウイルスでは回収に失敗することが多いが、実はこのようなウイルスこそ薬剤耐性レベルの評価のため回収が求められているものである。このような背景から、我々は薬剤耐性に関与する遺伝子領域を、組み換えることにより、pseudotype HIV を作製し、簡便に薬剤耐性検査を行う技術の開発を行った。HXB2 を基本骨格に *pol* を *ccdB*、*env* を GFP、*nef* を *luciferase* で置換したベクターを作製した。感染者由来の HIV から protase と RT 領域を RT-PCR によって増幅し、In-Fusion PCR kit により簡便かつ迅速に患者由来の *pol* 遺伝子をもつ HIV クローンの作製方法樹立に成功した。VSVG を用いて pseudotype HIV を作製した。MT-2 および 293T 細胞への感染は、pseudotype HIV の感染量依存的な luciferase および GFP の発現を示した。また、抗 HIV 薬剤の存在下では、薬剤濃度依存的に発現が低下した。既知の抗 HIV 薬剤に対する耐性変異を持つ *pol* 遺伝子を組み換えた psedotype HIV は、野生型の *pol* 遺伝子より薬剤感受性が低下していた。Pseudotype HIV による簡便かつ高感度な薬剤感受性検査を完成させた。
[藤野真之、松田昌和、西澤雅子、武田 哲、山本直樹、杉浦 亙]

3．競合的 RT-PCR を用いた HIV-1 感染患者血漿中のウイルスコピー数の定量

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ウイルスの定量の開発・実用化に取り組んだ。共同研究者の加藤等が開発した競合的 RT－PCR による測定法を用いてアンプリコア HIV－1 モニターver1.5 でウイルスコピー数を定量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 を検出できるよう競合的 RT-PCR の系を改良し、また非 B サブタイプにも対応したプライマ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）]

4．HIV-1 CRF08_BC 感染性分子クローンの構築とそのウイルス学的性質の解析

地域特異的に流行している HIV-1 サブタイプの感染性分子クローンを樹立することは、そのウイルス学的特性や予防・治療法の研究にとって有用である。既に樹立した２つの CRF08_BC 感染性分子クローン HH040NX4、NX22 のうち、前者は NP2/CD4/CCR5 細胞（以下 NP2/R5）でよく増殖し、後者は PHA で刺激した PBMC でよく増殖した。その特性を決定している領域を同定し、これらの組換えにより、分離株同様いずれの細胞でも高い増殖能を有する、研究のツールとして有用な CRF08_BC 感染性分子クローン樹立を試みた。

２つのクローンに共通な４種類の制限酵素認識部位で組換体を作製し、得られたウイルスの増殖能を検討したところ、いずれの細胞でも pol 遺伝子のインテグラーゼ領域以前（-4351 HXB2）が NX22 由来のクローンが高い増殖能を示した。vpu 遺伝子以降（6189- HXB2）が NX4 由来のクローンで NP2/R5 での増殖が高まったが、PBMC では影響が無かった。pol 遺伝子のインテグラーゼから vpu 遺伝子の間（4352 - 6188 HXB2）が NX4 由来のクローンは NP2/R5 でよく増殖するが、PBMC では逆にこの領域が NX22 由来であるクローンがよく増殖した。さらに３種類の制限酵素を用いてインテグラーゼから vpu 遺伝子の間の領域の組換体を作製し同様に検

討した。NP2/R5 での増殖能はインテグラーゼの１アミノ酸が NX4 由来であることで高まった。PBMC では、vif 遺伝子の一部（5221 - 5554 HXB）が NX22 由来のクローンがよく増殖した。これらを併せ持つ組換えクローンは、いずれの細胞においても他のクローンより最も高い増殖能を有していた。

本研究により、分離株同様、いずれの標的細胞においてもよく増殖する、研究のツールとして有用な CRF08_BC 感染性分子クローンが樹立できた。

[草川　茂、武部　豊]

5. HIV-1 サブタイプ B'感染性分子クローンの樹立とその性状の解析

サブタイプ B' とサブタイプ B' を含むサブタイプ間組換体は、東南アジア諸国や中国における主要な流行株である。さらに近年、中国河南省や湖北省における HIV-1 流行が、サブタイプ B' によるものであることが報告されるなど、アジアにおける HIV-1 流行において、非常に重要なサブタイプである。本年度、サブタイプ B' 分離株 B106 から感染性分子クローンを樹立し、そのウイルス学的性状の解析を行った。

最初に作製した感染性分子クローン B106_22 は、PBMC や CD4 と CXCR4 あるいは CCR5 を発現させた付着性細胞ではよく増殖するものの、分離株が感染できる T cell line やマクロファージでは増殖できなかった。T cell tropic ウイルスである NL432、マクロファージ tropic ウイルスである AD8 との組換えウイルスの解析により、この原因となる領域は、env V1 から V3 までの領域であることを特定した。新たにこの領域を増幅して得た PCR 産物と置換して得た 12 クローンのうち PBMC に感染性を有するものが９クローンあり、そのうち CCR5 のみをコレセプターとして使用する３クローンだけがマクロファージへの感染性を有していた。残り６クローンは CXCR4 と CCR5 の両方を使用し、PBMC でよく増殖したが、T cell line では３クローンのみが増殖した。T cell line、マクロファージ でよく増殖するクローンの間で組換えたウイルスの解析から、その指向性は V3 領域によって決定されていた。

一つのサブタイプ B' 分離株から、性質の異なる複数の感染性分子クローンが得られた。これらは、ウイルス学的研究や、予防・治療法開発のための道具として有用であると考えられる。

[草川　茂、武部　豊]

6．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臨床株 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 酵素及び Primer 設計を考慮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った。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第２研究グループで収集している薬剤耐性ウイルスに応用し総計 317 個に及ぶ多数の感染性分子クローンを樹立し、その内 87 個のクローンについて全ゲノム塩基配列を決定することが出来た。

[坂本優子、竹川奈穂、巽　正志]

(1)　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」により感染性分子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 が最も高効率な感染性クローン樹立に適していた。しかしながら Pwo Mater によって増幅できない鋳型でも Stratagene 社の Herculase II Fusion DNA polymerase により効率的に Amplicon が得られるケースがあることが判明した。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、竹川奈穂、巽　正志]

(2)　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 組換体の感染性分子クローンは限られている。今後も感染拡大の抑制が困難な現情勢から、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。1993 年にタイ国で分離された５臨床株と邦人感染者から分離した１臨床株から総計 66 個の感染性クローンを構築した。各株から 1〜2 クローンを選別し総計 6 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、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、竹川奈穂、巽　正志、西澤雅子、杉浦　亙]

(3) 本邦感染者由来 subtype B 感染性分子クローンの樹立

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 ウイルスの感染性分子クローンは昨年度報告したが、いまだ充分なクローン数には至っていない。そこで本センター第２研究グループ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４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引き続き試みている。「HIV Trapping System」により 4 検体より総計 89 クローンを樹立した。そのうち 8 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の本邦における subtype B 解析に有用であることが期待される。[坂本優子、竹川奈穂、巽　正志、西澤雅子、杉浦　亙]

(4) 本邦感染者における感染性分子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 感染症治療において避けられない問題であるが、その耐性獲得の機序については不明な点が依然数多く残されている。高効率な感染性分子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性分子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 名の患者から各々3 ポイント総計 201 の感染性クローンを樹立し、そのうち各ポイント 10〜12 クローンを選別し総計 71 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を示すクローンが含まれていた。耐性変異は治療経過に伴って蓄積する傾向が認められ、系統樹解析により各ポイントの一部の耐性ウイルスが生延びて次の Major なグループを形成することがクローンレベルで判明した。今後これらの感染性クローンによる各種薬剤耐性プロファイルを、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、竹川奈穂、巽　正志、松田昌和、西澤雅子、杉浦　亙]

(5)　Ghana で流行する HIV-1 の感染性クローンの樹立と解析

Ghana 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 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に分子基盤としての感染性分子クローンの樹立を試みている。昨年度に引き続き感染性分子クローンが得られなかった３臨床株について新たな Primer Set あるいは増幅酵素を試したところ、効率良く Amplicon が得られ感染性分子クローンが得られた。各株 2 クローン計 8 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、Heteroduplex Mobility Analysis(HMA)で subtype A に分類された２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。また今回も昨年度に引き続き 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ことが明らかになった。
[坂本優子、竹川奈穂、巽　正志、徳永研三、N. Nii-Trebi（野口記念医学研究所、ガーナ）、佐多徹太郎（感染病理）]

(6) 各種 subtype/CRF 感染性分子クローンを用いた抗原・抗体同時測定系の感度試験標準パネルの作成

現在、本邦では HIV-1/-2 感染診断の１次スクリーニング検査は、各保健所などで導入されている即日検査に用いられるイムノクロマト法を除いて、ウィンドウ期をより短縮するため抗原・抗体同時測定系が導入されている。各社より各種の検査キットが市販されているが、抗体出現前の抗原陽性期を如何に感度良く検出できるかは多くの場合 Seroconversion Panel を購入して対応しているが、この Panel の由来する HIV-1 subtype は限られており、その数量もまた限度があるなど、その標準抗原が国内外で依然として整備されていな状況である。今回、我々がこれまで樹立してきた各種 subtype/CRF 感染性分子クローンが、これら抗原・抗体同時測定系の感度試験標準パネルとなりうるか、国内で市販されている検査キットを販売している検査会社の協力を得て、その感度測定の標準化を試みている。
[坂本優子、竹川奈穂、巽　正志、水落利明（血液・安全性研究部）]

7. HIV-1 感染価迅速測定細胞 MAGIC-5 と MAGIC-5/SEAP を用いた薬剤耐性試験法の実用化

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取り組んできた。この程 JST 評価委員会にて成功認定を受け、今年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]

8．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。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。昨年 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。この欠点を補うべくマーカー酵素の reconstitution を利用した初期過程解析系を構築中である。

[宮内浩典、松田善衛]

V．HIV ライフサイクルと宿主因子の研究

1．抗 Vpr 抗体の評価と臨床応用に向けた研究開発

新たに作成した抗 Vpr マウスモノクローナル抗体 4 サンプルと抗 Vpr ウサギ抗血清 2 サンプルの評価を行った。Vpr 発現ベクターを HeLa 細胞と COS7 細胞に導入して Vpr タンパクを発現させ、開発中のこれらの抗体・抗血清の反応性について共焦点レーザー顕微鏡による Vpr タンパクの細胞内局在の染色パターンの観察と SDS-PAGE による解析を行った。その結果抗 Vpr マウスモノクローナル抗体 1 サンプルと抗 Vpr ウサギ抗血清 2 サンプルが Vpr に特異的に反応する事が明らかになった。また Vpr への特異性は低いが細胞内で Vpr と同じ局在を示す未知のタンパクと結合する抗 Vpr マウスモノクローナル抗体 1 サンプルを見出し、現在このタンパクを同定中である。このタンパ同定することによって、これまで知られていない Vpr の機能を明らかに出来る可能性が期待される。また Vpr して特異性を持つ抗体･抗血清については、これらを用いて患者由来の血漿サンプル中の Vpr を測定し臨床応用への可能性を検討している。

[西澤雅子、山本直樹、杉浦 亙、矢野竹男（オリエンタル酵母工業株式会社）]

2. 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。本年度はさらに機序を解明するため Gag の一部を欠損させたクローンを幾つか作成し、細胞内における Gag の動きについて解析を行った。

[レイミント吉田、杉浦 亙、富田康浩、佐藤裕徳（遺伝子ゲノム解析センター）]

3．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 ウイルス感染の初期必須過の一つであるウイルスエンベロープタンパク質による膜融合は主として gp41 部分によって担われている。われわれは gp41 の膜貫通部分(MSD)のエンベロープタンパク質機能への寄与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にある非常によく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を明らかにした。エンベロープタンパク質の細胞内分布の解析によりこれらの変異体では Env の細胞内運搬に変化が見られることがわかった。この結果から MSD は Env の細胞内動態および生合成にも寄与することが示唆された。

[宮内浩典、駒野　淳、村上　努、山本直樹、D.M. Engelman（Yale 大学）、松田善衛]

4．LC-MS/MSによるHIV-1複製に関与する宿主因子の解析

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。我々はFLAGタグを付加したHIV-1ウイルスタンパクMatrixを発現させ、これ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、現在HIV-1複製への影響を探索中である。これらはHIV-1遺伝子産物の機能解明に寄与するだけでなく、新たなウイルス増殖阻害手段の開発に役立つと考えられる。

[村上　努、篠田知宏、宮内浩典、駒野　淳、高橋信弘（東京農工大）、松田善衛]

5．CXCR4の空間的発現制御に関する研究

HIV-1はCXCR4をレセプター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。その結果CXCR4のcytoplasmic domainには、リガンド非依存的に細胞表面から効率的に細胞内へと輸送されるために必要なシグナル配列Ser-Asp/Glu-Serが存在すること、これがリガンド依存的な輸送シグナルと異なることを発見した。本研究はエイズウイルス感染制御法開発に資するだけでなく、CXCR4によるがん細胞の転移メカニズムの解明とその抑止法の開発、CXCR4の遺伝的変異をもつWHIM症候群の病体解明にも大きく貢献することが期待される。

[駒野　淳、貝の瀬由成、青木　徹、浦野恵美子、二橋悠子、宮内浩典、磯貝まや、松田善衛]

6. P-TEFb(CyclinT/CDK9複合体)の活性化を抑制する宿主因子HEXIM1によるHIV-1複製制御

HIV-1の増殖においてTatによるLTRの転写活性化は重要な鍵となる。Tatによる転写開始と転写伸長にはCDK9とcyclinT1からなるP-TEFbが必要であり、Tat依存的な転写はHIV-1の複製を制御する治療の標的のひとつになると考えられている。HEXIM1はP-TEFbと7SKsnRNAの結合させることによってP-TEFbのinhibitorとなることが明らかとなった。そこで我々はP-TEFbの宿主由来の阻害因子であるHEXIM１が培養細胞においてHIV-1の複製にどのような影響を与えるのかを検討した。その結果、HEXIM１の一過性発現系においてHEXIM1はLTRからのTat依存的な転写を阻害した。HEXIM1の発現は細胞増殖に影響を与えなかった。また、HEXIM1を恒常的に発現したCEM, SUP-T1, MOLT-4, Jurkat細胞はGFPのみを発現しているコントロール細胞と比較してウイルス複製を強く抑制した。この抑制はHIV-1に特異的で、HSV-1, Adenovirus, vaccinia virusの複製には影響を及ぼさなかった。HEXIM1はHIV-1の複製を負に制御する宿主因子であり、エイズ治療において新規の標的となるかもしれない。

[清水佐紀、浦野恵美子、二橋悠子、宮内浩典、磯貝まや、松田善衛、納富香子、小野木利成、武部　豊、山本直樹、駒野　淳]

VI. HIV 感染動物モデルの開発に関する研究

1．Cell-associated virus 経粘膜感染によるサル・エイズモデル開発

HIV 感染症における感染源として Cell-associated virus の重要性はいくつか報告されているにも係らず、既存のサル/エイズモデルを始め、全ての動物モデルは Cell free virus のみを用いている。感染源としての Cell-associated virus の重要性を確認すると共に、Cell-associated virus 経粘膜感染によるサル・エイズモデルを確立し、ワクチン評価や HIV 粘膜感染機序解明に資することを目的として今年度は次の実験を行った。一昨年までに、2 頭のサルにおいて SHIV 感染細胞の経直腸的接種により感染が成立し、感染後の血中ウイルス動態と CD4 細胞数動態は、Cell Free SHIV 経直腸感染後の動態と同様であることを確認している。今回も同じ HIV 感染症の動物モデル・SHIV/カニクイサルエイズモデルを用いた。血液そのものに SHIV 感染細胞を浮遊させ、より精液環境に近い感染源を作成し、それを経直腸的にカニクイサルに接種した。接種後、ウイルスの感染を血中ウイルス量でモニターし、病原性について血中 CD4 細胞数の推移で判定した。その結果、一昨年の 2 頭と併せると、$4x10^6$ 個の感染細胞を接種した 4 頭全てと $4x10^5$ 個の感染細胞を接種した 2 頭全てが感染した。感染が成立した殆どのサルで、典型的なウイルス血症動態と重篤な CD4 細胞消失が確認されたが、$4x10^5$ 個の感染細胞を接種した 1 頭は一過性のウイルス血症と一過性の CD4 細胞減少が見られたのみであった。$4x10^4$ 個の感染細胞を接種した 2 頭では感染が成立しなかった。全血に浮遊させる直前の細胞洗浄液中ウイルス量検査の結果から、接種源中に残存する Cell free virus の感染力価は 0.1MID50(50%サル感染量)以下と推定された。以上の結果からこの SHIV 感染細胞のサルへの感染力価、1MID50 は $4x10^5$ 個と暫定的に評価した。今回確立された Cell-associated virus 経粘膜感染によるサル/エイズモデルは、既存のモデルに比べてよりヒトに近い動物モデルであると考えられることから、感染機序や病態の解明が進み効果的なワクチン開発に貢献すると考えられる。

[仲宗根正、兼清優、吉野直人、山本直樹、網康至(動物

管理室)]

2．ヒト PBMC 移植 NOD/SCID マウスを用いたマンノース結合レクチン（MBL）の抗 HIV 効果

自然免疫に影響する液性因子としてケモカインと動物レクチンが知られている。血清中に認められる動物レクチンは、その性状や産生機構の解析が進められ、生物学的に感染症のコントロールにも寄与していることが示唆されてきた。その一つである MBL は、HIV に対するその糖結合特異性から考えて広範な HIV ウイルスのコントロールに寄与する可能性を有している。昨年までの我々の研究により、MBL や種々の組換え MBL の抗 HIV 活性を *in vitro* の PBMC を用いた中和アッセイでの検討を行った結果、各 MBL 産生クローンで HIV 感染抑制活性に差はあるが HIV 感染防御能を確認した。今年度、生体内での MBL の効果を明らかにするために、ヒト PBMC を移植した hu-PBL-NOD/SCID マウスに HIV-1 臨床分離株を腹腔接種する HIV/AIDS 小動物評価系を用いて、MBL の抗 HIV 活性を評価した。組換え MBL は 2-12 株、MO1P05 株の 2 種類を用いて各々をマウスに単回投与した後、血中ウイルス量を測定しウイルス感染に対する防御反応を検討した。その結果、MBL は HIV の中和抗体の受動免疫に比べて、感染を完全に阻止することはできなかったが、明らかにウイルスの増殖を抑制した。従って、*in vitro* の中和実験の結果を加味すると、広範囲の HIV に対し *in vivo* でも機能することが示唆された。今後、さらに HIV 感染モデル動物を用いて抗 HIV 活性の高い組換え MBL 新規株を選別し、組換え MBL の HIV 治療薬としての可能性を探索する。

[堀端重男、網康至(動物管理室)、大谷克城(旭川医科大学)、坂本隆志(扶桑薬品)、岸雄一郎(扶桑薬品)、木佐木博(扶桑薬品)、鈴木定彦(北海道大学)、駒野淳、山本直樹、若宮伸隆(旭川医科大学)、本多三男]

3．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

NOD/SCID/gamma(c)(null)マウス（NOG マウス）は、ヒト造血幹細胞の生着に優れ、従来の SCID マウスでは困難であったヒト T 細胞を含めた各種ヒトリンパ球の発生が再現できる。このヒト型マウスを用い、HIV-1 感染・エイズ発症の詳細な研究、そして新規抗エイズ薬やワクチン開発に使用可能な新しいモデルマウスの開発に取り組んでいる。HIV-1 感染実験により、R5 および X4 HIV-1 に効率よく感染し、感染後 3 ヶ月以上にわたって血中に高いウイルスコピー数が持続する慢性感染系が確立した。末梢血、脾臓中の CD4 陽性 T 細胞の減少、胸腺細胞の破壊がみられ、なかには HIV-1 特異抗体を産生する個体があった。以上の結果から、ヒト造血幹細胞移植マウスは、エイズ発症機序の研究や新規治療法の開発に応用可能と考えられる。

[渡辺哲、寺嶋一夫、太田信頼、堀端重男、山本直樹、本多三男]

4．疾患解析モデルとしてのモルモット有用性の確立

感染症研究所では、J 系の確立などモルモットの疾患モデルとしての有用性に着目し、ワクチン効果判定に応用してきた。しかし、解析方法の不備により研究は限られたものになっている。本研究では、免疫反応の解析を可能にするために、フローサイトメーターを用いたはく血球分画の同定法、リンパ球亜型の特性、さらにモルモット特有の細胞室内封入対を有するクーロフ細胞の解析をおこない、モルモット NK 細胞の同定法とその細胞の特性を細胞表面マーカーと生物活性から明らかにした。

[滝澤万里、千葉丈(東京理科大学)、山本直樹、本多三男]

5．モルモット BCG 接種モデルを用いた糖脂質抗原に対する免疫応答の解析

BCG 免疫モルモットの PBMC を *in vitro* で BCG または結核菌由来の trehalose 6,6'-dimycolate (TDM) と lipoarabinomannan (LAM)で刺激し、IFN-gamma SFCs を ELISPOT で測定した。BCG 免疫後 1 年のモルモットでは、TDM で刺激した場合、PPD と同様に IFN-gamma SFCs の増加が見られた。しかし、LAM で刺激した場合には IFN-gamma SFCs の明らかな増加は見られなかった。これらの事から、BCG 免疫のコートファクターとしての TDM は、モルモット BCG 免疫において、T 細胞レベルで IFN-gamma を誘導する能力を持っている事を明らかにした。現在 BCG 接種直後より、ELISPOT やリンパ球増殖反応を行い、経時的に TDM と LAM に対する細胞性免疫を観察している。また、結核菌の噴霧感染実験を用いた感染防御能についても検討中である。

[相澤志保子、山本直樹、本多三男]

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　・、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

同一系統の高病原性ウイルス材料より、病原性の異なる２種類の分子クローンSHIV-89.6P clone64（Cl64）とSHIV-C2/1 KS661（C2/1）が得られている。両者共にマカクザルに接種後、強度のウイルス血症を引き起こすが、後者がエイズ様症状を惹起するのに対して、前者は3年以上経過観察してもエイズ様症状は見られない。両ウイルス間に見られる病原性の差を規定するゲノム領域を同定するため、両ウイルス間で種々の組換えウイルスを作製し、それらの性状を培養細胞感染試験、及びマカクザル接種試験にて詳細に調べた。

その結果、pol遺伝子内の変異とenv gp41遺伝子内の変異が病原性に関わっていることが示唆された。両方の変異を持つC2/1は強い病原性を示すが、どちらか一方がCl64型になると病原性が弱くなることが明らかになった。また、Cl64は安定な低病原性を示すが、ここにC2/1型pol遺伝子を導入すると、ウイルス接種ザル中でenv gp41のCl64→C2/1型変換が起こり、高病原性を獲得したウイルスが出現することが観察された。C2/1型env gp41は病原性発現に必須と考えられる。なお、親ウイルスのSIVmac239のtRNAプライマー結合部位にはそのtRNA（リジンtRNA）と相補的でない部分が一ヶ所あるが、本研究において、種々の組換えSHIVのin vivo及びin vitro感染時の遺伝子変化を追うと、何れウイルスもリジンtRNAと相補的な塩基に収斂することが明らかになった。
[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（Δ5G）感染ザルにおける抗体誘導の解析

HIV/SIV の Env(スパイクタンパク)は多数の糖鎖に覆われている。また HIV/SIV 感染では有効な中和抗体が誘導されないが糖鎖の一部を欠失させた変異ウイルスは中和されやすくなる。さらに複数の糖鎖を欠失した糖鎖欠失変異ウイルスは宿主により感染が制御されることから、その原因として有効な中和抗体の誘導が報告された。我々は SIV239 を元に新たに５糖鎖欠失変異ウイルス（Δ5G）を作成しアカゲザル感染において感染制御されることを見いだした。そこでΔ5G 感染制御における液性免疫の役割について解析した。中和抗体誘導の解析の結果、5 頭中 4 頭に IC50（50%感染阻害）で 65～2550 倍の中和抗体価が認められたが、感染制御に有効だと考えられる IC90（90%感染阻害）では 2 頭のみが 100～500 倍の中和抗体価を示しただけであった。さらに中和抗体が検出されたのは血中ウイルス RNA 量がピーク時の 1000～10000 分の 1（100～1000 コピー/ml）に低下した感染後 8～12 週であった。これら結果はΔ5G 感染の初期感染後の抑制における中和抗体の役割を支持しなかった。しかし ELISA 抗体誘導の解析からは、Δ5G 感染ザル特異的に糖鎖欠失部位の近傍のリニアエピトープ（V1/V2 領域）を認識する抗体がすべてのサルに感染後 3～4 週をピークに検出された。この抗体はΔ5G ウイルス粒子に結合することが可能であったが、中和抗体ではなかった。しかしΔ5G ウイルス粒子結合能が高かったサルはその後に中和抗体誘導がサルであった。以上の結果から、これまでに報告されている知見と同様に、糖鎖は Env の抗体エピトープを遮蔽しており、それを欠失することによりΔ5G 感染においてΔ5G 特異的抗体が誘導された。しかし中和抗体誘導は個体差が大きく半数以下の個体でのみ誘導されたことから宿主因子等のウイルスの性質以外の因子が関与することが示唆された。糖鎖欠失ウイルスの感染制御には中和抗体誘導以外の機序が推測された。
[杉本智恵、森　一泰]

9. 糖鎖欠失ウイルス（Δ5G）の初期感染の解析

糖鎖欠失 SIV（Δ5G）の弱毒化のメカニズムを解明するため、アカゲザルにおけるΔ5G とその親株であり高病原性の SIV239 の初期感染を比較解析した。免疫染色法による感染組織における感染細胞の同定と各組織から分離したリンパ球中の SIV proviral DNA の定量により、感染後 9 日目において、SIV239 感染ザルでは腸管粘膜組織、全身性リンパ器官において高い感染が認められた。しかしΔ5G 感染ザルでは腸管以外の組織での感染は低かった。12-14 日後、SIV239 感染ザルでは引き続きすべてのリンパ組織で感染が認められたが、Δ5G 感染ザルでは腸管での感染は低下し、全身性リンパ組織での感染も低かった。各組織から分離したリンパ球を用い、flowcytometry により CD4 T 細胞の memory 細胞分化について解析した。初期感染による CCR5+ memory CD4 T 細胞の減少は SIV239 感染で顕著であった。Δ5G 感染でも程度は低いが減少が確認された。しかし central memory (CD28+CD95+) CD4 T 細胞の減少は SIV239 感染のみで観察され、Δ5G

感染では維持されていた。以上の結果から、SIV239 感染と比較して、Δ5G 感染では全身性リンパ組織への感染の拡大が低いこと、感染組織である腸管において central memory CD4 T 細胞が維持されていることが示された。central memory CD4 T 細胞はエイズウイルスに対する防御免疫誘導に重要であることから、Δ5G の弱毒化との関連が示唆された。また、これらの原因としてΔ5G の感染標的 CD4 T 細胞が SIV239 と異なる性質を持つ CD4 T 細胞である可能性が推測された。
[杉本智恵、森　一泰]

10．新規糖鎖欠失ウイルスの性質とアカゲザルでの感染

糖鎖欠失 SIV（Δ5G）は in vitro におけるウイルス学的性質として、マクロファージ指向性、CD4 非依存性、中和抗体感受性を示す。これらの性質とアカゲザル感染における弱毒化との関連性を調べるため、新たな糖鎖欠失 SIV を作成した。新規の糖鎖欠失 SIV を以下に示す。(1) Δ5G-v1:Δ5G の 5 箇所の糖鎖欠失のうち 1 箇所（171 番目のアミノ酸残基の糖鎖欠失を 71 番目のアミノ酸残基の糖鎖欠失に変換）が異なる 5 箇所の糖鎖欠失を持つ。マクロファージ指向性を示さず、Δ5G 中和抗体に対する感受性を示さない。(2) Δ5G-v2:Δ5G の 5 箇所の糖鎖欠失のうち 1 箇所（171 番目のアミノ酸残基の糖鎖欠失を 377 番目のアミノ酸残基の糖鎖欠失に変換）が異なる 5 箇所の糖鎖欠失を持つ。マクロファージ指向性は示さないが、Δ5G 中和抗体に対する感受性を示す。(3) Δ3G-234:Δ5G の 5 箇所の糖鎖欠失のうち 3 箇所の糖鎖欠失のみを持つ。Δ5G と同等のマクロファージ指向性、CD4 非依存性、中和抗体感受性を示す。新たな糖鎖欠失変異 SIV をそれぞれ 3 頭のアカゲザルに静脈内接種した。plasma viral load では、いずれのウイルス感染も感染ピークは感染後 2 週目で、10^6～10^7 コピー/ml であった。その後の viral load の低下に若干の差があり、Δ5G の低下が最も早く、Δ3G-234 の低下が最も緩やかであった。しかし、少なくとも感染後 20 週までにはどのウイルス感染でもすべてのサルで viral load が 1000 コピー/ml 以下に制御された。この結果から、糖鎖欠失 SIV の感染制御について、糖鎖数は若干の関与が認められたが、ウイルスの性質（マクロファージ指向性、CD4 非依存性、Δ5G 中和抗体に対する感受性）の関与は確認されなかった。
[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 17 年度の検体数は 136 検体（hemophilia：105・その他の感染：31）で、そのうち陽性検体は 23 検体（hemophilia：14・その他：9）であった。2006 年 7 月時点で 4,258 検体（hemophilia：3,037・その他：1,221）、そのうち陽性検体は 894 検体（hemophilia：629・その他：265）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、堀端重男、服部真一朗、本多三男]

2．エイズ長期未発症患者の HIV の遺伝子学的解析

日本の血友病 HIV 感染者の中に十数年もの間 HIV 感染をコントロールし、AIDS を発症しないという超 AIDS 長期未発症患者（Long-Term non-progressors: LTNPs）が知られている。しかしながら、その機序は解明されていない。本研究ではそのような症候を示す要因、特にウイルス遺伝子に着目し、その要因を特定し HIV/AIDS ワクチンへの応用を検討した。はじめに、HIV 感染時において重要であると考えられる HIV Env V3 領域の遺伝子解析を行った結果、LTNP 群と非 LTNP 群との間には有意差は見られなかった。更に、構造蛋白遺伝子や調節蛋白遺伝子にも広げて遺伝子と生体細胞を用いた免疫応答能の相関を検討する。
[服部真一朗、照沼　裕(日本バイオセラピー研究所)、三間屋純一(静岡県立子ども病院)、山本直樹、本多三男]

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 18 年 3 月末現在、DDBJ の HIV 遺伝子

DB（135,338 件）に加えて、提供 HIV 感染者 572、ウイルス分離解析数 3,669、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．高度のゲノム多様性をもつ RNA ウイルスに対する至適 siRNA 設計アルゴリズムの開発

HIV、HCV に代表される RNA ウイルスでは高いゲノム多様性のため、siRNA 配列の選択が容易でない。そこで我々はデータベースに登録されたウイルスゲノムをもとに、ウイルス配列に高度に保存され、かつ siRNA として高い活性が期待され、ヒト遺伝子に対してオフ・ターゲット効果が特に少ないと予想される配列を、網羅的に検索するプログラム（siVirus）を開発した。
[内藤雄樹（東大理）、納富香子、磯貝まや、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。
[石川晃一、ガーナ野口研究所]

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（平成 17 年 6 月 20 日−7 月 29 日　第 3 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）

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、確固とした診断技術に基づいた HIV-1 の蔓延状況の正確な把握が必須である。従来 HIV-1 の感染診断は 感染の有無を問う血清学的診断が中心であったが、HIV 感染が長期にわたることやウイルスの変異原性が高い事から、感染ウイルスの質、量を含めた診断法の重要性が高まりつつある。感染の中心となっている第三世界でも近年では抗ウイルス化学療法が可能となっており、PCR 法に基づいた質的診断が重視されるようになってきている。しかしこれらの国の多くではこれらの診断技術がよく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、上記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重視した研修を行っている。平成 17 年度にはエチオピア、フィジー、ケニア、ラオス、マレーシア、ミャンマー、パプアニューギニア、セーシェル、タンザニア、ヴェトナム、ザンビアの各国１名（計 11 名）の研修員を対象に 6 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。また研修時期を神戸で開催された ICAAP に合わせることで研修員達が世界の HIV 感染、AIDS 動向の知見も学べるよう配慮した。研修後の評価では研修員から研修の有用性について高い評価を得た。
[松田善衛、本多三男、仲宗根正、杉浦　亙、西澤雅子、藤野真之、武田　哲、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、村上　努、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)、大山卓昭(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)、畢　秀瓊(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)、前村大成(東京都西赤十字血液センター)、吉野直人(岩手医科大学)]

II．その他

1. 創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業外国人研究者招へい(平成 17 年 4 月 23 日-5 月 2 日) [杉浦　亙]

2．JICA「熱帯医学研究コース」（長崎熱帯医学研究所）講師（平成 17 年 5 月 23 日）[武部　豊]

3．結核予防会「アジア地域エイズ専門家研修」講師（平

成 17 年 6 月 3 日）[山本直樹]

4.「第４回アジア・太平洋薬学生会議スタディーツアー」講師（平成 17 年 8 月 25 日）[武部　豊]

5．JICA「ナイジェリアワークショップ」講師(平成 17 年 8 月 30 日-9 月 1 日) [杉浦　亙]

研修業務

I. 第 16 回 HIV 検査法（PCR 法等）技術研修会（平成 17 年 10 月 5 日−7 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、石川晃一、西澤雅子、藤野真之、武田　哲、松田昌和、山本直樹、今井光信(神奈川県衛生研究所)、加藤真吾(慶應義塾大学)、潟永博之(国立国際医療センター)]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1．欧文発表

1) 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.

2) 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.

3) 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.

4) 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(null) mice. Cancer Sci 96: 466-473, 2005.

5) 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 12: 1769-1777, 2005.

6) 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* bacillus Calmette-Guérin expressing human immunodeficiency virus type 1 Gag. J Virol 79: 8716-8723, 2005.

7) Ami Y, Izumi Y, Matsuo K, Someya K, Kanekiyo M, Horibata S, Yoshino N, Sakai K, Shinohara K, Matsumoto S, Yamada T, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M. Priming-boosting vaccination with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin and a nonreplicating vaccinia virus recombinant leads to long-lasting and effective immunity. J Virol 79: 12871-12879, 2005.

8) van Ginkel FW, Jackson RJ, Yoshino N, Hagiwara Y, Metzger DJ, Connell TD, Vu HL, Martin M, Fujihashi K, McGhee JR: Enterotoxin-based mucosal adjuvants alter antigen trafficking and induce inflammatory responses in the nasal tract. Infect Immun 73: 6892-6902, 2005.

9) Yan H, Mizutani TC, Nomura N, Takakura T, Kitamura Y, Miura H, Nishizawa M, Tatsumi M, Yamamoto N, Sugiura W: A novel small molecular weight compound with a carbazole structure that demonstrates potent human immunodeficiency virus type-1 integrase inhibitory activity. Antivir Chem Chemother 16: 363-373, 2005.

10) Ueda T, Myint L, Nishizawa M, Matsuda M, Sugiura W: Analysis of interference and co-evolution between protease inhibitor resistant mutations and gag mutations. Antivir Ther 10:s116, 2005.

11) Hasegawa N, Sugiura W, Matsuda M, Mogushi K, Tanaka H, Ren F: Inference of evolutionary forces driving HIV-1 drug-resistance acquisition under HAART using longitudinal HIV-1 protease gene samples. Antivir Ther 10:s114, 2005.

12) 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.

13) 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.

14) 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: 325-337, 2005.

15) 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: 56-61, 2005.

16) 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 175: 2541-2547,2005.

17) 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 21 (11): 977-980, 2005.

18) 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(8): 4720-4729, 2005.

19) Komano J, Futahashi Y, Urano E, Miyauchi K, Murakami T, Matsuda Z, Yamamoto N: The interaction of HIV-1 with the host factors. Jpn J Infect Dis 58(3): 125-130, 2005.

20) Mori K, Sugimoto C, Ohgimoto S, Nakayama E, Shioda T, Kusagawa S, Takebe Y, Kano M, Matano T, Yuasa T, Kitaguchi 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 $SIV_{mac}239$ in a macaque AIDS model. J Virol 79: 10386-10396, 2005.

21) Barnor JS, Miyano-Kurosaki N, Yamaguchi K, Sakamoto A, Ishikawa K, Yamamoto N, Osei-Kwasi M, Ofori-Adjei D, Takaku H: The middle to 3'end of the HIV-1 vif gene sequence is important for vif biological activity and could be used for antisense oligonucleotide targets. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 24: 1745-1761, 2005.

22) Yoshida A, Tanaka R, Kodama A, Yamamoto N, Ansari AA, Tanaka Y: Identification of HIV-1 epitopes that induce the synthesis of a R5 HIV-1 suppression factor by human CD4+ T cells isolated from HIV-1 immunized hu-PBL SCID mice. Clin Dev Immunol 12(4): 235-242, 2005.

23) Dewan MZ, Terunuma H, Ahmed S, Ohba K, Takada M, Tanaka Y, Toi M, Yamamoto N: Natural killer cells in breast cancer cell growth and metastasis in SCID mice. Biomed Pharmacother 59 Suppl 2:S375-379. Review, 2005.

24) Tamamura H, Esaka A, Ogawa T, Araki T, Ueda S, Wang Z, Trent JO, Tsutsumi H, Masuno H, Nakashima H, Yamamoto N, Peiper SC, Otaka A, Fujii N: Structure-activity relationship studies on CXCR4 antagonists having cyclic pentapeptide scaffolds. Org Biomol Chem 3(24): 4392-4394, 2005.

25) Baba S, Takahashi K, Noguchi S, Takaku H, Koyanagi Y, Yamamoto N, Kawai G: Solution RNA structures of the HIV-1 dimerization initiation site in the kissing-loop and extended-duplex dimers. J Biochem (Tokyo) 138(5): 583-592, 2005.

26) Barnor JS, Miyano-Kurosaki N, Yamaguchi K, Abumi Y, Ishikawa K, Yamamoto N: Lentiviral-mediated delivery of combined HIV-1 decoy TAR and Vif siRNA as a single RNA molecule that cleaves to inhibit HIV-1 in transduced cells. Nucleosides Nucleotides Nucleic

Acids 24(5-7): 431-434, 2005.

27) Zhong Y, Matsuya Y, Nemoto H, Mori M, Saito H, Yamamoto N: Novel phorbol esters exert dichotomous effects on inhibition of HIV-1 infection and activation of latent HIV-1 expression. Antivir Chem Chemother 16(5): 303-313, 2005.

28) Chang MO, Yamamoto N, Horiuchi S, Wu YF, Fujimoto M, Yamamoto N: Production and characterization of a monoclonal antibody specific to Nef-associated factor 1 (Naf1)/A20-binding inhibitor of NF-kappaB activation(ABIN-1). Hybridoma (Larchmt) 24(5): 248-257, 2005.

29) Munkanta M, Handema R, Kasai H, Gondwe C, Deng X, Yamashita A, Asagi T, Yamamoto N, Ito M, Kasolo F, Terunuma H: Predominance of three NF-kappaB binding sites in the long terminal repeat region of HIV Type 1 subtype C isolates from Zambia. AIDS Res Hum Retroviruses 21(10): 901-906, 2005.

30) Ohkura S, Yamashita M, Ishida T, Babu PG, Koyanagi Y, Yamamoto N, Miura T, Hayami M: Phylogenetic heterogeneity of new HTLV type 1 isolates from southern India in subgroup A. AIDS Res Hum Retroviruses 21(4): 325-330, 2005.

31) Zhong Y, Yoshinaka Y, Takeda T, Shimizu N, Yoshizaki S, Inagaki Y, Matsuda S, Honda G, Fujii N, Yamamoto N: Highly potent anti-HIV-1 activity isolated from fermented Polygonum tinctorium Aiton. Antiviral Res 66(2-3): 119-128, 2005.

32) Kuramitsu M, Hashizume C, Yamamoto N, Azuma A, Kamata M, Yamamoto N, Tanaka Y, Aida Y: A novel role for Vpr of human immunodeficiency virus type 1 as a regulator of the splicing of cellular pre-mRNA. Microbes Infect 7(9-10): 1150-1160, 2005.

33) Shaku F, Matsuda G, Furuya R, Kamagata C, Igarashi M, Tanaka M, Kanamori M, Nishiyama Y, Yamamoto N, Kawaguchi Y: Development of a monoclonal antibody against Epstein-Barr virus nuclear antigen leader protein (EBNA-LP) that can detect EBNA-LP expressed in P3HR1 cells. Microbiol Immunol 49(5): 477-483, 2005.

34) Miura H, Maeda M, Yamamoto N, Yamaoka S: Distinct IkappaB kinase regulation in adult T cell leukemia and HTLV-I-transformed cells. Exp Cell Res 308(1): 29-40, 2005.

35) 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 48(9): 3280-3289, 2005.

36) Nonaka M, Horie R, Itoh K, Watanabe T, Yamamoto N, Yamaoka S: Aberrant NF-kappaB2/p52 expression in Hodgkin/Reed-Sternberg cells and CD30-transformed rat fibroblasts. Oncogene 24(24): 3976-3986, 2005.

37) 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 DE, Peiris JS, Chen PJ, 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(17-18): 2269-2272, 2005.

38) Saitoh T, Yamamoto M, Miyagishi M, Taira K, Nakanishi M, Fujita T, Akira S, Yamamoto N, Yamaoka S: A20 is a negative regulator of IFN regulatory factor 3 signaling. J Immunol 174(3): 1507-1512, 2005.

39) 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 analogues of the CXCR4 antagonist FC131. J Med Chem 48(2): 380-391, 2005.

40) Dewan MZ, Terashima K, Ahmed S, Ohba K, Taruishi M, Yamamoto N: Mouse serum factor(s) down-modulate the CD4 and CXCR4 molecules on human T cells conferring resistance to HIV infection in NOG mice. Med Microbiol Immunol (Berl) 194(4): 175-180, 2005.

41) Dewan MZ, Uchihara JN, Terashima K, Honda M, Sata T, Ito M, Fujii N, Uozumi K, Tsukasaki K, Tomonaga M, Kubuki Y, Okayama A, Toi M, Mori N, Yamamoto N: Efficient intervention of growth and infiltration of primary adult T-cell leukemia cells by an HIV protease inhibitor, ritonavir. Blood 107: 716-724, 2006.

42) Kawahara M, Matsuo K, Honda M: Intradermal and oral immunization with recombinant *Mycobacterium bovis* BCG expressing the simian immunodeficiency virus Gag protein induces long-lasting, antigen-specific

immune responses in guinea pigs. Clin Immun 119: 67-78, 2006.

43) Someya K, Ami Y, Nakasone T, Izumi Y, Matsuo K, Horibata S, Xin KQ, Yamamoto H, Okuda K, Yamamoto N, and Honda M. Induction of positive cellular and humoral immune responses by a prime-boost vaccine encoded with simian immunodeficiency virus *gag/pol*. J Immunol 176: 1784-1795, 2006.

44) Takizawa M, Chiba J, Haga S, Asano T, Yamazaki T, Yamamoto N, Honda M: Novel two-parameter flow cytometry (MIL4/ SSC followed by MIL4/CT7) allows for identification of five fractions of guinea pig leukocytes in peripheral blood and lymphoid organs. J Immunol Methods 311: 47-56, 2006.

45) Miyake A, Ibuki K, Enose Y, Suzuki H, Horiuchi R, Motohara M, Saito N, Nakasone T, Honda M, Watanabe T, Miura T, Hayami M: Rapid dissemination of a pathogenic simian/human immunodeficiency virus tosystemic organs and active replication in lymphoid tissues following intrarectal infection. J Gen Virol 87: 1311-1320, 2006.

46) Eda Y, Murakami T, Ami Y, Nakasone T, Takizawa M, Someya K, Kaizu M, Izumi Y, Yoshino N, Matsushita S, Higuchi H, Matsui H, Shinohara K, Takeuchi H, Koyanagi Y, Yamamoto N, Honda M: Anti-V3 humanized antibody KD-247 effectively suppresses *ex vivo* generation of human immunodeficiency virus type 1 and affords sterile protection of monkeys against a heterologous simian/human immunodeficiency virus infection. J Virol 80: 5563-5570, 2006.

47) Eda Y, Takizawa M, Murakami T, Maeda H, Kimachi K, Yonemura H, Koyanagi S, Shiosaki K, Higuchi H, Makizumi K, Nakashima T, Osatomi K, Tokiyoshi S, Matsushita S, Zolla-Pazner S, Yamamoto N, Honda M: Sequential immunization with V3 peptides from primary HIV-1 produces cross-neutralizing antibodies against primary isolates with matching narrow neutralization sequence motif. J Virol 80: 5552-5562, 2006.

48) Misumi S, Nakayama D, Kusaba M, Iiboshi T, Mukai R, Tachibana K, Nakasone T, Umeda M, Shibata H, Endo M, Takamune N, Shoji S: Effects of immunization with CCR5-based cycloimmunogen on simian/HIVSF162P3 challenge. J Immunol 176: 463-471, 2006.

49) Motohara M, Ibuki K, Miyake A, Fukazawa Y, Inaba K, Suzuki H, Masuda K, Minato N, Kawamoto H, Nakasone T, Honda M, Hayami M, Miura T: Impaired T-cell differentiation in the thymus at the early stages of acute pathogenic chimeric simian human immunodeficiency virus (SHIV) infection in contrast to less pathogenic SHIV infection. Microbes Infect 8: 1539-1549, 2006.

50) Ono S, Kurotaki T, Nakasone T, Honda M, Boon-Long J, Sawanpanyalert P, Kimura K: Cost-effectiveness analysis of antiretroviral drug treatment and HIV-1 vaccination in Thailand. Jpn J Infect Dis 59: 168-173, 2006.

51) Snoeck J, Kantor R, Shafer RW, Van Laethem K, Deforche K, Carvalho AP, Wynhoven B, Soares MA, Cane P, Clarke J, Pillay C, Sirivichayakul S, Ariyoshi K, Holguin A, Rudich H, Rodrigues R, Bouzas MB, Brun-Vezinet F, Reid C, Cahn P, Brigido LF, Grossman Z, Soriano V, Sugiura W, Phanuphak P, Morris L, Weber J, Pillay D, Tanuri A, Harrigan RP, Camacho R, Schapiro JM, Katzenstein D, Vandamme A-M: Discordances between interpretation algorithms for genotypic of human immunodeficiency virus are subtype dependent. Antimicrob Agents Chemother 50(2): 694-701,2006.

52) Huy TT, Ishikawa K, Ampofo W, Izumi T, Nakajima A, Ansah J, Tetteh JO, Nii-Trebi N, Aidoo S, Ofori-Adjei D, Sata T, Ushijima H, Abe K.: Characteristics of hepatitis B virus in Ghana: full length genome sequences indicate the endemicity of genotype E in West Africa. J Med Virol 78(2): 178-184, 2006.

53) Yamamoto M, Okamoto T, Takeda K, Sato S, Sanjo H, Uematsu S, Saitoh T, Yamamoto N, Sakurai H, Ishii KJ, Yamaoka S, Kawai T, Matsuura Y, Takeuchi O, Akira S: Key function for the Ubc13 E2 ubiquitin-conjugating enzyme in immune receptor signaling. Nat Immunol 7(9): 962-970, 2006.

54) Fukuhara T, Hosoya T, Shimizu S, Sumi K, Oshiro T, Yoshinaka Y, Suzuki M, Yamamoto N, Herzenberg LA, Herzenberg LA, Hagiwara M: Utilization of host SR protein kinases and RNA-splicing machinery during viral replication. Proc Natl Acad Sci U S A 103(30): 11329-11333, 2006.

55) Dewan MZ, Ahmed S, Iwasaki Y, Ohba K, Toi M, Yamamoto N: Stromal cell-derived factor-1 and CXCR4 receptor interaction in tumor growth and metastasis of

breast cancer. Biomed Pharmacother 60(6): 273-276, 2006.

56) Tamamura H, Tsutsumi H, Masuno H, Mizokami S, Hiramatsu K, Wang Z, Trent JO, Nakashima H, Yamamoto N, Peiper SC, Fujii N: Development of a linear type of low molecular weight CXCR4 antagonists based on T140 analogs. Org Biomol Chem 4(12): 2354-7, 2006.

57) Shigeta S, Mori S, Yamase T, Yamamoto N, Yamamoto N: Anti-RNA virus activity of polyoxometalates. Biomed Pharmacother 60(5): 211-219, 2006.

58) Tamamura H, Ojida A, Ogawa T, Tsutsumi H, Masuno H, Nakashima H, Yamamoto N, Hamachi I, Fujii N: Identification of a new class of low molecular weight antagonists against the chemokine receptor CXCR4 having the dipicolylamine-zinc(II) complex structure. J Med Chem 49(11): 3412-3415, 2006.

59) Saitoh T, Tun-Kyi A, Ryo A, Yamamoto M, Finn G, Fujita T, Akira S, Yamamoto N, Lu KP, Yamaoka S: Negative regulation of interferon-regulatory factor 3-dependent innate antiviral response by the prolyl isomerase Pin1. Nat Immunol 7(6): 598-605, 2006.

60) Richards PJ, Nowell MA, Horiuchi S, McLoughlin RM, Fielding CA, Grau S, Yamamoto N, Ehrmann M, Rose-John S, Williams AS, Topley N, Jones SA: Functional characterization of a soluble gp130 isoform and its therapeutic capacity in an experimental model of inflammatory arthritis. Arthritis Rheum 54(5): 1662-1672, 2006.

61) Nimura F, Zhang LF, Okuma K, Tanaka R, Sunakawa H, Yamamoto N, Tanaka Y: Cross-linking cell surface chemokine receptors leads to isolation, activation, and differentiation of monocytes into potent dendritic cells. Exp Biol Med (Maywood) 231(4): 431-443, 2006.

62) Horiuchi S, Yamamoto N, Dewan MZ, Takahashi Y, Yamashita A, Yoshida T, Nowell MA, Richards PJ, Jones SA, Yamamoto N: Human T-cell leukemia virus type-I Tax induces expression of interleukin-6 receptor (IL-6R): Shedding of soluble IL-6R and activation of STAT3 signaling. Int J Cancer 119(4): 823-830. 2006.

63) Naito Y, Ui-Tei K, Nishikawa T, Takebe Y, Saigo K: siVirus: web-based antiviral siRNA design software for highly divergent viral sequences. Nucl Acid Res 2006,in press.

64) Takebe Y, Telesnitsky A: Evidence for the acquisition of multidrug resistance by an HIV clinical isolate *via* human sequence transduction. Virology 2006, in press.

65) Murakami Y, Yamagoe S, Noguchi K, Takebe Y, Uehara Y, Fukazawa H: (2006). Latency-associated nuclear antigen of Kaposi sarcoma virus interacts with Daxx to activate Ets-1-dependent expression of vascular endothelial growth factor receptor genes. J Biol Chem 2006, in press.

66) Watanabe S, Terashima K, Ohta S, Horibata S, Yajima M, Shiozawa Y, Dewan MZ, Yu Z, Ito M, Morio T, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N: Hematopoietic stem cell-engrafted NOD/SCID/IL2R{gamma}null mice develop human lymphoid system and induce long-lasting HIV-1 infection with specific humoral immune responses. Blood 2006, in press.

67) Yamamoto T, Miyoshi H, Yamamoto N, Yamamoto N, Inoue JI, Tsunetsugu-Yokota Y: Lentivirus vectors expressing short hairpin RNAs against the U3-overlapping region of HIV nef inhibit HIV replication and infectivity in primary macrophages. Blood 2006, in press.

2．和文発表

1) 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.

2) 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.

3) 松尾和浩:ワクチンベクターとしての BCG(総説)．臨床免疫．43: 659-664, 2005.

4) 松尾和浩：エイズワクチン開発研究の進むべき方向（解説）. 病原微生物検出情報 (IASR)．26: 117-119, 2005.

5) 兼清優，本多三男：サル類の P3 施設における感染実験．オベリスク．10: 7-11, 2005.

6) 杉浦　亙： 抗 HIV-1 薬剤の現状と薬剤開発の新たな展開．ウイルス．55: 85-94, 2005.

7) 西澤雅子，杉浦　亙：HIV-1 の薬剤耐性についての知見．BIO Clinica．20:51-57, 2005.

8) 杉浦 亙：新規感染者における薬剤耐性 HIV 拡散の危機～Alert for Outbreak of Drug Resisitance HIV-1 Newly Infected Population～ 日本エイズ学会誌．7: 117-120, 2005.

9) 杉浦　亙，潟永博之，田宮貞宏，松田昌和，松見信太郎，蜂谷敦子，John Coffin，満屋裕明：シンポジ

ウム 7.「薬剤耐性の知見、基礎から臨床へ」を終えて．日本エイズ学会誌．7(3): 180-188, 2005.
10) 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 2005. 28: 5-7, McCann Healthcare Publishing, 2005.
11) 山本直樹，松田善衛，村上努，駒野　淳：AIDS の新たな治療標的を求めて：HIV-1 の宿主因子．実験医学．23(13): 2068-2073, 2005.
12) 石川晃一，山本直樹：HIVワクチン開発の動向．アニムス．39: 17-25, 2005.
13) 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）. 173: 9-16, メディカル・サイエンス・インターナショナル．東京．2005, in press.

II. 学 会 発 表

1．国際学会

1) Takebe Y: Precise mapping of recombination breakpoints of HIV-1 recombinants in Asia: Insight into *in vivo* recombination mechanism. 12th International Workshop on HIV Dynamics and Evolution, Apr.23-26, 2005, Cleveland, Ohio, USA.
2) Yamamoto N: Human retrovirus infections and their control. German-Japanese Symposium on Emerging and Reemerging Viruses. May 14-17, 2005, Toyama, Japan.
3) Miyauchi K, Curran R, Komano J, Murakami T, Yamamoto N, Engelman DM, Matsuda Z: The rotational phase of the localized region of gp41 membrane-spanning domain alpha-helix affected the Env biogenesis. CSH Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2005, Cold Spring Harbor, NY, USA.
4) Miyauchi K, Curran R, Komano J, Murakami T, Yamamoto N, Engelman DM, Matsuda Z: The role of the additional glycine residue within a conserved GXXXG motif of the membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). CSH Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2005, Cold Spring Harbor, NY, USA.
5) Murakami T, Ablan S, Nagashima K, Komano J, Miyauchi K, Matsuda Z, Freed EO, Yamamoto N: Characterization of HIV-1 matrix mutants-Effects on an early stage of infection. CSH Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2005, Cold Spring Harbor, NY, USA.
6) Hasegawa N, Sugiura W, Matsuda M, Mogushi K, Tanaka H, Ren F: Inference of evolutionary forces driving HIV-1 drug -resistance acquisition under HAART using longitudinal HIV-1 protease gene samples. 14th International HIV Drug Resistance Workshop, June 7-11, 2005, Quebec, Canada.
7) Ueda T, Myint L, Nishizawa M, Matsuda M, Sugiura W: Analysis of interference and co-evolution between protease inhibitor resistant mutations and gag mutations. 14th International HIV Drug Resistance Workshop, June 7-11, 2005, Quebec, Canada.
8) Matsuo K, Izumi Y, Someya K, Ami Y, Promkhatkaew D, Puthavathana P, Warachit P, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M: Update of HIV-1 CRF01_AE recombinant BCG and replication-defective vaccinia virus DIs vaccines. 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, Jul.1-5, 2005, Kobe, Japan.
9) Kanekiyo M, Ami Y, Matsuo K, Someya K, Suzaki Y, Yoshino N, Hasegawa A, Yamamoto N, Honda M: Enhanced effects of codon optimization on HIV/SIV gene expression in recombinant BCG in macaques. 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, Jul.1-5, 2005, Kobe, Japan.
10) Yoshino N, Kanekiyo M, Okamura T, Someya K, Hagiwara Y, Matsuo K, Ami Y, Yamamoto N, Sato S, Honda M: Intradermal immunization with replication-deficient rDIs induce SIV-specific mucosal immunity. 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, Jul.1-5, 2005, Kobe, Japan.
11) Kato S, Tsuji K, Tanaka R, Kinai E, Hanabusa H, Negishi M, Sugiura W: Quantitation of antiretroviral drugs in hair with LC/MS/MS for assessment of medication adherance. 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, July 1-5, 2005, Kobe, Japan.
12) Saeng-aroon S, Myint L, Pathipvanich P, Ariyoshi K, Wichukchinda N, Rojanawiwat A, Matsuda M, Sawanpanyalert P, Sugiura W, Auwanit W: Mutagenically-separated PCR as a tool for monitoring lamivudine (GPOvir) resistant CRF01_AE in Thailand(GPOvir). 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, July 1-5, 2005, Kobe, Japan.
13) Kozyrev IL, Sakai K, Takahashi E, Shinohara K, Takemura T, Inaba K, Suzuki H, Ibuki K, Hayami M, Miura T: Investigation of acute pathogenesis of simian and human immunodeficiency chimeric virus by comparison of its molecular clones with different

pathogenic abilities. 23rd Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Sept.21-24, 2005, Portland, Oregon, USA.

14) Sugimoto C, Izumo S, Suzuki Y, Nagai Y, Mori, K: Influence of deglycosylated SIVmac239 on primary infection in lymphatic tissues. 23rd Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Sept.21-24, 2005, Portland, USA.
15) Mori K, Sugimoto C, Nakayama E, Shioda T, Villinger F, Ansari AA, Yamamoto N: Development of Sendai virus vector system for eliciting epitope specific CD4 T cells. 23rd Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Sept.21-24, 2005, Portland, USA.
16) Honda M, Matsuo K, Ami Y, Someya K, Kanekiyo M, Izumi Y, Horibata S, Yoshino N, Sakai K, Shinohara K, Matsumoto S, Yamada T, Yamazaki S, Yamamoto N: Recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin(BCG)-based prime/boost vaccine by boosting with a non-replicating vaccinia virus recombinant. The conference Virology Africa 2005, Nov.8-11, 2005, Cape Town, South Africa.
17) Sugiura W, Matsuda M, Kakizawa J, Miura H, Takeda S, Fujino M, Nishizawa M, Yamamoto N: Changes in prevalence and patterns of drug resistant mutations in Japan - Summary of nine years nationwide HIV-1 drug resistance monitoring study from 1996 to 2004. 1st Japan-Germany HIV/AIDS Symposium, Nov.9, 2005, Nagoya, Japan.
18) Tatsumi M: Trapping system of HIV: New systems for construction of infectious molecular clones. 1st Japan-Germany HIV/AIDS Symposium, Nov.9, 2005, Nagoya, Japan.
19) Yamamoto N: Human retrovirus infections and their control. 1st Japan-German HIV/AIDS Symposium, Nov. 9, 2005, Nagoya, Japan.
20) Sugiura W, Matsuda M, Kakizawa J, Miura H, Takeda S, Fujino M, Nishizawa M, Yamamoto N: Changes in prevalence and patterns of drug resistant mutations in JAPAN-Summary of nine years nationwide HIV-1 drug resistance monitoring study（1996-2004）. 6th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov.13-16, 2005, Virginia, USA.
21) Takebe Y: Selective advantage of LTR of HIV-1 subtype C over that of subtype B in *in vivo* recombination event. 6th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov.13-16, 2005, Chantilly, Virginia, USA.
22) Honda M, Yamamoto N and other AIDS Vaccine Development Group: New collaborative Japan vaccine against HIV/AIDS. 10th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, Nov.16-17, 2005, Hanoi, Vietnam.
23) Komano J, Futahashi Y, Kainose Y, Urano U, Aoki T, Miyauchi K, Yoshida T, Koyanagi Y, Matsuda Z, Yamamoto N: Identification of SES as an SDF-1alpha-independent internalization motif of HIV-1 co-receptor CXCR4. 10th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, Nov.16-17, 2005, Hanoi, Vietnam.
24) Sugiura W: Virological and statistical analyses of interference between protease inhibitor resistant mutations and gag mutations. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb.5-8, 2006, Denver, USA.
25) Sugiura W: Multi-center nationwide survey of drug resistant HIV-1 in newly diagnosed HIV/AIDS patients in Japan from 2003 to 2004. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb.5-8, 2006, Denver, USA.
26) Takebe Y: Selective advantage of HIV-1 subtype C LTR in inter-subtype recombination *in vivo*. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb.5-8, 2006, Denver, Co, USA.
27) Takebe Y: Inter-CRF recombinants (ICRs): New class of HIV-1 recombinants and its epidemiological implications. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb.5-8, 2006, Denver, Co, USA.
28) Mori K, Sugimoto C, Nagai Y, Yamamoto N: Implication of glycosylation of Env protein for poor immune response against HIV/SIV. “AIDS Symposium” held in Pohang Univ. of Science and Technology. Feb. 8, 2006. Pohang, Korea.
29) Honda M, Matsuo K, Ami Y, Someya K, kanekiyo M, Izumi Y, Horibata S, Yoshino N, Sakai K, Shinohara K, Matsumoto S, Yamada T, Yamazaki S, Yamamoto N: Recombinant *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin(BCG)-based prime/boost vaccine by boosting with a Non-replicating Vaccinia Virus Recombinant. “AIDS Symposium” held in Pohang Univ.

of Science and Technology. Feb. 8, 2006. Pohang, Korea.

30) Nakasone T: HIV-1 isolating system and drug-resistant HIV-1 surveillance system in Japan. 中国科学院武漢ウイルス研究所研究交流集会シンポジウム, Mar.23, 2006, 武漢、中国.

2. 国内学会

1) 杉浦　亙：日本における薬剤耐性 HIV-1 の動向と対策, 第 62 回岡山ＨＩＶ診療ネットワーク，2005 年 5 月 31 日，岡山.
2) 駒野　淳：エイズ日和見リンパ腫を標的とした抗ウイルス剤の開発. 2005 年度　日本レトロウイルス研究会夏期セミナー，2005 年 6 月 3-5 日，山梨県南都留郡河口湖町.
3) 浦野恵美子，駒野　淳：ウサギ細胞における HIV-1 感染抵抗性. 2005 年度　日本レトロウイルス研究会夏期セミナー，2005 年 6 月 3-5 日，山梨県南都留郡河口湖町.
4) 吉野直人，兼清優，萩原由加利，染谷健二，松尾和浩，網康至，佐藤成大，山本直樹，本多三男：非複製化ワクシニアウイルスベクター型 HIV/AIDS ワクチンの皮内接種による粘膜組織での抗原特異的免疫応答．第 563 回岩手医学会，2005 年 7 月 14 日，盛岡.
5) 本多三男，兼清優，松尾和浩，網康至，山本直樹：リコンビナントワクチンによるサルエイズモデルのコントロール因子の解析．「サルを用いた感染症研究の現状と今後」会議，2005 年 9 月 16-17 日，京都.
6) 杉浦　亙：薬剤耐性の獲得に見る Gag と Protease の共進化, 第 7 回白馬シンポジウム, 2005 年 11 月 3-4 日，鹿児島.
7) 岡村智崇，志田壽利，長谷川篤彦，山本直樹，本多三男：高発現型ワクシニア Promoter を用いた高度弱毒化ワクシニア DIs の至適化．第 53 回日本ウイルス学会学術集会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
8) 渡辺哲，寺嶋一夫，太田信頼，矢島美彩子，塩沢容子，渡邊健，清水則夫，本多三男，山本直樹：NOG マウスで確立された全身性 HIV-1 感染系．第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
9) 杉浦　亙：HIV-1 CRF01_AE における Nelfinavir 耐性変異 N88S の耐性化機序の解析. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
10) Myint Lay，植田知幸，西澤雅子，松田昌和，三浦秀佳，杉浦　亙：プロテアーゼ阻害剤耐性変異と Gag 変異間に見る相互干渉と共進化の解析．第 53 回日本ウイルス学会学術集会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
11) 武部豊，横田侑子，小泉寛和，Xi Xiao-Jie，滝口雅文，岡慎一：HIV-1 スーパー感染：レジデント・ウイルスとスーパー感染ウイルス間の組換えウイルスの急速な出現とその生物学的意義．第 53 回日本ウイルス学会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
12) 近藤真規子, 嶋貴子, 武部豊, 加藤真吾, 今井光信：Real-time PCR 法を用いた HIV-1 プロウイルス定量法−６種類の HIV-1 サブタイプとプライマー，プローブの反応性の検討　第 53 回日本ウイルス学会, 2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
13) 草川茂，武部豊：広い宿主域と高い増殖能を持つ HIV-1 CRF08_BC 感染性分子クローンの構築. 第 53 回日本ウイルス学会, 2005 年 11 月 20-22 日, 横浜.
14) 武部豊, 納富香子, 小野木利成, 西郷薫, 内藤雄樹：バイオインフォマティックスの手法に基づいた抗 HIV-1 至適汎用 siRNA の設計とそれによる HIV-1 増殖阻害効果の評価．第 53 回日本ウイルス学会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
15) 篠田知宏，村上　努，宮内浩典，駒野　淳，磯貝まや，松田善衛，山本直樹：感染前期過程に欠損を有する変異株を用いた HIV-1 マトリックス蛋白質結合宿主因子の探索．第 53 回日本ウイルス学会学術集会．2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
16) 清水佐紀，駒野　淳，浦野恵美子，二橋悠子，宮内浩典, 磯貝まや, 松田善衛, 納富香子, 小野木利成, 武部　豊，山本直樹：HIV-1 感染細胞における Tat を介した P-TEFb の活性化を抑制する細胞内因子の解析．第 53 回日本ウイルス学会学術集会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
17) 駒野　淳，二橋悠子，浦野恵美子，貝の瀬由成，青木　徹, 宮内浩典, 磯貝まや, 松田善衛, 山本直樹：The non-tyrosine-based diacidic motif within the cytoplasmic tail regulates the cell surface expression of CXCR4. 第53回日本ウイルス学会学術集会，2005年11月20-22日，横浜.
18) 宮内浩典，駒野　淳，村上　努，松田善衛：The function of membrane-spanning domain of HIV-1 gp41 in Env biogenesis. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜.
19) 宮内浩典，駒野　淳，村上　努，松田善衛：HIV-1

gp41の膜貫通ヘリックス間相互作用—GXXXGモチーフ変異体の解析．第 53 回日本ウイルス学会学術集会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜．

20) 杉本智恵，鈴木康夫，山本直樹，永井美之，森　一泰：糖鎖欠損サル免疫不全ウイルスの細胞指向性と初期感染細胞の解析：低病原性との関連について．第 53 回日本ウイルス学会学術集会，2005 年 11 月 20-22 日，横浜．

21) 仲宗根正, 高松純樹, 杉浦亙, 佐藤裕徳, 山本伸二, Heneine Walid，山本直樹：HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法（半日）の開発．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

22) 宇佐美修，肖鵬，斉藤弘樹，芦野有悟，服部俊夫，三木祐，佐藤功，服部真一朗，仲宗根正，原敬志：東北地方の HIV 感染患者の臨床症状をウイルス特性．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

23) 徳永惠一，中山大介，三隅将吾，仲宗根正，向井鐐三郎，橘圀臣，梅田衛，柴田英昭，高宗暢暁，庄司省三：Human CC5 を基にした環状抗原の免疫により得られたカニクイザル抗血清の macaque CCR5 に対する交差反応性の検討．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

24) 渡辺哲, 寺嶋一夫, 太田信頼, 堀端重男, 清水則夫, 本多三男, 山本直樹：NOG マウスを利用した HIV-1 慢性感染実験系の確立．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

25) 吉野直人，兼清優，萩原由加利，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 ワクチンの経皮接種による粘膜免疫誘導．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

26) 岡村智崇，松尾和浩，兼清優，堀端重男，長谷川篤彦，山本直樹，本多三男：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．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

27) 村上利夫，滝澤万里，前田敏宏，松下修三，本多三男：R5 臨床分離株を中和可能なヒト化抗 HIV-1 モノクローナル抗体(KD-247)の開発．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

28) 太田信頼, 兼清優, 網康至, 相澤志保子, 山本直樹, 奥田研爾，本多三男：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．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

29) 元原麻貴子，伊吹謙太郎，三宅在子，深澤嘉伯，稲葉一寿，鈴木元，増田恭子，河本宏，仲宗根正，本多三男，速水正憲，三浦智行：強毒・弱毒 SHIV の感染初期における胸腺組織及び胸腺内 T 前駆細胞の解析．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

30) 小池　満，三好　洋，井上靖之，高橋正知，山口洋子，奥瀬千晃，杉浦　亙，中島秀喜：HIV/HIB Coinfection における HBV 耐性の検討. 第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

31) 浅黄　司, 金田次弘, 伊部史朗, 松田昌和, 吉田　繁, 津畑千佳子，大家正泰，近藤真規子，貞升健志，潟永博之, 正兼亜季, 佐藤克彦, 奏　眞美, 溝上康司, 森 治代，南　留美，渡邉香奈子，岡田清美，杉浦亙：HIV-1 薬剤耐性遺伝子検査法に関するアンケート調査．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

32) 西澤雅子，Urvi Parikh，藤野真之，松田昌和，三浦秀佳，加藤真吾，山本直樹，杉浦 亙：ヒト末梢血単核球を用いた K65R 獲得 HIV-1 の逆転写酵素阻害剤に対する感受性の解析．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

33) 石川暢恒，高田　昇，河部康子，喜花伸子，大江昌恵，大下由美，畝井浩子，藤井輝久，木村昭郎，杉浦　亙：半年以内に感染したと推定される HIV 感染症の 9 例．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

34) 杉浦　亙, 潟永博之, 吉田　繁, 千葉仁志, 浅黄　司, 松田昌和，岡　慎一，近藤真規子，今井光信，貞升健志，長島真美，伊部史朗，金田次弘，浜口元洋，上田幹夫，正兼亜季，大家正義，渡邉香奈子，白阪琢磨，山本善彦，森　治代，小島洋子，中桐逸博，高田　昇，木村昭郎，南　留美，山本政弘，健山正男，藤田次郎；新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性の頻度に関する全国疫学調査 -2003 年から 2004 年にかけての報告-. 第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

35) 大出裕高，杉浦　亙，星野忠次：コンピューター・シュミレーションによる CRF01_AE NH1 N88S HIV-1 PR の NFV 耐性機構の解明, 第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本．

36) 加藤真吾，田中理恵，根岸昌功，杉浦　亙：AZT は血漿中及び細胞内において確かに d4T に変換される．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12

月 1-3 日，熊本.

37) 小池　満，鈴木貴雄，井上靖之，山口洋子，小池淳樹，杉浦　亙，高橋正知：HIV 関連リンパ腫における自己造血幹細胞採取の経験．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

38) 小池　満, 高橋正知, 井上靖之, 山口洋子, 杉浦　亙, 中島秀喜：当院における新規受診者の検討．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

39) 山元泰之，山中　晃，内田泰斗，尾形享一，福武勝幸，杉浦　亙：判定保留 HIV-1 抗体確認検査で確定し得ないとき．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

40) Wataru Sugiura: Changes in prevalence and patterns of drug resistant mutations in Japan-Summary of nationwide HIV-1 drug resistance monitoring study（1996-2004） in Japan．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

41) 杉浦　亙，潟永博之，田宮貞宏，松田昌和，松見信太郎，蜂谷敦子，John Coffin，満屋裕明：シンポジウム 7.「薬剤耐性の新知見，基礎から臨床へ」を終えて．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

42) 武部豊，Xi Xiao-Jie，Ma Yanling，　Xia Xueshan：HIV-1 遺伝子組換えにおけるサブタイプ C LTR の selective advantage（選択優位性）．第 19 回日本エイズ学会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

43) 武部豊，横田侑子，小泉寛和，Xi Xiao-Jie，滝口雅文，岡慎一：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. 第 19 回日本エイズ学会, 2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

44) Tee Kok-Keng, Li Xiao-Jie, Nohtomi Kyouko, Pon Chee Keong, Kamarulzaman Adeeba, Ng Kee Peng, Takebe Yutaka：Emergence of new HIV-1 recombinant forms in Malaysia. 第 19 回日本エイズ学会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

45) 近藤真規子，須藤弘二，田中里恵，嶋貴子，足立拓也，設楽裕子，岩室紳也，向出雅一，武部豊，加藤真吾，今井光信：各種サブタイプに対応できる real-time PCR 法による HIV-1 プロウイルスの定量法の検討．第 19 回日本エイズ学会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

46) 駒野　淳，二橋悠子，浦野恵美子，青木　徹，貝の瀬　由成，宮内浩典，磯貝まや，松田善衛，山本直樹：Cell surface expression of CXCR4 is regulated by an non-tyrosine-based diacidic motif within the cytoplasmic tail．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

47) 村上　努，篠田知宏，内藤幸美，宮内浩典，磯貝まや，駒野　淳，松田善衛，山本直樹：HIV-1 マトリックス蛋白質のウイルス感染前期過程における役割．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

48) 駒野淳，宮内浩典，Lay Myint，二橋悠子，浦野恵美子，松田善衛，千葉智子，三浦秀佳，杉浦　亙，山本直樹：Rapid propagation of low-fitness drug resistant mutants of HIV-1 by a –1 frameshift enhancer sparsomycin. 第 19 回日本エイズ学会学術集会, 2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

49) 清水佐紀，駒野淳，浦野恵美子，二橋悠子，宮内浩典，磯貝まや，松田善衛，納富香子，小野木利成，武部　豊，山本直樹：T-type cyclin/CDK9 複合体の活性化を抑制する細胞内因子による HIV-1 複製制御．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

50) 杉本智恵，中山英美，塩田達雄，山本直樹，永井美之，森　一泰：糖鎖欠損 SIV の弱毒化のメカニズムの解析．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

51) 森　一泰，杉本智恵，中山英美，塩田達雄，保富康宏，山本直樹，永井美之：ウイルス特異的 CD4+T 細胞免疫誘導のための Sendai virus vector を用いた CD4+T 細胞エピトープ発現系の開発．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

52) 羽生勇一郎，Jacob Barnor，黒崎直子，米田和弘，山口和也，石川晃一，山本直樹，David Ofori-Adjei，高久洋：RNAi 耐性 HIV-1 株に対する第 2 世代の RNAi 製剤．第 19 回日本エイズ学会学術集会，2005 年 12 月 1-3 日，熊本.

53) 村上　努，篠田知宏，内藤幸美，宮内浩典，磯貝まや，駒野　淳，松田善衛，Eric Freed，山本直樹：マトリックス蛋白質変異が HIV-1 感染前期課程や結合宿主因子に与える影響．第 28 回日本分子生物学会年会，2005 年 12 月 7-10 日，福岡.

54) 宮内浩典，駒野　淳，村上　努，松田善衛：HIV-1 の Env 生合成過程における膜貫通領域の寄与．第 28 回日本分子生物学会年会，2005 年 12 月 7-10 日，福岡.

55) 宮内浩典，駒野　淳，村上　努，松田善衛：HIV-1 gp41 の膜貫通領域に存在する GGXXG 配列の解析.

第 28 回日本分子生物学会年会，2005 年 12 月 7-10 日，福岡.

56) Komano J, Futahashi Y, Kainose Y, Urano E, Aoki T, Miyauchi K, Yoshida Y, Koyanagi Y, Matsuda Z, Yamamoto N ： Identification of SDF-1alpha-independent internalization motif Ser-asp/Glu-Ser within CXCR4's cytoplasmic tail. 第 28 回日本分子生物学会年会，2005 年 12 月 7-10 日，福岡

２０．病 原 体 ゲ ノ ム 解 析 研 究 セ ン タ ー

セ ン タ ー 長　神 田 忠 仁

概　要

平成 17 年 10 月に遺伝子解析室が改組され、病原体ゲノム解析研究センターが発足した。これまでの遺伝子解析室が第一室となり、病原性ウイルスのゲノム解析を行う第二室が新設された。平成 18 年度には病原性細菌のゲノム解析を行う第三室を設置する予定である。第一室では引き続き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った。第二室では病原性ウイルスのゲノムデータベースを構築するとともに、ゲノム情報をウイルス感染の迅速診断、ゲノム変異と抗原性・病原性の変化を結びつける研究業務を立ち上げた。新興再興感染症は、変異によって感染宿主域や抗原性、増殖能が変化した病原体が原因となることが多い。ゲノム情報の蓄積は、新興再興感染症対策の基盤となると期待されている。感染研内外との共同研究を積極的に進める方針である。

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。これまでの臨床試験の成績は、治療効果を上げるには、遺伝子導入効率の向上と導入遺伝子の発現調節の必要性を示しており、これらの機能を持つ高性能ウイルスベクターが内外で開発されている。一方、ウイルスベクターの臨床応用は、いわば人工のウイルスであるベクターを、非健常者に大量に、しかも自然感染とは異なる経路で投与することでもあり、重大な副作用を引き起こすことがある。アデノウイルスベクターによる患者の死亡やレトロウイルスベクターによる白血病の発症が報告されており、安全性の確保が厚生行政の課題となっている。第一室では、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)ベクターを中心に、ベクターの安全性や高機能化に関する研究を進めた。

ヒトパピローマウイルス(HPV)は子宮頸癌の原因となる。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 生活環の中で、偶然 HPV ゲノムが細胞染色体に組み込まれて、HPV 初期遺伝子群の発現が継続的に起こると細胞は不死化し、やがて発癌に至る。HPV の潜伏・持続感染に介入し、それを排除する方法を開発するために、表皮形成と HPV の生活環を支える分子機構を解析している。また、15 種の発がん性 HPV の感染を予防するワクチン抗原の開発を行っている。

HIV のヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤に対する耐性株では、逆転写酵素(RT)の変異による ATP との結合能の変化が耐性獲得に重要であることが示唆されている。計算科学解析と変異体の機能解析によって、ATP との結合に関わる RT のアミノ酸残基を明らかにした。さらに、計算科学解析によって RT と ATP の結合を競合的に阻害しうる低分子物質を探索した。これらの成果は、耐性発現機構の理解と新規 RT 阻害剤開発に役立つ。

臓器移植に用いる移植用臓器の不足を補うため、動物臓器を利用する異種移植の研究が進められている。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、いったん患者体内で病原体が増殖すると、周辺の人々に感染が拡大すると危惧されている。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ない。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ことから、ブタ内在性レトロウイルスに関する研究を進めた。遺伝子改変ブタ臓器からレトロウイルスが検出されたので、詳しい性状を調べている。

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.臨床応用されたウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報の収集

我が国での遺伝子治療臨床試験計画を審査する作業部会に適切な意見を提供するため、遺伝子治療専門誌であ

る Human Gene Therapy、Gene Therapy、Molecular Therapy、Journal of Gene Medicine、及び Nature Medicine 等の文献、日本遺伝子治療学会での講演等からウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報を収集し、検討した。（竹内隆正、森　清一郎、柊元　巌、石井克之、神田忠仁）

2.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)アデノ随伴ウイルス(AAV)の細胞指向性を決めるキャプシド領域について

AAV2 型は HeLa 細胞によく感染するが、AAV10 型はほとんど感染しない。HeLa 細胞表面へ 2 型は結合するが、10 型は結合しないことがわかった。2 型の HeLa 細胞への結合、侵入を担うキャプシド領域を調べるため、2 型と 10 型のキャプシド蛋白質をさまざまな位置で繋ぎ合わせたキメラウイルス粒子を作製した。10 型のキャプシド蛋白質、全長 739 アミノ酸のうち 493 または 375 番目以降のアミノ酸を 2 型の相当領域に変えたキメラは HeLa 細胞へ結合するが感染しなかった。同様に、236 番目以降のアミノ酸を 2 型に変えたキメラは、2 型とほぼ同じレベルで HeLa 細胞へ感染した。2 型キャプシド蛋白質の 493 番目以降のアミノ酸が HeLa 細胞への結合に、236～374 番目のアミノ酸が細胞への侵入に重要であることが示唆された。

（森清一郎、神田忠仁）

(2)AAV ベクターの抗原性に関する研究

これまでに、AAV2 型、10 型、11 型ベクターの混合液をカニクイザルに経静脈接種し、各血清型の体内動態を調べてきた。今年度は、混合液を接種したカニクイザルのそれぞれの血清型に対する中和抗体の誘導を調べた。カニクイザル 5 頭のうち 3 頭では全ての血清型に対する中和抗体の誘導が見られた。1 頭では 2 型、10 型に対する中和抗体の誘導はみられたものの 11 型に対する中和抗体の誘導は認められなかった。残りの 1 頭ではいずれの血清型に対する中和抗体の誘導も認められなかった。各血清型 AAV ベクターに対する中和抗体の誘導には個体差があった。AAV はヒトやサルに持続感染しており、免疫系の攻撃から巧みに逃れている。何らかの理由で免疫系に認知された場合のみ抗体が誘導されるのかもしれない。ヒトに AAV ベクターを接種する場合、中和抗体の有無は遺伝子導入効率に影響する。ベクターの有効性を考える上で考慮するべき要因である。

（森清一郎、亀田明美、神田忠仁）

3.　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

AAV2 型のヒト染色体への組込み領域である AAVS1 内の DNase I hypersensitive 部位（*Sma*I 断片；以下 DHS-S1）及び DHS-S1 内に発見された 2 カ所の蛋白質結合配列に変異を導入したもの（mDHS-S1）の機能を比較した。自己複製型プラスミド上で 2 種類のレポーター遺伝子間にこれらの DNA 断片を挿入し、293 細胞あるいは HeLa 細胞に導入した場合の DNA 断片の挿入方向に依存するレポーター活性比を調べた。また、これらの DNA 断片で挟まれたネオマイシン耐性遺伝子と AcGFP 遺伝子を HeLa 細胞にトランスフェクションして得られる G418 耐性コロニー数と G418 耐性クローンでの AcGFP 遺伝子発現レベルの経時変化を調べた。いずれにおいても DHS-S1 と mDHS-S1 の間に有意な差を認めず、2 カ所の蛋白結合配列はこれらの解析で評価できる機能とは無関係であることが示された。（竹内隆正、内野繭代、神田忠仁）

(2) HPV ベクターの作製

HPV ワクチンで誘導される中和抗体の評価系に使うため、HPV ベクター（HPV pseudovirion）の作製を継続した。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、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順次作製し、293TT 細胞に L1 及び L2 遺伝子発現プラスミドと SV40 複製開始点を持つレポータープラスミドを導入する作製方法の細部を再検討して、最適化に努めた。作製した HPV16、18、31、58 型 pseudovirion は、これまでの方法で作製したものに比べロット差が少なく、高い感染価を持っており、中和抗体を定量するのに適していた。(近藤一成、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)角化細胞転写因子 hSkn-1a による HPV16 DNA 複製の促進

HPV ゲノムの複製は分化した感染角化細胞でのみ起こるが、この分子機構は不明である。そこで角化細胞で発現する種々の細胞転写因子が HPV 複製に与える影響を検討した。HPV16 ゲノムの LCR-E6-E7 領域を組み込んだ HPV ori プラスミドと HPV16 複製蛋白質 E1/E2 の発現プラスミドを 293 細胞に導入し、72 時間後に細胞内の

プラスミドを回収した。DpnI 消化に抵抗性を示す複製した ori プラスミドの量を real-time PCR 法で定量した。HPV 複製は hSkn-1a の共発現で約２倍に増加した。hSkn-1a の DNA 結合能を欠失したアミノ酸変異体や DNA 結合ドメインだけを発現しても複製促進は認められなかった。Oct-1, Tst-1, C/EBP β は複製を阻害し、CDP は顕著な効果を示さなかった。

（柊元　巌、神田忠仁）

(2)無細胞系による HPV クロマチン形成

HPV クロマチン転写複製の分子機構を無細胞系で解析する実験系を作った。HPV16 の環状ゲノム DNA をヒストンおよびヒストンシャペロン蛋白質 NAP-2、クロマチン再構築因子 ACF と共に混合し、ATP 分解のエネルギーを用いて、生理的なヌクレオソーム間隔を持つ HPV クロマチンを作製した。マイクロコッカスヌクレアーゼ分解法を用いて、ヌクレオソームが HPV クロマチン上の P670 プロモーター領域（塩基番号 620 を中心とした領域）に配置されることが分かった。この位置はこれまでに報告がある細胞内での HPV ヌクレオソームの位置と一致した。ヌクレオソームは転写因子の DNA への結合を妨げ転写に対して抑制的に働くことから、ヌクレオソーム構造変化が P670 プロモーター活性化における重要な過程と考えられる。

（柊元　巌、神田忠仁）

(3)ヒト MCM7 結合蛋白質の探索

これまでに HPV の癌蛋白質 E6 がヒト MCM7 蛋白質に結合することを明らかにした。MCM7 は細胞 DNA 複製に関わることが知られているが、この結合が MCM7 の機能をどのように修飾するかは明らかでない。MCM7 の機能解析を進めるために、C 末端 FLAG タグを付加した MCM7 を恒常的に発現する HeLa 細胞を樹立し、その細胞抽出液から FLAG-MCM7 複合体を FLAG アフィニティーゲルで精製した。MALDI/TOF-PMF 法を用いて、FLAG-MCM7 複合体に含まれる細胞蛋白質として MCM4, MCM6, α-tubulin, 機能未知の分子量 70 kDa の蛋白質を同定した。この FLAG-MCM7 複合体の生化学的活性に E6 が与える影響を調べている。

（柊元　巌、山越　智[生物活性物質部]、大内史子[細胞化学部]、神田忠仁）

(4) HPV16 の L1 遺伝子発現抑制機構

HPV の増殖は宿主である表皮角化細胞の分化に依存している。未分化な細胞では、HPV のキャプシド蛋白質（L1）の発現は L1 遺伝子 Open reading frame (ORF)内の抑制配列(5’端の 515 塩基)により抑えられている。抑制配列をレポーター遺伝子の様々な位置に挿入し、その転写産物を検出することによって、この配列による遺伝子発現抑制機構を調べた。この抑制配列由来の RNA 配列が転写産物の 5’端にあると、転写後、mRNA として成熟するまでの間に転写産物が速やかに分解されることがわかった。また、この RNA 配列による抑制は RNA polymerase I による転写では見られず、RNA polymerase II による転写物の成熟過程でのみ起こる現象である。

（森　清一郎、尾崎さおり、神田忠仁）

(5) 膜非透過性 SH 遮断 5,5’-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB)による HPV 感染阻害

DTNB は蛋白質の SH 基と反応する試薬である。EGFP 発現プラスミドをパッケージした HPV16 pseudovirion を DTNB と反応させると、感染能を失った。細胞を DTNB 処理しても感染阻害は起こらなかった。HPV のキャプシドを構成する L1 と L2 蛋白質には、それぞれ 12 個と 2 個のシステイン残基がある。これらの残基はキャプシド形成に必要なジスルフィド結合を形成するだけでなく、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。

（石井克幸、近藤一成、越智寛幸、松本玉恵、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

昨年度につづき、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 56-75 領域に対する抗体は、HPV16、18、31、58 の pseudovirion を中和した。アミノ酸 56-61 領域のアミノ酸配列は、全ての高リスク HPV に共通で、この領域に対する抗体を誘導する抗原は、高リスク HPV 群の感染を一括して予防できるワクチンになる。これまでに明らかにした中和エピトープと組み合わせて実用化をめざす。

（近藤一成、松本玉恵、神田忠仁）

(2) HPV 感染の血清疫学的検討

HPV に対する宿主の免疫応答に関する情報は乏しく、異なる遺伝子型 HPV に対する抗体の交差反応性等についての情報は限られている。そこで高リスク HPV 群のうち我が国の患者に高頻度で検出される 16、18、31、52、58 型に対するヒト抗体の詳細な解析を行うため、標準抗原として用いる L1-キャプシド（キャプシド蛋白質 L1 のみで形成される正二十面体粒子）を作製し、iodixanol 溶

液中の沈降度とヘパリンカラムへの結合性を利用して精製した。また抗原をウサギに免疫して抗血清を作製した。これらを用い、ELISA によって抗 HPV 抗体を高感度で検出する条件を設定した。型間の交差反応性の解析を進めている。
(越智寛幸、神田忠仁)

III. HIV 薬剤耐性に関する研究

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

HIV-1 は、抗 HIV 治療薬の中核である核酸類似体への耐性を容易に獲得する。耐性発現には、逆転写酵素（RT）の変異と細胞因子 ATP の関与が示唆されている。ATP 結合に関わる RT アミノ酸について、計算科学解析と変異導入解析を行なった。統合計算科学システム MOE を用いてドッキングシミュレーションを行なうと、ATP は RT の R72, D110, D113, F116, K219 の側鎖に囲まれた活性中心近傍に結合した。これらの残基の役割を部位特異的変異導入解析により調べた。その結果、R72 および D110 は RT のポリメラーゼ活性発現に必須の残基であること、D113 は ATP 親和性の制御に関わる残基であること、F116 は AZTTP 感受性の制御に関わる残基であること、K219 はいずれの活性制御にも関与しないことがわかった。ATP 結合部位は、非可塑性および可塑性の２種類のアミノ酸残基により形成されると考えられる。
（横山勝、守宏美、佐藤裕徳）

(2) 抗 HIV 薬開発に関する研究

MOE の高速ドッキングシミュレーションプログラム ASEDock を用い、約 300 万の低分子化合物ライブラリーの中から ATP 競合阻害活性が期待される化合物を 161 種得た。それらの化合物の中からピロリン酸分解反応を誘起しない分子構造をもつ 3 種（#7、#24、#28）を選定し、逆転写酵素に対する作用を実験により調べた。いずれの化合物も精製した逆転写酵素の非競合阻害剤（混合型）として働いた（IC_{50}＝60～120μM）。#7 は ATP 同様 AZTTP の IC_{50} の増加を誘起し、その効果は野生株よりも多剤耐性株で大きかった。非加リン酸分解型の低分子化合物も、ATP 同様に酵素活性のアロステリックエフェクターとして働き、RT のポリメラーゼ活性および核酸類似体感受性に影響を与えることがわかった。耐性発現機構の理解と新規 RT 阻害剤開発に重要な知見と考えられる。
（横山勝、守宏美、佐藤裕徳）

2. HIV-1 の抗体中和と細胞指向性に関する研究

HIV-1 外被蛋白質 Gp120 の V3 ループは中和抗体の主要な標的で、高度可変領域として知られている。V3 はまた、ケモカイン受容体への結合に直接関与し、ウイルスの細胞指向性を規定する機能領域である。V3 に関する実験とコンピュータ解析を行い以下の知見を得た。1)HIV-1 は、特定の V3（ウイルスに CCR5 親和性を付与する V3 変異集団の一部、R5I V3 と命名）をもつと、感染者血中の抗 V3 抗体に低感受性になる。この免疫逃避機能は、R5I 以外の V3（ウイルスに CXCR4 親和性を付与する V3 を含む）には無い。2)R5I V3 は感染初期から AIDS 発症期の間、高力価の抗 R5I-V3 抗体存在下で優勢集団として存在する。非 R5I V3 は、$CD4^+$ T 細胞数の低下に伴う AIDS 発症期に検出される。3)流行地における R5I V3 のアミノ酸は、Gp120 の保存領域 C2 と同程度に保存されている。一方、非 R5I V3 は高度に多様化している。以上の結果から、抗 V3 抗体は HIV-1 細胞指向性の定方向進化、および X4 ウイルスの抗原変化を司る自然選択圧と考えられる。
（長縄聡[横浜市立大学]、横山勝、北村勝彦[横浜市立大学]、佐藤裕徳）

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

ブタ臓器移植安全性の検討に用いる基礎情報の収集を目的とし、ブタ内在性レトロウイルス（PERV）のヒト細胞指向性を検討した。ブタ由来細胞（末梢血単核球、および卵巣細胞）と HeLa 細胞の共培養により、PERV 様レトロウイルスを持続的に産生する HeLa 細胞 HeLa-PP と HeLa-OP を得た。これらの細胞とヒト末梢血単核球を共培養すると、約２週間後をピークとして培養上清中の逆転写酵素活性が昂進した。PCR を用い、感染細胞中に PERV *pol* および *env* 遺伝子を検出した。ヒト細胞の PERV 感受性が示唆された。
（佐藤裕徳、中村浩美、神田忠仁）

V. 病原体ゲノムデータベースの構築

新興再興感染症対策の一環として、病原体ゲノム情報のデータベース化に着手した。４年計画で、病原体の迅速診断、疫学、予防治療法開発、病原性・抗原性変化の予測に有用な基礎データベースの構築を目指す。このために、病原体ゲノム塩基配列情報の自動収集・検索・抽出システムの構築、および種々の解析ツールの開発を行なう。また、独自にゲノム情報の整理・統合・解析（配列の系統関係と多様度の解析、変異に伴う蛋白質立体構造・活性変化の解析など）を行なう計算機環境を整備す

る。初年度は高性能コンピュータ altix350 を導入し、蛋白質立体構造予測ツール PDFAMS を設置した。ウイルス（インフルエンザ、ウエストナイルウイルス、ノロウイルス、C 型肝炎ウイルス、ポリオウイルス、ブタ内在性レトロウイルス、サイトメガロウイルス）について、公開データベースからゲノム塩基配列情報を自動収集するシステムを作った。

（横山勝、佐藤裕徳、神田忠仁）

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kukimoto,I., Takeuchi, T., and Kanda, T. : CCAAT/enhancer binding protein binds to and activates the P_{670} promoter of human papillomavirus type 16. Virology, 346:98-107, 2006.

2) Kinomoto, M., Yokoyama, M., Sato, H., Kojima, A., Kurata, T., Ikuta, K., Sata, T., and Tokunaga, K.: Amino acid 36 in the human immunodeficiency virus type 1 gp41 ectodomain controls fusogenic activity: implications for the molecular mechanism of viral escape from a fusion inhibitor. *J Virol*. 79:5996-6004. 2005.

3) Kinomoto, M., Appiah-Opong, R., Brandful, JAM., Yokoyama, M., Nii-Trebi, N., Ugly-Kwame, E., Sato, H., Ofori-Adjei, D., Kurata, T., Barre-Sinoussi, F., Sata, T., and Tokunaga, K. : HIV-1 proteases from drug-naive West African patients are differentially less susceptible to protease inhibitors. Clin. Infect.Dis. 41:243–51,2005.

4) Chen, R., Yokoyama, M., Sato, H., Reilly, C., and Mansky, LM.: HIV Mutagenesis During Antiviral Therapy: Impact of Drug Resistant Reverse Transcriptase, Nucleoside And Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors On Human Immunodeficiency Virus Type 1 Mutant Frequencies. *J.Virol*. 79:12045-12057,2005.

5) Ishii, Y., Ozaki, S., Tanaka, K., Kanda, T.: Human papillomavirus 16 minor capsid protein L2 helps capsomeres assemble independently of intercapsomeric disulfide bonding. Virus Genes, 31(3):321-328, 2005.

6) Matsumoto, K., Yasugi, T., Oki, A., Fujii, T., Nagata, C., Sekiya, S., Hoshiai, H., Taketani, Y., Kanda, T., Kawana, T., and Yoshikawa, K.: IgG antibodies to HPV16, 52, 58 and 6 L1-capsids and spontaneous regression of cervical intraepithelial neoplasia. Cancer Letter, 231:309-313, 2006.

2. 和文発表

1) 佐藤裕徳、横山勝: RNA ウイルスと変異。日本ウイルス学会誌　第 55 巻　第 2 号、pp221-230, 2005.

2) 神田忠仁：ヒトパピローマウイルス感染と子宮頸がん。分子細胞治療 4(5)：30-33，2005.

3) 神田忠仁：インシュレーター。分子細胞治療 4(6)：68-69, 2005.

4) 神田忠仁：HPV 感染免疫機構と予防ワクチン。産科と婦人科　2(65):217-225, 2006

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) L. Myint, Y. Tomita, M. Matusda, M. Nishizawa, H. Miura, H. Sato, N. Yamamoto & W. Sugiura. Impaired intracellular Gag trafficking and viral assembly in protease inhibitor resistant HIV-1: new mechanism of viral fitness reduction in drug resistant viruses. 12th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections.（2005 年 2 月、Boston, USA）

2) Kukimoto, I., and Kanda, T.: CCAAT/enhancer binding protein β (C/EBP β) binds to and activates the P_{670} promoter of human papillomavirus type 16 (HPV16). DNA tumour virus meeting（2005 年 7 月、Cambridge、England）

3) Takeuchi, T., and Kanda, T.:Characterization of an insulator in AAVS1. The 2nd Nikko International Symposium (2005 年 9 月、小山)

4)Kanda, T.: Cross-neutralization of HPV high-risk types with anti-L2 antibody. International Symposium of the Foundation for Promotion of Cancer Research. (2006 年 2 月、東京)

2. 国内学会

1) 柊元　巌、神田忠仁：CCAAT-enhancer binding protein β による HPV16 型 P670 プロモーターの活性化。第 64 回日本癌学会学術総会（2005 年 9 月、札幌）

2) 近藤一成、越智寛幸、吉川裕之、神田忠仁：HPV16 型キャプシド蛋白質 L2 の中和エピトープ。第 64 回日本癌学会学術総会（2005 年 9 月、札幌）

3) 佐藤香央里、竹内隆正、柊元　巌、神田忠仁：HPV16 後期プロモーター制御因子の解析。第 53 回日本ウイルス学会学術総会（2005 年 11 月、横浜）

4) 森清一郎、尾崎さおり、吉川裕之、神田忠仁：ヒトパピローマウイルス(HPV)16 型 L1 遺伝子がコードする RNA 配列による遺伝子発現抑制。第 53 回日本ウイルス学会学術総会（2005 年 11 月、横浜）

5) 久保嘉直、吉居廣朗、田中勇悦、佐藤裕徳、山本直樹：HIV-1 の細胞内侵入におけるエズリンの関与. 第 53 回

ウイルス学会総会　(2005 年 11 月、横浜)

6) 横山　勝, 守　宏美, 中村浩美, 佐藤裕徳：計算科学と分子遺伝学の解析手法を用いた HIV-1 逆転写酵素 ATP 結合部位の検討。第 19 回日本エイズ学会総会（2005 年 12 月、熊本.

7) 仲宗根正、高松純樹、杉浦亙、佐藤裕徳、山本伸二、Walid Heneine、山本直樹：HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法（半日）の開発。第 19 回日本エイズ学会総会（2005 年 12 月、熊本）

8) 椎野禎一郎、佐藤裕徳、保科佳美、蜂谷敦子、岡慎一、武部豊：NRTI 耐性変異を示す複数遺伝子座の遺伝子頻度の経時変化に対する組み換えと自然選択の影響。 第 19 回日本エイズ学会総会（2005 年 12 月、熊本）

9) 神田忠仁：ヒトパピローマウイルスの持続感染阻害による子宮頸がん発症予防。第 3 次対がん 10 カ年総合戦略第一回合同シンポジウム（2006 年 2 月、東京）

２１．附 属 図 書 館

館 長（併任） 宮 村 達 男
編集委員長 倉 根 一 郎

概　要

近年、学術雑誌の電子ジャーナルは急速に普及し、当館でも研究者の要望に応え、印刷体に加えて電子ジャーナルの契約も進めてきたところであるが、毎年の洋雑誌値上がりと電子ジャーナルの価格高騰に伴い、年々図書購入費が増大している。

電子ジャーナルが今日の学術研究にとって不可欠な存在になった今、版元が提示する電子ジャーナル契約条件も厳しくなってきており、感染研には戸山庁舎、村山庁舎、ハンセン病研究センターが感染研LANで繋がっているが（筑波霊長類センターは17年４月に独立行政法人医薬基盤研究所に移管）、庁舎が分かれているため３庁舎マルチサイト契約が原則となり、概ねそれはかなり高額である。印刷体を中止し電子ジャーナルのみにすれば図書購入費が半額になるわけではない。また、従前から懸案となっている感染研LANからの独立行政法人国立健康・栄養研究所（以下「健栄研」という。）の分離は、お互いの違法アクセス防止の面からも急務である。

感染研ホームページの図書館のページについては、今までは庁舎別に図書館（室）のページが存在し、各々構成が異なり、内容の重複や所蔵リストに健栄研所蔵本が含まれたまま未更新であるなど、管理者の所在が曖昧であった。このため、臨時図書委員会（H17.6.14）を開催し、今後は庁舎別の管理ではなく、感染研附属図書館のページとして戸山庁舎図書係で管理し、内容の整理と所蔵リストの更新に努めることになった。また、外部への所蔵リスト公開の是非についてアンケートを行った結果、現状では外来者に対するセキュリティー対策が難しく複写料金の徴収手段もないため、所内のみの公開とした。健栄研の所蔵リストについては、感染研のページには含めず、健栄研で管理してもらうことになった。

平成17年度戸山図書委員会（H17.9.8）において、戸山図書委員会の前年度決算及び当年度予算案が了承され、18年の図書購入に関しては、図書購入費の増加を抑えるため、利用実績の少ない雑誌、戸山庁舎と村山庁舎で重複購入している印刷体のうち感染研全体でオンライン閲覧可能な雑誌及びシリーズ単行本について、以下のとおり見直しを行った。

○洋雑誌

≪電子ジャーナル・パッケージ契約≫

ASM11誌オンライン・パッケージ、Cell Pressは継続。Science Direct は、印刷体の重複購入を整理し（Lancetを除く）、71誌（うち健栄研契約誌：９誌）となった。感染症情報センター契約の６誌（Am. J. Publ. Health、Am. J. Trop. Med. Hyg.、Eur. J. Epidemiol.、Int. J. Epidemiol.、J. Epidemiol. Comm. Health、J. Travel Med.）の保守を継続。

≪印刷体購読中止（電子ジャーナルのみ契約）≫

17誌：J. Immunol.、Nature 及びNature姉妹誌、Science

≪印刷体重複購読中止（電子ジャーナル閲覧可）≫

（戸山）21誌、（村山）10誌（Science Direct 対象誌含む）

≪購読中止≫

（戸山）１5誌：APMIS、Am. J. Physiol., Cell Physiol.、Am. J. Physiol., Endocrinol. Metab.、Am. J. Physiol., Gasterointest. Liver Physiol.、Biomacromolecules、Exp. Biol. Med.、Immunobiology、Int. J. Exp. Pathol.、J. Clin. Immunol.、J. Eukaryot. Microbiol.、J. Exp. Zool.、J. Interferon Cytokine Res.、J. Lab. Clin. Med.、Nitric Oxide、Physiol. Rev.

（村山）１誌：Current Protocols in Molecular Biology（印刷体）

≪新規購読≫

（戸山）１誌：J. Food Prot.、（村山）１誌：Current Protocols in Molecular Biology（電子ジャーナル）

○和雑誌（戸山）

≪購読中止≫５誌：ウイルス、感染症学雑誌、日本細菌学雑誌、日本病理学会会誌、Biosci. Biotechnol. Biochem.

≪新規購読≫１誌：日経サイエンス

○単行本（戸山）

≪購入図書≫０冊：J.J.I.Dページ増による予算超過のため、単行本の購入は出来なかった。

≪購読中止≫７誌：利用頻度の低いシリーズ単行本を中止した。

実績表

雑誌、単行本受け入れ状況

平成17年度

	戸山庁舎		村山庁舎		ハンセン病研究センター	
	洋書	和書	洋書	和書	洋書	和書
雑誌	**249**	**37**	**109**	**35**	**26**	**31**
購入	219	17	98	20	24	8
交換	23	7	-	-	-	-
寄贈	7	13	11	15	2	23
単行本	**74**	**10**	**81**	**52**	**2**	**-**
購入	70	-	57	15	2	-
寄贈	4	10	24	37	-	-

注：1　「交換」とは、ＪＪＩＤとの交換雑誌である。。
　　2　戸山庁舎の購入洋雑誌には、国内発行英文雑誌(3)を含む。
　　3　戸山庁舎の購入和雑誌には、国内発行英文雑誌(3)を含まない。

文献相互貸借状況

平成17年度

機関名	戸山庁舎		村山庁舎		ハンセン病研究センター	
	供与	依頼	供与	依頼	供与	依頼
総数	**926**	**853**	**371**	**679**	**-**	**35**
国立感染症研究所	**183**	**32**	**32**	**159**	**-**	**24**
戸山庁舎	・	・	32	159	-	24
村山庁舎	159	32	・	・	-	-
ハンセン病研究センター	24	-	-	-	・	・
国立感染症研究所以外の機関	**743**	**821**	**339**	**520**	**-**	**11**
国立保健医療科学院	40	55	44	22	-	1
国立医薬品食品衛生研究所	217	15	135	26	-	-
国立国際医療センター	346	140	-	27	-	2
国立成育医療センター	1	-	-	-	-	-
(独)国立健康・栄養研究所	・	・	6	8	-	-
(独)動物衛生研究所	51	58	102	48	-	-
(独)畜産草研究所	20	15	11	9	-	-
(独)霊長類医科学研究センター	5	1	2	-	-	-
その他の国・県の機関((独)含)	1	25	3	2	-	-
地方衛生研究所	48	-	13	-	-	-
国公立病院	4	-	-	-	-	-
国公立大学図書館	1	315	12	337	-	-
国際医学情報センター	1	64	-	22	-	-
私立病院	2	-	-	-	-	-
私立大学図書館	3	111	6	13	-	8
企業	-	-	3	-	-	-
その他	3	22	2	6	-	-

注：戸山庁舎の(独)国立健康・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月の実績。電子ジャーナル利用回数は1月～12月の実績(他庁舎、健栄研分含む)。

平成17年順位				17年(2005)				16年('04)				15年('03)			
利用回数計	複写	電子ジャーナル	雑誌名	利用回数				利用回数				利用回数			
					複写	貸出	電子ジャーナル		複写	貸出	電子ジャーナル		複写	貸出	電子ジャーナル
1	2	1	Journal of Virology	17,857	126	11	17,720	15,687	222	11	15,454	12,044	251	14	11,779
2	1	2	Journal of Biological Chemistry	10,547	137	1	10,409	12,606	234	1	12,371	10,181	347	1	9,833
3	5	3	Science	10,434	91	1	10,342	13,746	156	2	13,588	5,204	260	-	4,944
4	10	4	PNAS:Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.	6,925	68	-	6,857	7,556	183	3	7,370	6,020	275	1	5,744
5	16	5	Journal of Clinical Microbiology	6,846	43	2	6,801	5,124	48	2	5,074	3,526	122	8	3,396
6	12	6	Journal of Immunology	5,466	51	-	5,415	5,020	188	-	4,832	5,143	286	-	4,857
7	4	7	Nature	5,265	119	2	5,144	2,766	262	1	2,503	3,292	310	-	2,982
8	22	8	Infection & Immunity	4,448	35	-	4,413	4,639	115	-	4,524	4,337	116	3	4,218
9	127	9	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	4,076	4	-	4,072	3,721	10	-	3,711	1,071	31	-	1,040
10	7	11	Journal of General Virology	3,427	78	1	3,348	2,148	108	2	2,038	1,912	112	8	1,792
11	59	10	JB:Journal of Bacteriology	3,369	12	-	3,357	2,776	36	1	2,739	2,326	69	-	2,257
12	3	12	Virology	3,022	122	8	2,892	2,642	177	9	2,456	1,852	169	13	1,670
13	11	13	Vaccine	2,493	64	-	2,429	2,086	127	-	1,959	2,052	74	5	1,973
14	9	14	Cell	2,464	69	1	2,394	2,817	156	1	2,660	1,871	157	1	1,713
15	40	15	MCB:Molecular and Cellular Biology	2,261	17	1	2,243	2,435	51	-	2,384	2,255	98	1	2,156
16	20	16	EMBO Journal	2,255	38	-	2,217	771	90	2	679	2,243	112	1	2,130
17	65	17	Blood	2,103	10	-	2,093	1,712	89	2	1,621	1,593	92	-	1,501
18	38	18	Journal of Experimental Medicine	1,983	18	-	1,965	1,990	104	4	1,882	1,683	146	2	1,535
19	17	19	BBRC:Biochem. Biophys. Res. Commun.	1,961	40	1	1,920	1,971	71	1	1,899	1,324	139	3	1,182
20	18	20	Nature Medicine	1,776	39	-	1,737	1,163	82	-	1,081	2,038	100	1	1,937
21	79	21	Applied and Environmental Microbiology	1,369	8	-	1,361	1,201	15	-	1,186	903	20	-	883
22	31	22	FEMS Microbiology	1,350	24	-	1,326	1,285	27	-	1,258	945	3	-	942
23	52	24	Journal of Cell Biology	1,251	13	3	1,235	1,595	41	2	1,552	1,223	73	-	1,150
24	97	23	Nature Immunology	1,248	6	-	1,242	1,056	32	-	1,024	746	47	-	699
25	12	25	LANCET	1,173	51	-	1,122	1,570	118	1	1,451	2,489	214	3	2,272
26	25	26	Nucleic Acids Research	1,148	33	1	1,114	1,087	36	1	1,050	69	65	4	・
27	44	27	Cancer Research	1,092	15	-	1,077	1,013	68	-	945	899	124	-	775
28	65	28	Microbiology	1,078	10	-	1,068	956	1	1	954	703	33	1	669
29	97	29	Molecular Cell	1,068	6	-	1,062	1,089	15	-	1,074	762	28	-	734
30	52	30	Journal of Virological Methods	1,007	13	-	994	688	28	-	660	462	41	1	420
31	23	32	Molecular Microbiology	1,001	34	-	967	1,170	48	-	1,122	949	59	2	888
32	52	31	Virus Research	995	13	-	982	577	11	-	566	383	11	-	372
33	47	33	Genes & Development	976	14	-	962	914	26	-	888	782	37	-	745
34	59	34	BMJ:British Medical Journal	953	12	-	941	1,145	64	-	1,081	58	58	-	-
35	18	37	BBA:Biochimica et Biophysica Acta	863	39	1	823	799	65	1	733	797	80	1	716
36	28	36	FEBS Letters	854	25	-	829	957	42	1	914	870	55	2	813
37	110	35	Molecular Biology of the Cell	840	5	-	835	969	16	-	953	733	24	-	709
38	8	39	JAMA:J. Am. Med. Assoc.	815	72	-	743	192	192	-	・	179	179	-	・
39	52	38	Immunity	814	13	-	801	793	33	-	760	781	64	-	717
40	52	40	Journal of Clinical Virology	740	13	-	727	392	6	-	386	387	10	1	376
41	65	41	Microbes and Infection	733	10	-	723	503	10	2	491	364	7	1	356
42	38	43	JMB:Journal of Molecular Biology	666	18	-	648	670	39	-	631	473	36	-	437
43	47	44	Oncogene	661	14	-	647	680	43	1	636	657	74	1	582
44	146	42	Journal of Medical Microbiology	655	3	-	652	369	3	1	365	159	12	-	147
45	97	45	Nature Cell Bilogy	624	6	-	618	500	20	-	480	841	36	-	805
46	65	46	Nature Biotechnology	585	10	1	574	277	21	1	255	954	21	-	933
47	146	47	Nature Genetics	573	3	-	570	359	38	-	321	695	45	-	650
48	14	48	American Journal of Epidemiology	543	49	-	494	332	59	-	273	128	125	3	・
49	79	48	Trends in Microbiology	502	8	-	494	436	35	-	401	366	16	-	350
50	146	50	Nature Reviews:Microbiology	496	3	-	493	320	35	-	285	5	5	-	・

和雑誌（利用回数上位10誌）

1	2	-	実験医学	76	65	11	・	110	102	8	・	126	110	16	・
2	1	-	蛋白質・核酸・酵素	70	67	3	・	126	122	4	・	140	137	3	・
3	3	-	細胞工学	46	43	3	・	50	48	2	・	150	146	4	・
4	4	-	感染症学雑誌	40	39	1	・	16	16	-	・	34	34	-	・
5	5	-	Molecular Medicine	16	15	1	・	40	39	1	・	70	70	-	・
6	6	-	医学のあゆみ（＋別冊学会案内）	13	13	-	・	45	37	8	・	49	47	2	・
7	7	-	最新医学	12	12	-	・	22	21	1	・	37	34	3	・
8	8	-	日本細菌学雑誌	11	11	-	・	11	11	-	・	8	8	-	・
9	10	-	臨床とウイルス	10	9	1	・	11	10	1	・	10	8	2	・
10	9	-	ウイルス	9	9	-	・	21	19	2	・	2	2	-	・

注：1　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）。
2　平成17年度の複写回数には、８月～翌３月までの健康・栄養研究所職員による複写回数を計上していない。

[J. J. I. D. について]

平成１７年度は vol. ５８ no. １–６を刊行し、７月には"Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan 2001"を vol. ５５, Supplement として発行した。

前年度後半から海外からの投稿数が目立って増えてきたが、その傾向は続き、前年度比１．４倍になった。そのため採用から発行までの期間が４～５ヶ月となる論文もあり、１号あたりの平均ページ数を増やすことになった。それに応じて増える事務･編集作業を処理するために非常勤職員の安　虹を６月に採用した。

感染研でセミナーを行った演者及び１７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。

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　　１２編
　　他国内　　６９編
　　海外　　１５３編

採択率　　３８％

Japanese Journal of Infectious Diseases

Volume 58, 2005 Contents

February, No. 1

Invited Review

Functional Analysis of Fungal Drug Efflux Transporters by Heterologous Expression in *Saccharomyces cerevisiae*: Masakazu Niimi, Shun-ichi Wada, Koichi Tanabe, Aki Kaneko, Yukie Takano, Takashi Umeyama, Nozomu Hanaoka, Yoshimasa Uehara, Erwin Lamping, Kyoko Niimi, Sarah Tsao, Ann R. Holmes, Brian C. Monk and Richard D. Cannon ……..……1-7

Original Articles

A Six-Year Study on *Vibrio cholerae* in Southeastern Iran: Hossein-Ali Khazaei, Nima Rezaei, Gholam -Reza Bagheri and Abbas-Ali Mo……...……..8-10

Significant Elevation of Serum Soluble CD14 Levels in Patients with Brucellosis: Ergin Ayaslioglu, Emin Tekeli and Serhat Birengel…….....……11-14

Prevalence of Hepatitis B Infection in the Southeastern Region of Turkey: Comparison of Risk Factors for HBV Infection in Rural and Urban Areas: Dursun Mehmet, Ertem Meliksah, Yilmaz Serif, Saka Gunay, Ozekinci Tuncer and Simsek Zeynep…….……15-19

Pneumococcal Infections in Trinidad: Patterns of Anti-microbial Susceptibility: 1994-2002: Fitzroy A. Orrett ……...…...20-24

Polymorphisms of the *HLA-B* and *HLA-DRB1* Genes in Thai Malaria Patients: Hathairad Hananantachai, Jintana Patarapotikul, Jun Ohashi, Izumi Naka, Sornchai Looareesuwan and Katsushi Tokunaga …..……25-28

Short Communications

Salmolella Typhi Septic Arthritis of Hip - A Case Report: Nalini Agnihotri, Mandeep Singh Dhingra, Vikas Gautam, Varsha Gupta, Rishi Kaushal and Deepak Mehta ..…29-30

Interaction of *Yersinia enterocolitica* Biotype 1A Strains of Diverse Origin with Cultured Cells In Vitro: Itender Singh and Jugsharan S. Virdi. ……. 31-33

Biliary Infection and Bacteremia Caused by Beta-Lactamase -Positive, Ampicillin-Resistant *Haemophilus influenzae* in a Diabetic Patient: Sukru Oksuz, Elif Ozturk, Idris Sahin, Osman Ertor and Demet Kaya …….. 34-35

New Rapid Screen for the Detection of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Yoke-Fong Chiew ..…...…36-38

Efficacy of Throat Gargling for Detection of Group A Beta-Hemolytic Streptococcus: Oguz Karabay, Hasan Ekerbicer and Fahrettin Yilmaz ……..……39-40

Chlamydia trachomatis Antigen Positivity in Women in Risk Groups and Its Relationship with the Use of Antibiotics: Fatma Sirmatel, Nimet Sahin, Ocal Sirmatel, Ender Telli and Sukru Kececi …….41-43

In Vitro Susceptibility of *Candida* Species Isolated from Blood Culture to Some Antifungal Agents: Sumru Citak, Berrin Ozcelik, Salih Cesur and Ufuk Abbasoglu …..44-46

The Resistance to Major Antituberculous Drugs of *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated from the Respiratory System Specimens of Tuberculosis Patients in Duzce, Turkey: C. Elif Ozturk, Oner A. Balbay, Demet Kaya, Ismail Ceyhan, Ismet Bulut and Idris Sahin ……47-49

Major Bacteria of Community-Acquired Respiratory Tract Infections in Turkey: Ezgi Ozyilmaz, Ozay Arikan Akan, Meral Gulhan, Kamruddin Ahmed and Tsuoyoshi Nagatake ……..50-52

Laboratory and Epidemiology Communications

Probe Typing of Noroviruses Detected in Osaka City, Japan:

Nobuhiro Iritani, Yoshiyuki Seto, Hideyuki Kubo, Kosuke Haruki, Tsukasa Murakami, Atsushi Kaida, Minoru Ayata and Hisashi Ogura ……..…...……53-54

Outbreak of Food Poisoning Caused by Lunch Boxes Prepared by a Company Contaminated with Multidrug Resistant *Salmonella* Typhimurium DT104: Masumi Taguchi, Kazuko Seto, Masashi Kanki, Teizo Tsukamoto, Hidemasa Izumiya and Haruo Watanabe …….……55-56

Genotyping of *Giardia* Isolates from Humans in Japan Using the Small Subunit Ribosomal RNA and Glutamate Dehydrogenase Gene Sequences: Niichiro Abe, Isao Kimata and Masaharu Tokoro ……..……57-58

April, No. 2

Invited Review

Leprosy as a Challenge to Science on the Ability to Decode Its Enigma. A Hypothesis on How to Respond: Eiichi Matsuo ……..59-64

Original Articles

The Relationship between O-Antigens and Pathogenic Genes of Diarrhea-Associated *Escherichia coli*: Yuichiro Tamaki, Hiroshi Narimatsu, Tomoko Miyazato, Noboru Nakasone, Naomi Higa, Claudia Toma and Masaaki Iwanaga ….65-69

Recurrent *Klebsiella pneumoniae* Liver Abscess in a Diabetic Patient Followed by *Streptococcus bovis* Endocarditis – Occult Colon Tumor Plays an Important Role: Shao-Wen Weng, Jien-Wei Liu, Wei-Jen Chen and Pei-Wen Wang ……..……..70-72

Population-Based Estimates of the Cumulative Risk of Hospitalization Potentially Associated with Rotavirus Diarrhea among Children Living in Two Cities in Akita Prefecture, Japan: Izumi Hiramoto, Toyoko Nakagomi and Osamu Nakagomi …….73-77

Infection Route-Independent Accumulation of Splenic Abnormal Prion Protein: Yuji Inoue, Yoshio Yamakawa, Akikazu Sakudo, Tomoya Kinumi, Yuko Nakamura, Yoshitsugu Matsumoto, Keiichi Saeki, Tsuneo Kamiyama, Takashi Onodera and Masahiro Nishijima ……..….78-82

Reactivity of Genotypically Distinct Hepatitis B Virus Surface Antigens in 10 Commercial Diagnostic Kits Available in Japan: Toshiaki Mizuochi, Yoshiaki Okada, Kiyoko Umemori, Saeko Mizusawa, Shinichiro Sato and Kazunari Yamaguchi ……83-87

Immunological Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus by Monoclonal Antibodies: Kazuo Ohnishi, Masahiro Sakaguchi, Tomohiro Kaji, Kiyoko Akagawa, Tadayoshi Taniyama, Msasataka Kasai, Yasuko Tsunetsugu-Yokota, Masamichi Oshima, Kiichi Yamamoto, Naomi Takasuka, Shu-ichi Hashimoto, Manabu Ato, Hideki Fujii, Yoshimasa Takahashi, Shigeru Morikawa, Koji Ishii, Tetsutaro Sata, Hirotaka Takagi, Shigeyuki Itamura, Takato Odagiri, Tatsuo Miyamura, Ichiro Kurane, Masato Tashiro, Takeshi Kurata, Hiroshi Yoshikura and Toshitada Takemori ……..……..88-94

Short Communications

The Seroprevalence of Parvovirus B19 Infection among To-Be-Married Girls, Pregnant Women, and Their Neonates in Shiraz, Iran: Mazyar Ziyaeyan, Manoochehr Rasouli and Abdolvahab Alborzi …….95-97

An Outbreak of Measles Virus Infection due to a Genotype D9 at a Junior High School in Yamagata, Japan in 2004: Katsumi Mizuta, Chieko Abiko, Toshio Murata, Keiko Yamada, Tadayuki Ahiko, Michiyo Sakamoto, Shuji Tsuchida, Yoko Matsuzaki, Seiji Hongo, Tomimasa Sunagawa and Katsuhiro Kudo ……..98-100

Antimicrobial Resistance of Enterococcal Blood Isolates at a Pediatric Care Hospital in India: Lata Kapoor, V. S. Randhawa and Monorama Deb ……...…….101-103

Inducible Clindamycin Resistance in Staphylococci Isolated from Clinical Samples: Nuran Delialioglu, Gonul Aslan, Candan Ozturk, Vildan Baki, Sebahat Sen and Gurol Emekdas ……...……104-106

Serum Neopterin Levels in Patients with Chronic Hepatitis B: Ahmet Kalkan, Mehmet Ozden and Handan Akbulut ……...……107-109

Asymptomatic Cryptosporidiosis in a Periurban Slum Setting in Kolkata, India - a Pilot Study: Anup Palit, Dipika Sur, Kakali MitraDhar and Malay Ranjan Saha …….….110-111

The First Reported Case of Spotted Fever in Fukui Prefecture, the Northern Part of Central Japan: Yoshihiro Noji, Nobuhiro Takada, Fubito Ishiguro, Susumu Fujino, Takahiko Aoyama, Hiromi Fujita, Yasuhiro Yano, Syunichi Shiomi, Isamu Mitsuto, Keiichiro Takase, Toshihiro Haba and Hiroshi Mabuchi ……112-114

Detection of Rabies-Specific Antigens by Egg Yolk Antibody (IgY) to the Recombinant Rabies Virus Proteins Produced in *Escherichi coli*: Yurie Motoi, Satoshi Inoue, Hajime Hatta, Kozue Sato, Kinjiro Morimoto and Akio Yamada ……115-118

Laboratory and Epidemiology Communications

An Outbreak of Diarrhea Caused by *Escherichia coli* Serogroup O169:HNM Harboring a Coding Gene for Enteroaggregative *E. coli* Heat-Stable Enterotoxin 1 (*astA*) in Fukui Prefecture: Fubito Ishiguro, Yoshito Kyota, Michio Mochizuki and Takeo Horikawa ……..….119-120

Subtypes of Hepatitis B Surface Antigen in Turkey: Kezban Tulay Yalcinkaya, Hasan Ucar, Mustafa Uzun, Berrin Esen, Ryoichi Shirachi, Kikuko Miyamura and Hiroshi Yamamoto ……...……..120-122

Active Alveolar Hydatidosis with Sero-Negativity for Antibody to the 18 kDa Antigen: Kimiaki Yamano, Kinpei Yagi, Koji Furuya, Yukiharu Sawada, Hiroshi Honma and Naoki Sato ……..….122-124

June, No. 3

Invited Reviews

The Interaction of HIV-1 with the Host Factors: Jun Komano, Yuko Futahashi, Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Tsutomu Murakami, Zene Matsuda and Naoki Yamamoto …125-130

Sphingolipids in Infectious Diseases: Kentaro Hanada ……..….131-148

Original Articles

Spontaneous Resolution of Hemophagocytic Syndrome and Disseminated Intravascular Coagulation Associated with Parvovirus B19 Infection in a Previously Healthy Child: Zuhre Kaya, Gulyuz Ozturk, Turkiz Gursel and Gulendam Bozdayi ……...……..149-151

Which Patients Are Able To Adhere to Tuberculosis Treatment? A Study in a Rural Area in the Northwest Part of Turkey: Oner Balbay, Ali Nihat Annakkaya, Peri Arbak, Cahit Bilgin and Mete Erbas ……152-158

Increasing Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Community-Acquired Urinary Tract Infections during 1998-2003 in Manisa, Turkey: Semra Kurutepe, Suheyla Surucuoglu, Cenk Sezgin, Horu Gazi, Mehmet Gulay and Beril Ozbakkaloglu ……..159-161

Molecular Characterization of TEM- and SHV-Derived Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Hospital-Based *Enterobacteriaceae* in Turkey: Huseyin Tasli and I. Hakki Bahar ……..……162-167

Short Communications

Clinical Characteristics of Adult *Escherichia coli* Meningitis: Tzu-Ming Yang, Cheng-Hsien Lu, Chi-Ren Huang, Hui-Hong Tsai, Nai-Wen Tsai, Ping-Yu Lee, Chun-Chih Chien and Wen-Neng Chang ……..…..168-170

Value of Surveillance Blood Cultures in Neutropenic Patients -A Pilot Study: Olaf Penack, Ullrich Keilholz, Eckhard Thiel and Igor Wolfgang Blau ……...…..171-173

Antimicrobial Susceptibility Pattern of Blood Isolates from a Teaching Hospital in North India: Manjula Mehta, Priya Dutta and Varsha Gupta ……..…….174-176

Spinal Epidural Abscess Caused by Group B *Streptococcus* in a Diabetic Woman Presenting with Febrile Low Back Pain: Shyi-Yu Chung, Chia-Hung Chen and Wen-Liang Yu ……...…….177-179

Evaluation of Pulsed-Field Gel Electrophoresis Analysis Performed at Selected Prefectural Institutes of Public Health for Use in PulseNet: Masakado Matsumoto, Yasumoto Suzuki, Hideki Nagano, Jun Yatsuyanagi, Hajime Kurosawa, Kazuhiro Kobayashi, Koji Yamaoka, Kazumi Horikawa, Jun Kudaka, Jun Terajima, Haruo Watanabe and Yutaka Miyazaki ……...……180-183

Molecular Evidence of the Dispersal of Lyme Disease *Borrelia* from the Asian Continent to Japan via Migratory Birds: Fubito Ishiguro, Nobuhiro Takada and Toshiyuki Masuzawa ……..…184-186

Laboratory and Epidemiology Communications

Mycobacterium branderi Isolated from Pus of a Right Pulmonary Cavitary Lesion: Isamu Sugawara, Yuko Kazumi, Koji Otomo, Kosuke Ooki, Satoshi Mitarai and Ken-ichi Mori ……..……..187-188

An Outbreak of Food Poisoning Caused by an Enteropathogenic *Escherichia coli* O115:H19 in Miyagi Prefecture: Noriyuki Saito, Michi Kawano, Taeko Kobayashi, Setsu Watanabe, Waka Yamada, Juro Yatsu, Kazuo Kawamukai and Kazuo Akiyama …….189-190

Outbreak of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O121 among School Children Exposed to Cattle in a Ranch for Public Education on Dairy Farming: Yoko Akiba, Tomoko Kimura, Miyoshi Takagi, Toru Akimoto, Yoshio Mitsui, Yoshihiro Ogasawara and Masayoshi Omichi …….190-192

A Fatal Food Intoxication Case due to *Salmonella* Haifa: Haruki Kaibu, Hideaki Higashine, Kunihiro Iida, Shinsuke Ueki and Hiroko Ehara …….192-193

August, No. 4

Review

Mechanisms of Broad Cross-Protection Provided by Influenza Virus Infection and Their Application to Vaccines:

Shin-ichi Tamura, Takeshi Tanimoto and Takeshi Kurata ……195-207

Original Articles

Investigation of an Outbreak of Scrub Typhus in the Himalayan Region of India: Anuradha Sharma, Sanjay Mahajan, M. L. Gupta, Anil Kanga and Vijay Sharma ……208-210

Distribution of *Chlamydia trachomatis* Serovars among Female Prostitutes and Non-Prostitutes in Thailand, and Non-Prostitutes in Japan during the Mid-90s: Tsutomu Yamazaki, Toshikatsu Hagiwara, Toshio Kishimoto, Nozomu Sasaki, Sachiko Takahashi, Osamu Ishihara, Piyada Wangroongsarb, Mayura Kusum and Pachara Sirivongrangsan …….. 211-213

Metalloprotease Gene of *Arthroderma gypseum*: Rui Kano, Tsuyoshi Yamada, Koichi Makimura, Hideyo Yamaguchi, Shinichi Watanabe and Atsuhiko Hasegawa ……214-217

Candidosis in Children with Onco-Hematological Diseases in Chennai, South India: Chethrapilly Purushothaman Girish Kumar, Thangavel Sundararajan, Thangam Menon and Manjetti Venkatadesikalu …….218-221

Prevalence and Genotypic Distribution of Hepatitis GB-C/HG and TT Viruses in Blood Donors, Mentally Retarded Children and Four Groups of Patients in Eastern Anatolia, Turkey: Ahmet Kalkan, Aykut Ozdarendeli, Yasemin Bulut, Yunus Saral, Mehmet Ozden, Neslihan Kelestimur and Zulal Asci Toraman ……..222-227

Short Communications

Antimicrobial Resistance among Gram-Negative Bacteria Isolated from Intensive Care Units in a Cardiology Institute in Istanbul, Turkey: Emine Kucukates …….228-231

Pathogenicity of *Shigella* in Healthy Carriers: a Study in Vientiane, Lao People's Democratic Republic: Bounnanh Phantouamath, Noikaseumsy Sithivong, Sithat Insisiengmay, Yoshio Ichinose, Naomi Higa, Tianyan Song and Masaaki Iwanaga ……..…….232-234

Differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* Using a Single-Enzyme PCR-RFLP Method: Hossein Mirhendi, Koichi Makimura, Kamiar Zomorodian, Nobuko Maeda, Tomoko Ohshima and Hideyo Yamaguchi .235-237

Emergence of *Vibrio cholerae* O1 Biotype El Tor Serotype Inaba in North India: Neelam Taneja, Manisha Biswal, Bansidhar Tarai and Meera Sharma ……..…….. 238-240

Trial Surveillance of Cases with Acute Respiratory Symptoms at IMCJ Hospital: Akihiko Kawana, Katsuji Teruya, Toshihiro Hama, Emi Kuroda, Jun-ichiro Sekiguchi, Teruo Kirikae, Goh Naka, Satoshi Kimura, Tadatoshi Kuratsuji, Hiroshi Ohara and Koichiro Kudo ……...…241-243

Full-Length Sequence of Hepatitis B Virus Belonging to Genotype H Identified in a Japanese Patient with Chronic Hepatitis: Akira Nakajima, Mitsugu Usui, Tran Thien Tuan Huy, Naomi Khaing Than Hlaing, Naohiko Masaki, Tetsutaro Sata and Kenji Abe ……..…..244-246

Pulmonary Actinomycosis Mimicking Chest Wall Tumor in a Child: Faruk Guclu Pinarli, Birgul Mutlu, Cetin Celenk, Levent Yildiz, Murat Elli, Ayhan Dagdemir and Sabri Acar ……247-249

Molecular Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by PCR-RFLP and Its Usefulness in an Epidemiological Study of an Outbreak: Noriaki Mitani, Akira Koizumi, Reiko Sano, Takayuki Masutani, Koichi Murakawa, Keiichi Mikasa and Yasuyuki Okamoto ……250-252

Laboratory and Epidemiology Communications

A Norovirus Outbreak of Gastroenteritis Linked to Packed Lunches: Naomi Sakon, Kenji Yamazaki, Tomoko Yoda, Masashi Kanki, Toru Otake and Teizo Tsukamoto …….253

Norovirus Outbreaks at Nursing Homes in Osaka, Japan: Naomi Sakon, Kenji Yamazaki, Tomoko Yoda, Masashi Kanki, Kazuo Takahashi, Teizo Tsukamoto and Toru Otake ……254-255

An Outbreak of Acute Gastroenteritis Caused by Human Group C Rotavirus in a Welfare Institution in Okayama Prefecture: Mitsutaka Kuzuya, Masako Hamano, Michiko Nishijima, Ritsushi Fujii, Hajime Ogura, Misao Tanaka, Akio Oda, Sachie Kusaka and Mitsuko Naitou …...255-257

Outbreak of Food Poisoning by *Yersinia enterocolitica* Serotype O8 in Nara Prefecture: a First Case Report in Japan: Takeshi Sakai, Akifumi Nakayama, Misao Hashida, Yasuzumi Yamamoto, Hisakatsu Takebe and Shunsuke Imai ……..…….257-258

Genotypic Analysis of Japanese Encephalitis Virus Strains Isolated from Swine in Tokyo, Japan: Yasuko Yoshida, Yukiko Tabei, Michiya Hasegawa, Mami Nagashima and Satoshi Morozumi ……..…..259-261

October, No. 5

Original Articles

PFGE-Based Epidemiological Study of an Outbreak of *Candida tropicalis* Candiduria: The Importance of Medical

Waste as a Reservoir of Nosocomial Infection: Sook-Jin Jang, Hu-Lin Han, Sung-Hyun Lee, So-Yeon Ryu, Bidur Prasad Chaulagain, Young-Lae Moon, Dong-Hui Kim, Ok-Yeon Jeong, Jong-Hee Shin, Dae-Soo Moon and Young-Jin Park ……..…263-267

Microsatellite Polymorphism in the Heme Oxygenase-1 Gene Promoter Is Associated with Susceptibility to Cerebral Malaria in Myanmar: Masato Takeda, Mihoko Kikuchi, Ratawan Ubalee, Kesara Na-Bangchang, Ronnatrai Ruangweerayut, Shigeki Shibahara, So-ichi Imai and Kenji Hirayama ……..…268-271

Increased Expression of the *ska* Gene in *emm49*-Genotyped *Streptococcus pyogenes* Strains Isolated from Patients with Severe Invasive Streptococcal Infections: Tadayoshi Ikebe, Miyoko Endoh and Haruo Watanabe ……...272-275

Is Aerobic Preputial Flora Age Dependent?: Canan Aldirmaz Agartan, Demet A. Kaya, C. Elif Ozturk and Aynur Gulcan ……276-278

Prevalence of Tetanus Immunity in the Kocaeli Region, Turkey: Volkan Dundar, Zeki Yumuk, Devrim Ozturk-Dundar, Sarper Erdogan and Gulcin Gacar …….279-282

Performance of Strand Displacement Amplification Assay in the Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*: Carla Fontana, Marco Favaro, Oriana Cicchetti, Silvia Minelli, Enrico Salvatore Pistoia and Cartesio Favalli ……..……..283-288

Comparison of Genomic Structures in the Serovar 1/2a *Listeria monocytogenes* Isolated from Meats and Listeriosis Patients in Japan: Fukiko Ueda, Kyoko Yugami, Mariko Mochizuki, Fumiya Yamada, Kunitoshi Ogasawara, Akikazu Fujima, Hiroshi Shoji and Ryo Hondo …..289-292

Detection of Japanese Encephalitis (JE) Virus-Specific IgM in Cerebrospinal Fluid and Serum Samples from JE Patients: Sumalee Chanama, Walailuk Sukprasert, Areerat Sangasang, Atchareeya-A-nuegoonpipat, Somchai Sangkitporn, Ichiro Kurane and Surapee Anantapreecha ……294-296

Intensive Care Unit-Acquired Infections: Incidence, Risk Factors and Associated Mortality in a Turkish University Hospital: Meliha Meric, Ayse Willke, Cigdem Caglayan and Kamil Toker ……..……297-302

Pathogen Occurrence and Antimicrobial Susceptibility of Urinary Tract Infection Cases during a 20-Year Period (1983-2002) at a Single Institution in Japan: Katsumi Shigemura, Kazushi Tanaka, Hiroshi Okada, Yuzo Nakano, Shohiro Kinoshita, Akinobu Gotoh, Soichi Arakawa and Masato Fujisawa ……...303-308

Short Communications

Molecular Analysis of Isoniazid, Rifampin and Streptomycin Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from Patients with Tuberculosis in Duzce, Turkey: C. Elif Ozturk, Ahmet Sanic, Demet Kaya and Ismail Ceyhan ……309-312

Genotoxic Effect of Ribavirin in Patinets with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: Abdulgani Tatar, Zulal Ozkurt and Ilhami Kiki ……..…..313-315

Detection of Ehrlichial DNA in Small Rodents Captured in a Woodland Area of Hokkaido, the Northernmost Island of Japan, Where Lyme Disease Is Endemic: Yasukazu Muramatsu, Emiko Ikeda, Chiharu Morita and Yutaka Tamura ……..….316-319

Analysis of the Molecular Evolution of *Listeria monocytogenes* Isoalted from Japanese Meats and Environment: Fukiko Ueda, Kunitoshi Ogasawara and Ryo Hondo ……320-322

Nosocomial Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Endocarditis with Splenic Abscess in a Pregnant Woman: Zulal Ozkurt, Bilgehan Erkut, Ayten Kadanali, Azman Ates and Ibrahim Yekeler …….323-325

Laboratory and Epidemiology Communications

Comparison of the Incidence of Norovirus Infection in Homes for the Elderly: Mika Akizuki, Kazue Nakagawa, Tatsuya Kato, Tsuyoshi Ogata and Yoshikazu Nakamura ……326

A Coprological Survey of the Potential Definitive Hosts of *Echinococcus multilocularis* in Aomori Prefecture: Yasuyuki Morishima, Hiromu Sugiyama, Kyoko Arakawa, Joji Ohno, Atsushi Waguri, Koichi Abe and Masanori Kawanaka …….327-328

An Outbreak of Mixed Infection of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11 and Norovirus Genogroup II at a Kindergarten in Shimane, Japan: Setsuko Iizuka, Yoshie Tsunomori, Kenji Tabara, Kazuo Tsuda and Tsuneo Fukuma …….329-330

Epidemic of Hand, Foot and Mouth Disease in Kawasaki City, Japan: Hideaki Shimizu, Keiko Okuyama and Yoshie Hirai ……330-331

Cryptosporidium Outbreak in a Sports Center: Hajime Yokoi, Miyoshi Tsuruta, Toshimitsu, Tanaka, Mami Tsutake, Yoko

Akiba, Tomoko Kimura, Yoko Tokita, Toru Akimoto, Yoshio Mitsui, Yoshihiro Ogasawara and Hiroshi Ikegami ……..331-332

Outbreak of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 among High School Participants in Excursion to Korea: Kazue Kato, Ryoko Shimoura, Kinuyo Nashimura, Kayo Yoshifuzi, Ken Shiroshita, Noboru Sakurai, Hiroe Kodama and Sanae Kuramoto ……332-333

December, No. 6

Original Articles

Shigella dysenteriae Type 1-Induced Diarrhea in Rats: Kamgang Rene, Pouokam Kamgne Ervice Vidal, Fonkoua Marie Christine,Penlap N. Beng Veronique and Biwole Sida Magloire ……...335-337

Changes in Antibiotic Use, Cost and Consumption after an Antibiotic Restriction Policy Applied by Infectious Disease Specialists: Zulal Ozkurt, Serpil Erol, Ayten Kadanali, Mustafa Ertek, Kemalettin Ozden and Mehmet A. Tasyaran ……338-343

Emergence of Non-*albicans Candida* Species and Antifungal Resistance in a Tertiary Care Hospital: Malini Rajinder Capoor, Deepthi Nair, Monorama Deb, Pradeep Kumar Verma, Lakshmi Srivastava and Pushpa Aggarwal..344-348

SEN Virus Prevalence among Non-B and Non-C Hepatitis Patients with High Liver Function Tests in the South of Turkey: Mehmet S. Serin, Fatih Koksal, Murat Oksuz, Bahri Abayli, Gonul Aslan, Seda Tezean, Cilem Yildiz, Begum Kayar and Gurol Emekdas …….349-352

Adverse Effect of Staphylococci Slime on In Vitro Activity of Glycopeptides: Tarun Mathur, Smita Singhal, Seema Khan, Dilip Upadhyay, Tasneem Fatma and Ashok Rattan ……..353-357

Rapid and Quantitative Detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus by One-Step Real-Time Reverse Transcriptase-PCR: Mehmet Yapar, Hakan Aydogan, Alaaddin Pahsa, Bulent A. Besirbellioglu, Hurrem Bodur, Ahmet C. Basustaoglu, Cakir Guney, Ismail Y. Avci, Kenan Sener, Mohammad H. Abu Setteh and Ayhan Kubar …..... 358-362

Short Communications

Prevalence of *Salmonella enterica* Serovar Typhi in Bile and Stool of Patients with Biliary Diseases and Those Requiring Biliary Drainage for Other Purposes: Chetana Vaishnavi, Satnam Singh, Rakesh Kochhar, Deepak Bhasin, Gurpreet Singh and Kartar Singh ……363-365

Pyogenic Liver Abscess: A Retrospective Analysis of 107 Patients during a 3-Year Period: Khee-Siang Chan, Chin-Ming Chen, Kuo-Chen Cheng, Ching-Cheng Hou, Hung-Jung Lin and Wen-Liang Yu ……..….366-368

Correlation between the Usage Volume of Veterinary Therapeutic Antimicrobials and Resistance in *Escherichia coli* Isolated from the Feces of Food-Producing Animals in Japan: Tetsuo Asai, Akemi Kojima, Kazuki Harada, Kanako Ishihara, Toshio Takahashi and Yutaka Tamura ……..…..369-372

Delayed Diagnosis of Tuberculous Arthritis: Hakan Erdem, Orhan Baylan, Ismail Simsek, Ayhan Dinc, Salih Pay and Murat Kocaoglu ……373-375

A Case of Tuberculous Pyomyositis That Caused a Reccurent Soft Tissue Lesion Localized at the Forearm: Orhan Baylan, Bahtiyar Demiralp, Engin Ilker Cicek, Ali Albay, Mahmut Komurcu, Ozgul Kisa, Armagan Gunal and Mehmet Sahin Ugurel ……...…376-379

Interruption of *env* Gene Expression Depending on the Length of the SV40 Early Region Used for the PolyA Signal: Kei Yamakawa, Sayaka Takase-Yoden and Rihito Watanabe ……..380-382

Seroprevalence of Varicella, Measles and Hepatitis B among Female Health Care Workers of Childbearing Age: Tevfik Yavuz, Ismail Ozdemir, Irfan Sencan, Peri Arbak, Mustafa Behcet and Erhan Sert ……..….383-386

Tuberculous Meningitis with Multiple Intracranial Tuberculomas Mimicking Neurocysticercosis Clinical and Radiological Findings: Oral Oncul, Orhan Baylan, Hakan Mutlu, Saban Cavuslu and Levent Doganci ……387-389

Laboratory and Epidemiology Communications

Prevalence of Coxsackievirus A5, A6, and A10 in Patients with Herpangina in Aichi Prefecture, 2005: Teruo Yamashita, Miyabi Ito, Akiko Taniguchi and Kennji Sakae 390-391

Norovirus Gastroenteritis in Kanagawa Prefecture in December 2004: Yumiko Furuya, Takashi Katayama, Takanori Takahashi and Takayasu Nikkawa…….... 391-392

The Molecular Epidemiology of Ethambutol-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Henan Province, China: Isamu Sugawara, Koji Otomo, Hiroyuki Yamada, Guobin Wang, Changmei Du, Ruiru Shi and Guolong Zhang ……393-395

Isolation of Influenza Virus Type AH3 from a Traveler Returning from Vietnam in July 2005 in Osaka, Japan:

Tetsuo Kase, Saeko Morikawa, Yoshinobu Okuno, Fusako Ito and Kiyosu Taniguchi …….395-396

Mass Food Poisoning Caused by Beef Offal Contaminated by *Escherichia coli* O157: Midori Moroizsumi, Mika Morita, Yumiko Matsuoka, Atsuko Uekawa, Tsutomu Nakamura and Kozo Fuji ……..…397

An Outbreak of Shigatoxin-Producing *Escherichia coli* O157: H7 in a Nursery School in Mie Prefecture: Akira Sugiyama, Yoshito Iwade, Shigehiro Akachi, Yoko Nakano, Yukari Matsuno, Takuya Yano, Akinori Yamauchi, Osamu Nakayama, Haruko Sakai, Ken-ichi Yamamoto, Yuji Nagasaka, Takashi Nakano, Toshiaki Ihara and Hitoshi Kamiya ……....398-400

Secondary Transmission of Cryptosporidiosis Associated with Swimming Pool Use: Sadato Ichinohe, Tokunin Fukushima, Kazunori Kishida, Kenichi Sanbe, Shizuko Saika and Mokoto Ogura …….….400-401

International Symposium

International Symposium on Trends in Transmission Models for Infectious Diseases - Modeling Biosafety Focusing to Social Risk Assessment …….S1-S21

ACKNOWLEDGMENTS

The Editorial Board is grateful to the following scientists for reviewing articles submitted to Japanese Journal of Infectious Diseases during 2005.

Kenji Abe, Michiko Abe, Hideki Aizaki, Toshitaka Akatsuka, Shuji Ando, Shigeji Aoki, Eiji Arakawa, Naoki Arizono, Manabu Ato, Bin Chang, Yoshitaka Goto, Toshikatsu Hagiwara, Hiromi Hamada, Ryo Harasawa, Atsushi Hase, Youichi Hiranuma, Atsuko Horino, Todayoshi Ikebe, Reiko Ikeda, Koichi Imaoka, Youji Inoue, Koji Ishii, Yoshikazu Ishii, Shigeyuki Itamura, Mikako Ito, Yasuhiko Ito, Sunao Iyoda, Hidemasa Izumiya, Hiroshi Kakeya, Kazunari Kamachi, Shigeru Kamiya, Tamotsu Kanazawa, Tsuguhiro Kaneda, Shinji Kasai, Haru Kato, Tsuyoshi Kenri, Ken Kikuchi, Satoshi Kimura, Seigo Kitada, Tomoko Kiyohara, Kazuo Kobayashi, Nobuo Koizumi, Hiromitsu Kumada, Hiromi Kumon, Fumiaki Kura, Akihiko Maeda, Koichi Makimura, Souichi Makino, Sohkichi Matsumoto, Kazuhiro Matsuo, Satoshi Mitarai, Jiro Mitobe, Masashi Mizokami, Keita Morikane, Koichi Morita, Nobuo Murakami, Somei Murayama, Kazutoshi Nakajima, Noboru Nakata, Tetsuo Nakayama, Mitsuo Narita, Masaru Nawa, Masayoshi Noguchi, Masaki Ochiai, Naoya Ohara, Yoshiro Ohara, Yasushi Ohkusa, Kazuo Ohnishi, Tomoko Ohshima, Hideki Ohyama, Yuzaburo Oku, Yoshinobu Okuno, Kenji Onishi, Shouichi Onodera, Kazunori Ooishi, Takaaki Ooyama, Kazunobu Ouchi, Masayuki Saijo, Yuko Sasaki, Takehiro Serikawa, Naohiro Shibata, Mika Shigematsu, Rieko Suzuki, Ryosuke Suzuki, Sadahiko Suzuki, Satowa Suzuki, Shigeru Tajima, Hideo Takahashi, Hideyuki Takahashi, Shunji Takakura, Kazuyuki Tanabe, Koichi Tanabe, Masami Tanaka, Masayoshi Tarui, Kazuhiro Tateda, Issei Tokimatsu, Ryoji Tsuboi, Takashi Umeyama, Akihiko Yamamoto, Shigeki Yamamoto, Nobuhisa Yamane, Shinji Yamazaki, Tsutomu Yamazaki, Hideki Yanai, Yoshiya Yoshida

22. ハンセン病研究センター

センター長 宮村達男

概 要

ハンセン病研究センターは国立らい研究所として発足し、本年で 50 年を迎えた。また国立感染症研究所と統合してから 10 年となった節目の年である。

感染症研究がすべからくそうであるようにハンセン病の基礎研究もその成果が適切にトランスレートされて、病気の予防、治療、コントロールに反映されねばならない。個のレベルでも、そして社会レベルでも。ハンセン病の場合はこれからは地球レベルのコントロールにも寄与しなければならない。ハンセン病は個レベルの病原体排除、根絶が極めて困難な慢性感染症の代表として研究を切り開く使命を持っている。その意味でハンセン病研究センターが国立感染症研究所の一つのセンターとして機能してゆき、それが軌道にのっていることはとても大切なことである。

そのような観点から私達はこれまでの 50 年の研究を振り返り、そして新たなチャレンジに向けてハンセン病研究の 50 周年記念シンポジウムを開催した。シンポジウムは 8 月 30 日、多くの OB の先生方の参加があり、盛会であった。「結核予防と診断：現在、未来」について感染研竹森利忠免疫部長が、「現代社会における結核の脅威と制圧戦略」について大阪市立大学小林和夫教授が、「病原細菌の進化としての薬剤耐性の獲得」について感染研荒川宜親細菌第二部長が、「Updates on the Global Leprosy Situation Focusing on the WHO-Western Pacific Region」について WHO 西太平洋地域事務局の Dr. S. Barua が講演を行った。

その夕行われた記念懇親会では多摩研の元所長森龍男先生、阿部正英先生、全国ハンセン病療養所入所者協議会曽我野一美会長、厚生労働省の松谷有希雄医政局長、全国ハンセン病療養所施設長協議会の長尾榮治会長、国立療養所多磨全生園の青﨑登園長、感染研の山崎修道元所長、竹田美文元所長、吉倉廣前所長はじめ多くの OB の先生方、学会の先生方のご参加をいただき、また激励の言葉をいただいた。身のひきしまる思いで 50 年の歴史をかみしめ、新たなスタートを切った。

この新たなスタートを象徴するように 17 年度から 3 年計画でセンターに BSL-3 施設をふくむ新研究棟の建設が認められた。動物実験施設（ABSL-3）を含む宿願の達成である。これは成果の見える新しいワクチン研究が具体的になってきたことを意味し、各方面からのサポートによってとうとう実現した。新研究棟には建設だけでなく運営についても住民の皆さんはじめ各方面の理解、協力が不可欠であり、説明会ももたれた。

また 50 年の節目を機会にハンセン病を正しく理解し、ハンセン病についての知識を深めるための「ハンセン病医学市民公開講座」を開いた。平成 17 年度の「ハンセン病を正しく理解する週間」の初日 6 月 19 日に行った。講演は①「ハンセン病の現況について」石井則久生体防御部長が、②「ハンセン病とはどんな病気？どうして病気になるの？」牧野正彦病原微生物部長が行った。実にわかりやすく、丁寧な話で大好評であった。これからも続ける。

ハンセン病医学夏期大学講座は順調に企画され、実行された。今年で第 28 回となり例年通り 8 月の最終週（8 月 22 日～26 日）に行われた。今年は新たな講師もお願いしテキストも一新した。参加者は、34 名（うち医師及び医学生 5 名）講義コースだけでなく医学コース及び看護コースでは全生園病棟での実習が含まれているのが特長で、さればこそ高い評価も受けている。

今年も JICA の国際研修が行われ、エルサルバドル、ケニア、ミャンマー（2 名）、ニジェールからの研修生を受けいれた。1989～1996 年の「ハンセン病医学コース」、1997～2001 年の「ハンセン病医学研修コース」についで、2002 年から始まった「ハンセン病の治療及び予防の実践」コースの第 4 回目である。このコースは JICA の数あるコースの中でも非常に specific なものであり、評価も高い。研修をうけるべき人が選ばれ、帰国後その研修の成果が生かされ、活用されているという点でも評価が高い。第 1 回目の研修生であった Dr. Kamaludin（マレーシア）がマレーシア国の感染症コントロールのリーダーとなり、今年感染症情報センターで行われた FETP の講師として感染研を再訪してくれたのは嬉しいかぎりであった。実地の研修には職員が分担担当し、密度の高い研

修がされていることも又、評価されている。ただ 8 ヶ月にわたる長期の研修については再検討が必要であろう。

人事面では生体防御部第三室長に病原微生物部第三室長の鈴木幸一が配置換となり、後任の病原微生物部第三室長には東大医科研より田村敏生が着任した。病原微生物部、生体防御部のそれぞれの研究の発展の方向にそった適切な人事であった。センター長宮村達男は 18 年 4 月より所長に昇任し、後任に森亨前結核予防会結核研究所長が就任する。

国内関係事業等

1. 第 28 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 22～26 日)。参加者数は 34 名（うち医師及び医学部学生が 5 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、看護コースでは実習・グループ学習を実施。実行委員会はセンター、多磨全生園、全療協、入所者自治会で構成。
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（6 月 7,8 日、10 月 12,17,18 日、2 月 23 日）
3. 「ハンセン病医学市民公開講座」の実施
   日時：平成 17 年 6 月 19 日（日）14:00～16:00
   会場：東村山市市民センター別館会議室
   来聴者数：71 人
4. 「ハンセン病研究の 50 周年記念シンポジウム」の実施
   日時：平成 17 年 8 月 30 日（火）13:30～
   会場：ハンセン病研究センター講義室
   来聴者数：約 60 人
5. ハンセン病研究センターが昭和 30 年 7 月 1 日に設立されて以来 50 周年の節目を迎えたことを踏まえ、平成 17 年 12 月に「ハンセン病研究 50 周年のあゆみ」を作成・配布した。
6. 「新研究実験棟」整備に係る住民説明会の実施
   平成 17 年～平成 19 年度事業として予算が認められた「新研究実験棟」の整備について、以下のとおり周辺住民の方々への説明会を開催した。
   ・第一回説明会：平成 18 年 1 月 14 日（土）
   ・第二回説明会：平成 18 年 2 月 11 日（土）
   ・第三回説明会：平成 18 年 3 月 9 日（木）

国際協力事業

1. 平成１７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、当該分野の最新の処置式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：ニジェール、ケニア、エルサルバドル　各１名、ミャンマー２名　計５名
   研修期間：平成１７年４月５日～１２月１０日
   内容：日本語講義　１ヶ月
   講義　年間２７（所内１３、所外１４）
   個別研修　約４ヶ月
   外部研修　約１９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
   ノバルティスファーマ
   広島県環境保健協会
   国立療養所多磨全生園
   国立療養所邑久光明園
   横浜市立大学医学部
   国立国際医療センター
   国立保健医療科学院
   日本ハンセン病学会総会出席
   日本公衆衛生学会総会出席
   日本熱帯病学会総会出席
   ハンセン病医学夏期大学講座
   所沢おうえんポリクリニック
   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 17 年 12 月に各国に帰国した。
2. 国際共同研究と職員の海外派遣状況
   ・ベトナム：ハンセン病の疫学調査、早期診断のための新しい血清診断法等についての共同研究のため職員 3 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、薬剤耐性検査である。

平成 17 年度（平成 17 年 4 月～平成 18 月３月）の検査件数は表のごとく 72 症例、104 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。現在バドマイヤー法を用いた薬剤耐性の検査は実施しておらず､別途薬剤耐性遺伝子検査を行っている。最終的に新規にハンセン病と診断されたものは 3 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(国立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(国立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、平成 16 年度：98 件}である。平成 17 年度は 104 件(国立ハンセン病療養所から 52 件の血清検査の依頼があった)と増加した｡ハンセン病新規患者数は平成 17 年では 6 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、耐性遺伝子検査を行政検査の項目にすること、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１７年度（2005 年度）行政検査実績

年度	2005
年度	平成17
登録検査番号	82
総検査件数	104
病理学的検査件数	15
血清抗体価検査件数	64
PCR検査件数	25
薬剤耐性遺伝子検査件数	0
実症例数	72

らい菌の供給（松岡正典・天内肇）

平成 17 年 4 月より同 18 年 3 月までの間において、表に示すように、のべ 19 回、70 匹、5 施設、10 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 17 年４月より平成１8 年３月）

Ｎｏ.	年月日	分与先		マウス匹数
	平成 17 年			
１）	5.23	福富	ハンセン研	1
２）	5.31	吉田	九州大	1
３）	6.20	鈴木	ハンセン研	4
４）	7.6	藤村	北里大	3
５）	7.8	牧野	ハンセン研	1
６）	8.10	儀同	ハンセン研	2
７）	8.18	牧野	ハンセン研	1
８）	9.20	儀同	ハンセン研	2
９）	8.29	藤村	北里大	3
１０）	9.26	吉田	九州大	1
１１）	10.31	吉田	九州大	1
１２）	11.7	牧野	ハンセン研	1
１３）	11.15	鈴木	ハンセン研	4
	平成 18 年			
１４）	1.12	B.R.Sapkuta N.Honore	Amandaban Leprosy Hospital Nepal Pasteur 研	6(DNA)
１５）	1.18			10(DNA)
１６）	1.27	牧野	ハンセン研	2
１７）	2.15	増澤	北里大	4
１８）	2.16	山崎	ハンセン研	4
１９）	3.6～3.9	牧野（研究班）	ハンセン研	19

22．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

病原微生物部は、らい菌・非結核性抗酸菌・結核菌などの病原性抗酸菌の研究を行っている。らい菌あるいはハンセン病に関し、発症機構の解析・診断技術の開発および改良と、薬剤耐性菌に関する研究・治療および予防に関する研究を中心としている。これらの中で、I.発症機構に関しては、①マクロファージの抗菌活性の発現調節、②糖脂質抗原の生合成経路の解析、③らい菌全ゲノムを網羅した遺伝子ライブラリの構築と病原性因子の解析、④カニクイザルを用いたハンセン病動物モデルの開発を行い、II.診断に関しては、①LAMP 法を応用した遺伝子診断法の開発、②ハンセン病の新しい血清診断法の開発、③ハンセン病濃厚流行地における疫学調査を行い、III.薬剤耐性菌に関しては、①薬剤耐性を誘導する遺伝子変異の迅速検出法、②薬剤耐性と遺伝子変異の相関、③結核菌の迅速薬剤感受性試験法の開発、IV.治療に関しては、①リポタンパクを用いたハンセン病免疫療法の開発、②CD4 T 細胞とのサイトカイン非依存性相互作用によるマクロファージの活性化、V.予防に関しては、①改良型リコンビナント BCG の作製と予防効果、②BCG 非依存性ブースターワクチンの開発を行っている。この中で特記に値するものは、薬剤耐性菌に関する研究である。薬剤耐性をもたらす原因として、薬剤ターゲット遺伝子の突然変異が上げられ、突然変異の同定は臨床分離株が薬剤耐性である可能性を示唆する。しかし、らい菌は試験管内での培養ができないため、らい菌と薬剤を混合培養することによって耐性菌であることを直接的に証明することはできない。そこで、*M. smegmatis* など培養可能菌に対し、らい菌の薬剤耐性ターゲット遺伝子を導入し同定された突然変異が直接的に薬剤耐性と関わるか否かを診断する技術を開発した。長年苦労を重ねて開発してきた技術であり、今後幅広く利用されることを望む。また、らい菌の簡易遺伝子同定法が開発された。LAMP 法を応用し、さらに、菌の保存・運搬についても考慮したものであり、ハンセン病濃厚流行国の主体となっている開発途上国でも十分利用できる診断法と考えられる。今後、安価なキットが生産されることを望む。また、非結核性抗酸菌の代表である *M. avium* の GPL の生合成に関わる遺伝子が同定された。これまで不明なまま残されてきた *M. avium* の病原性因子に関わる研究が進展すると考えられる。マクロファージとらい菌の相互作用についての研究が昨年度に引き続き行われ、マクロファージの分化・誘導に用いるサイトカインによって、マクロファージの抗らい菌生体防御反応が大きく左右される可能性が示唆された。多菌型ハンセン病と少菌型ハンセン病の発症機構、とくに抗原提示細胞の選択性については大きな謎に包まれていたが、その謎を紐解く研究と考えられる。ハンセン病に対する新しいワクチンの開発研究の一環として、これまでにらい菌の主要抗原として Major Membrane Protein-II (MMP-II)を同定してきたが、本年度は MMP-II を有効利用したリコンビナント BCG を作製した。本 BCG は、感染した細胞内で MMP-II を分泌し、T 細胞を効率よく刺激するものである。T 細胞の活性化能は従来の BCG より遥かに優れており、今後の検討が待たれる。さらに、MMP-II を用いた新しい血清診断法の開発研究も手がけた。特に、これまで診断が難しかった少菌型ハンセン病にも用いられる診断法と期待される。同時に国際共同研究においても導入を図った。

最後に人事についてであるが、昨年第四室長鈴木幸一が生体防御部へ移り、後任として東京大学医科学研究所から田村敏生が平成 18 年 1 月 1 日付で着任した。

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．*Mycobacterium avium* complex 由来 Glycopeptidolipids (GPLs) 糖鎖生合成の解明

M. avium complex 由来の GPLs は、本菌の血清型を決定づける主要糖脂質である。その糖鎖生合成を解明するため、推測される各生合成遺伝子群を *M. smegmatis* に発現させ、得られた GPLs の構造比較から各生合成遺伝子の機能を解析した。その結果、多くの血清型 GPLs に共

通なフコース残基の形成に関与する遺伝子を同定した。
[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．結核菌遺伝子 Rv2957 の機能解析

結核菌 *M. tuberculosis* には機能不明の糖鎖転移酵素遺伝子が数多く存在する。それらの中より、*M. avium* complex の glycopeptidolipids (GPLs) 生合成遺伝子と高い相同性を示す遺伝子 Rv2957 につき、*M. smegmatis* を用いて機能解析を行った。その結果、結核菌遺伝子 Rv2957 は GPLs 生合成の一経路を相補し得るフコース転移酵素遺伝子であることが判明した。
[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]

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、第二成分の RegX3 は、その遺伝子上流部分の欠失のためほとんど機能していないことが判明した。また、第一成分の SenX3 のプロモーター活性を調べた結果、結核菌 SenX3 と同等だった。自己制御するこの系のプロモーター活性は、RegX3 がほとんど機能しなくとも、らい菌 SenX3-RegX3 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プロモーターに作用することが示唆された。遺伝子破壊株を *M. smegmatis* を用い作成し、プロテオーム解析を実施中である。

[甲斐雅規、中田　登、牧野正彦]

４．らい菌の偽遺伝子発現に関する研究

らい菌コスミドライブラリーDNA とのハイブリダイゼーションによって同定された、らい菌に高発現する偽遺伝子に関する解析を行った。その結果、らい菌は結核菌と比べ、酸化還元酵素関連遺伝子の偽遺伝子化率が高いことが判明し、これが菌の遅増殖性などに関連する可能性が示された。

[鈴木幸一、中田　登、牧野正彦]

５．サル由来シュワン細胞を用いた神経障害機構の解明

ハンセン病の末梢神経障害機構を解明するため、サル由来シュワン細胞株を樹立した。シュワン細胞は、らい菌刺激により、数々のサイトカインを産性した。サイトカイン産生を誘導するらい菌抗原を検討するため、らい菌画分を調整したところ、らい菌膜蛋白がもっとも強いサイトカイン誘導能を示した。しかし、シュワン細胞を 30 回以上継代培養すると、S100 抗原陽性であるにもかかわらず、サイトカイン産生能は極度に低下した。
[前田百美、遠藤真澄(生体防御部)、寺尾恵治(医薬基盤研霊長類医科学研究センター)、牧野正彦]

６．らい菌感染モデルサルの樹立

ハンセン病の発症機構の解明およびワクチン開発における効果判定・安全性確認のため、サルのモデル系が必要になる。そのため幼若カニクイサルにらい菌を接種し、その経過を解析している。鼻腔内、皮下の経路により接種を行い、鼻腔洗浄液の PCR、血清抗体価の検討を進めている。
[向井　徹、松岡正典(生体防御部)、鈴木幸一(生体防御部)、斎藤直之（予防衛生協会）寺尾恵治(医薬基盤研霊長類医科学研究センター)、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．ハンセン病ワクチン開発のための新しいリコンビナント BCG の検討

らい菌の主要抗原の一つ Major Membrane Protein (MMP-II)を有効利用したリコンビナント BCG を作製した。MMP-II をコードする遺伝子の上流に結核菌由来 Ag85A 分子の分泌シグナルを付加したリコンビナント BCG（BCG-SM）及びベクターコントロール BCG(BCG-pMV)の免疫誘導能を比較検討した。ヒト末梢単球由来樹状細胞をコンビナント BCG でパルスすると、BCG-SM は BCG-pMV に比べて自己 T 細胞を有意に強く活性化させ、IFN-γ 産生性タイプ１CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞を産生した。

[前田百美、向井　徹、牧野正彦]

２．らい菌特異的リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

らい菌のリポ蛋白 LpK のＮ末端 13 アミノ酸配列を含む合成リポペプチド lipoK は、TLR2 を認識し、樹状細胞の抗原提示能を増強する。今回はらい菌が強い親和性を示す、ヒト単球由来マクロファージの抗原提示能に及ぼす影響を検討した。マクロファージを lipoK で刺激したところ、炎症性サイトカイン IL-12 及び TNF-α の産生を誘導し、同時に自己の CD4 陽性 T 細胞を刺激し、IFN-γ を産生した。従って、lipoK は免疫療法に活用し得る分子である事が示唆された。

[前田百美、田村敏生、牧野正彦]

３．新しいハンセン病のワクチン開発に関する研究

前年度に引き続き BCG-Tokyo 株に結核菌由来 Ag85a の分泌シグナルを付加したらい菌の MMP-II 抗原遺伝子を、ベクターに組み込んだプラスミドをもつ、rBCG(pMV261-SM)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(pMV261-SM)を 10^6cfu/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。しかし、結核菌防御能は、BCG-Tokyo 株とほぼ同程度であったことからハンセン病と結核の多目的ワクチンとして期待される。

[山崎利雄、宮本友司、牧野正彦]

４．鼻腔を介したワクチン投与法の開発

ヒト小児の風邪の起因ウイルスであるレオウイルの構成蛋白σ因子を用い鼻腔粘膜への効率的な、粘膜誘導法の開発を行った。らい菌由来ＭＭＰＩＩ蛋白の融合型は、非融合型に比較し、マウスの鼻腔内投与により、液性免疫誘導及びＮＡＬＴ組織Ｔ細胞ＩＦＮ－γ誘導の上昇を認めたが、ＩＬ－４産生は、同等であることを示した。

[向井　徹、宮本友司、牧野正彦]

５．効率的な抗原提示を行うＢＣＧの開発

Hsp70 による蛋白の免疫誘導上昇を目的とし、らい菌由来ＭＭＰ ＩＩ蛋白をＢＣＧ由来 Hsp70 もしくは、らい菌由来 Hsp70 との融合蛋白発現ベクターおよび、各種分泌シグナルを上流に付加した発現ベクターを構築し、ＢＣＧの transformation を行った。各種ＢＣＧを検討した結果、培養上清中へ、各種蛋白の分泌が確認された。

[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

血清診断用の抗原として、Major Membrane Protein-II (MMP-II)を用いた ELISA 法を検討してきた。今回、サンドイッチ ELISA 法を用いて、MMP-II 及び PGL-I 抗体の陽性率を詳細に比較検討した。患者血清中の抗 MMP-II 抗体陽性率は、多菌型ハンセン病患者では 83.9%、少菌型ハンセン病患者では 41.0%を示した。抗 PGL-I 抗体の陽性率は多菌型ハンセン病患者では 68.3%、少菌型ハンセン病患者では 20.5%で、X2 検定法により有意な差が見られた。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、向井　徹、石井則久(生体防御部)、牧野正彦]

２．簡易・迅速らい菌遺伝子検出法の開発

らい菌遺伝子 RLEP を標的としたＬＡＭＰ法の開発を行ってきた。簡易な検体保存運搬法として、特殊な化学処理が施されたＦＴＡカードを用いた。ＦＴＡカードに既知数のらい菌体を添加し、3 ヶ月室温保存を行い、ＬＡＭＰ法による検討を行った。その結果、５０菌体まで検出が可能であり、このカードのしようにより、検体採取後冷蔵保存を施すことなく検査室まで輸送が可能であることが示された。

[向井　徹、松岡正則(生体防御部)、宮本友司、牧野正彦]

３．クロファジミンによるマクロファージの形態変化と細胞死

ヒト末梢血単球由来培養マクロファージをクロファジミン存在下で培養したところ、数時間内に細胞が収縮しアポトーシス小体が出現し、24 時間後にはほとんどの細胞が顕著な形態異常を示した。ミトコンドリア活性を指標とした代謝試験によりこれらの細胞の死滅が確認された。また、ギムザ染色により、核は顆粒状に染まる傾向にあり著明な核の凝縮と細胞質の縮小がみられ典型的なアポトーシスの形態を示した。クロファジミンがマクロファージにアポトーシスを起こすことでハンセン病における抗炎症作用（らい反応抑制）を発揮する可能性が示唆された。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

４．らい菌感染ヒトマクロファージの *in vitro* 培養

らい菌を *in vitro* にてマウス Mφ に貪食させ感染させた。らい菌の生存率を調べたところ、35℃で培養すると著明な改善がみられ、代謝活性が 1 ヶ月程度保持されることを見出した。さらに IL-10 の添加により Mφ 内らい菌の生存が 2 ヶ月間良好に保たれた。ヒト Mφ に *in vitro* にてらい菌を感染させて同様に培養を行い、35℃で培養したところマウス Mφ と同様、細胞内らい菌の生存率が高くなった。さらに IL-10 を添加すると生存率が高まった。ヒト Mφ 中のらい菌の生存は培養温度に依存し、また IL-10 により生存率が高まったことから、病巣の低温状態や産生される IL-10 が Mφ 内におけるらい菌の増殖に有利な環境を産み出していると考えられた。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

５．らい菌由来糖脂質の解析

結核菌などの抗酸菌では菌体成分糖脂質である Trehalose Dimycolate (TDM)は、病原性因子の１つであり、各種生物活性を示す。らい菌ではこれまで TDM の存在

は証明はされていない。らい菌由来糖脂質を検討したところ、結核菌の糖脂質 TDM, TMM と同等のものが得られ、質量分析でも結核菌の TDM 、TMM と同様の物質であった。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、らい菌と同じミコール酸のサブクラスを持つ BCG 菌コンノート株を用い、らい菌 TDM, TMM 類似物質としてそれら糖脂質の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をコードする遺伝子の変異が知られている。その遺伝子変異はアミノ酸配列上で 53 位と 55 位の変異を起こすものが多い。臨床分離株でしばしば発見される、他の位置での変異については耐性との相関は不明のままである。そこで、３次元分子構造解析ソフトウェア（MOE）を利用し、その相関の推察を試みている。これまで、野生株のアミノ酸配列を用い酵素と基質である PABA あるいはダプソンとの結合をシュミレーションできた。その結果から確かに 53 位あるいは 55 位での変異が３次元構造上ある一定の変化をもたらすことが予想できた。

[甲斐雅規、中田　登、牧野正彦]

２．らい菌 *folP* 遺伝子変異とダプソン感受性に関する解析

ハンセン病治療薬ダプソンはらい菌 folP 遺伝子産物を阻害するとされる。そこで、*Mycobacterium smegmatis* の *folP* 遺伝子をらい菌の *folP* 遺伝子で置き換え、21 種の点変異を導入してダプソン感受性を調べた。その結果、53、55 番のアミノ酸の置換は一部を除きダプソン耐性を引き起こしたが、48、54 番のアミノ酸置換は感受性に大きな影響を与えなかった。また、53 番の変異の一部はむしろダプソン感受性を上昇させ、臨床分離株に見られる全ての変異がダプソン耐性を引き起こすわけではないことが示された。

[中田　登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦]

３. 抗酸菌 *gyrA* 遺伝子変異とキノロン剤感受性に関する解析

キノロン系化学療法剤は *gyrA* 遺伝子産物と結合し、その活性を阻害して抗菌作用を発揮すると考えられている。そこで、抗酸菌における *gyrA* 遺伝子変異とキノロン系薬剤感受性との関係を明らかにするため、*Mycobacterium smegmatis* の *gyrA* 遺伝子をプラスミドにクローニングして同菌に導入後、染色体上の *gyrA* 遺伝子の破壊を行った結果、変異の積極的な導入が可能であることがわかった。現在、らい菌や結核菌臨床分離株に塩基置換が見られる位置に変異を導入して薬剤感受性の変化を検討している。

[中田　登、甲斐雅規、牧野正彦]

Ⅴ. 結核菌と非結核性抗酸菌に関する研究

１．新規結核ワクチン開発のための基礎研究：Th1 分化の分子機構に関する解析

結核に対する有効な防御反応の誘導、効果的なワクチンの開発には、効率よく且つ強力に Th1 細胞の分化・活性化を誘導することが必要である。我々は、結核菌分泌蛋白 Ag85B 由来のペプチドが選択的に Th1 免疫応答を惹起し、この Th1 活性化によって効果的に結核防御エフェクター細胞（細胞障害性 T 細胞など）が活性化することを見出した。このペプチドによる Th1 分化が T 細胞抗原受容体を介した活性化シグナルによって規定され得ることを明らかにした。現在、このペプチドによる T 細胞抗原受容体を介した Th1 分化誘導の分子機構及び Th1 細胞によるエフェクター細胞活性化誘導の分子機構に関し検討を行っている。

[田村敏生、高津聖志(東京大学・医科学研究所]

２．ATP 測定法によるらい菌の薬剤感受性試験法の検討

昨年度に引き続き、ATP 測定法によるらい菌の薬剤感受性試験法の検討を行った。今年度は、同一日に調製したらい菌 Thai53 株を用いて、RFP、CAM は 0.125, 0.5, 2μg/ml、OFLX は 0.5, 2, 8μg/ml の濃度について ATP 法と Buddemeyer 法についての比較実験を行った。各薬剤の低濃度では、両法間で差が大きいところもあったが、抑制傾向は、良く一致した。また、ATP 法の方が Buddemeyer 法よりも高い抑制率を示す傾向にあった。

[山崎利雄；儀同政一、松岡正典（生体防御部）]

３．結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

現行の PZA 感受性試験法では、信頼性に問題がある。そこで、信頼できる PZA 感受性試験法の確立を最終目的とし、ATP 法による結核菌 PZA 感受性試験法の基礎的検討を行った結果、Middlebrook 7H9 液体培地の pH は、5.9 を採用、7 日目に ATP 量を測定し、PZA の濃度は 100μg/ml が適当と思われた。ATP 法と参照法（液体テスト法、寒天比率法、ピラジナミダーゼ試験）で得られた結果との比較を行い、ATP 法の信頼性を検討した。ATP 法による PZA 感受性試験は、迅速で正確な結核菌薬剤感受性試験法として有望である。

[山崎利雄、山本三郎（細菌第二部)、
岡沢　豊（極東製薬工業）]

４．入浴施設の浴槽水より分離された抗酸菌の分離状況

東日本の入浴施設の循環式浴場より採取された浴槽水における抗酸菌の汚染状況を調査した。各施設の浴槽水124検体のうち23検体から39株の抗酸菌が検出された。検出された抗酸菌39株の内訳は、*M. gordonae* 8株、*M. scrofulaceum* 1株、*M. avium* 18株、*M. intracellulare* 1株、*M. noncromogenicum* 1株、*M. fortuitum* 4株、*M. phlei* 5株、*M. flavescens* 1株であった。病原性の高い非結核性抗酸菌が検出された入浴施設では、浴用水の浄化・消毒による衛生管理が必要である。

[山崎利雄、遠藤卓郎（寄生動物部)、杉山寛治（静岡県環境衛生研究所)、黒木俊郎（神奈川県衛生研究所）]

国際協力関係業務

Ⅰ．ベトナム国との国際共同研究

ベトナム国中部のハンセン病病院において、らい菌のPGL-I抗原及びMMP-II抗原に対するELISA法による抗体検査およびDNA診断の技術供与を行い、各らい菌抗原の血清診断法の評価を行った。患者及び患者接触者の血清約1500サンプルについて検査した結果、新しい抗原であるMMP-IIがより高い特異性を示した。また、その後の解析からMMP-IIはPGL-Iと比較しより多くの少菌型患者血清と反応した。現在、健常人血清の数を増加させより確実な統計解析を行っている。

［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）Maeda Y., Mukai T., Spencer J. and Makino M.: Identification of immunomodulating agent from *Mycobacterium leprae*. Infect. Immunity, 73:2744-2750, 2005.

２）Makino M., Maeda Y. and N. Ishii.: Immunostimulatory activity of major membrane protein-II from *Mycobacterium leprae*. Cell. Immunol., 233:53-60, 2005.

３）Miyamoto Y., Mukai T., Nakata N., Maeda Y., Kai M., Naka T., Yano I. and Makino M.: Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipids biosynthesis. J. Bacteriol., 188:86-95, 2006.

４）Mukai T., Miyamoto Y., Yamazaki T. and Makino M.: Identification of *Mycobacterium* species by comparative analysis of the *dnaA* gene. FEMS Microbiol. Lettr., 254:232-239, 2006.

５）Suzuki K., Nakata N., Bang P. D., Ishii N. and Makino M. High-level expression of pseudogenes in *Mycobacterium leprae*. FEMS Microbiol. Lettr., 259:208-214, 2006.

６）Ohyama H, Ogata K, Takeuchi K, Namisato M, Fukutomi Y, Nishimura F, Naruishi H, Ohira T, Hashimoto K, Liu T, Suzuki M, Uemura Y, Matsushita S.　Polymorphism of the 5' flanking region of the IL-12 receptor beta2 gene partially determines the clinical types of leprosy through impaired transcriptional activity.　J Clin Pathol 58:740-743, 2005.

７）Seki, M., Sato, A., Honda, I., Yamazaki, T., Yano, I., Koyama, A., and Toida, I. Modified multiplex PCR for identification of Bacillus Calmette-Guerin substrain Tokyo among clinical isolates. Vaccine. 23: 3099-3102, 2005.

８）Akagawa, K., Komuro, I., Kanazawa, H., Yamazaki, T., Mochida, K.,and Kishi, F. Functional heterogenity of colony-stimulating facter-induced human monocyte-derived macrophages. Respirology. 11: S32-S36, 2006.

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、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.

３）福富康夫：らい菌による免疫抑制の機序（特集 I:微生物の免疫回避機序より）臨床免疫 43:392-399, 2005.

Ⅱ．学 会 発 表

1．国際学会

１）Suzuki K., Takeshita F., Nakata N., Ishii N. and Makino M.: Functional counteraction between toll-like receptor 2 and CORO1A that affects intracellular survival of mycobacteria. The 14th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophage , Saitama, Japan, June, 2005.

２）Makino M., Maeda Y. and Mukai T.: IL-1 at the early stage of monocyte differentiation to dendritic cells impairs functional activities of dendritic cells. Fortieth Annual U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 40th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Seattle, USA,

July, 2005.

３）Mukai T., Miyamoto Y., Matsuoka M. and Makino M.: Rapid detection of *Mycobacterium leprae* by a loop-mediated isothermal amplification method. Fortieth Annual U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 40th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Seattle, USA, July, 2005.

４）Suzuki K, Takeshita F, Nakata N, Ishii N. and Makino M.: Toll-like receptor 2 and CORO1A counteract for the survival of intracellular mycobacteria. The 18th Naito Conference. Hayama, October, 2005.

2．国内学会

１）宮本友司、向井　徹、中田　登、甲斐雅規、前田百美、中　崇、矢野郁也、牧野正彦：細胞内寄生に影響を与える抗酸菌糖脂質 Glycopeptidolipids の構造．第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月．

２）福富康夫、前田百美、牧野正彦：クロファジミンによるマクロファージの細胞死誘導. 第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月．

３）牧野正彦、前田百美、向井　徹：らい菌感染末梢血単球由来サイトカインの樹状細胞による生体防御反応に及ぼす影響．第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月．

４）中田　登、甲斐雅規、宮本友司、鈴木幸一、牧野正彦：*Mycobacterium smegmatis* の持つ第 2 の *katG* 遺伝子の機能．　第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月．

５）前田百美、石井則久、向井　徹、甲斐雅規、福富康夫、北田清悟、小林和夫、矢野郁也、牧野正彦：MMP-II を用いたハンセン病血清診断法の開発. 第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月．

６）山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住祐子、高橋光良：結核患者だった飼い主より感染したと思われた犬の結核例．第 75 回実験結核研究会総会、さいたま市、2005 年 5 月．

７）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：RD16 BCG の生物学的活性、第 75 回実験結核研究会総会、さいたま市、2005 年 5 月．

８）山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住祐子、高橋光良：感染源が特定された飼い犬の結核例、第 79 回日本結核病学会総会、さいたま市、2005 年 5 月．

９）山崎利雄、松岡正典、儀同政一：生物発光法をによるらい菌の薬剤感受性試験法、第 78 回日本ハンセン病学会、青森、2005 年 5 月．

１０）甲斐雅規、Nguyen Phuc Nhu Ha、松岡正典、牧野正彦：リアルタイム PCR 法を利用した薬剤耐性変異検出の試み：第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月．

１１）福富康夫、前田百美、牧野正彦：クロファジミンによる細胞死誘導：第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月．

１２）鈴木幸一、中田　登、Pham Dag Bang、牧野正彦：らい菌偽遺伝子の一部は高レベルで発現しており感染後に発現量が変化する．第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月．

１３）前田百美、向井　徹、山下康子、牧野正彦：らい菌膜免疫調整性蛋白の同定. 第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月．

１４）向井　徹、宮本友司、松岡正典、牧野正彦：LAMP 法によるらい菌遺伝子診断法の確立. 第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月．

１５）鈴木幸一：甲状腺濾胞機能ネガティブフィードバック自己調節機構の発見と臨床への展望. 第 78 回日本内分泌学会クリニカルアワー９　甲状腺の基礎と臨床：Update、東京、2005 年 6 月．

１６）牧野正彦、前田百美、向井　徹：Analysis of mechanisms of multibacillary leprosy development: the role of IL-1β. 第 35 回日本免疫学会総会、横浜、2005 年 12 月．

１７）福富康夫、前田百美、牧野正彦：マクロファージの in vitro における抗らい菌活性発現．第 35 回日本免疫学会総会、横浜、2005 年 12 月．

１８）福富康夫、前田百美、牧野正彦：クロファジミンによるマクロファージの形態変化と細胞死. 第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月．

１９）宮本友司、向井　徹、前田百美、甲斐雅規、中田登、中　崇、矢野郁也、牧野正彦：*Mycobacterium avium* 由来２型 Glycopeptidolipid の生合成解析．第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月．

２０）前田百美、稲垣勝也、牧野正彦：らい菌由来 MMP-II 抗原を分泌する rBCG の作製とその T 細胞活性化能の解析．第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月．

２１）牧野正彦、前田百美、福富康夫、向井　徹：GM-CSF によるらい菌感染マクロファージの抗原提示能の増強．第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月．

２２）中田　登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦：*Mycobacterium smegmatis* を用いたらい菌遺伝子変異と薬剤感受性に関する解析. 第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月．

２３）甲斐雅規：らい菌２成分情報伝達系 SenX3-RegX3 の解析．　第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年　3 月．

２４）藤原 永年、前田 伸司、中田 登、中 崇、矢野 郁也、小林 和夫 1：非結核性抗酸菌 MAC 由来血清型 7 型

glycopeptidolipid (GPL) の構造と合成遺伝子の解析. 第
79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月.

22. 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。世界の年間の新規患者数はピークを超え、減少に向かっている。2005 年の世界の新規患者数は約 30 万人であった。患者数減少に関わらず、ハンセン病の病態解明は未だ研究途上である。

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、感染初期の病態解明を行い、肥満細胞の重要性が判明し、さらに、らい菌感染と免疫応答の解析を行っている。

ハンセン病の治療は化学療法が主流である。WHO の多剤併用療法(multidrug therapy: MDT)が全世界的に普及している。近年では耐性菌の出現に焦点があてられてきている。その対策のひとつとして、新規抗菌剤の検討を行った。ニューキノロンにおいて *in vitro* 及び *in vivo* で強力な抗らい菌活性をもつ薬剤が認められた。また小児においても安全に使用可能なニューキノロンも入手可能になってきた。耐性菌の早期・簡便な検査法も重要である。特に開発途上国で検査可能な方法は長らく待ち望まれていた。今回、薬剤耐性を惹起する遺伝子変異を検査する簡易検出法を開発し、実際に途上国で使用し、良好な結果を得、今後の有効な治療戦略が可能になった。

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。この炎症を生体側因子から検索を試み、プロテオーム解析を行い、候補蛋白質と神経障害の解明を行っている。

らい菌は、免疫担当細胞として重要であるマクロファージを宿主とする細胞内寄生菌である。従って、宿主のマクロファージ機能によって、らい菌の感染や排除が左右されると考えられるが、逆に、らい菌の感染そのものによって、宿主の免疫能も修飾を受けると考えられる。近年、宿主生体防御能において Toll 様受容体に代表される自然免疫系の重要性が認識されるようになっており、その全容の解明に向けた研究を行っている。また、らい菌は、機能を失ったと考えられる偽遺伝子の数が非常に多いという特異な細菌であるが、それらを含むらい菌遺伝子の発現動態の網羅的解析も進めている。

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減少し、2005 年には日本人の新患は 0 になった。但し、慢性感染症で、感染成立から発症までには長期間を必要とするので、今後も 5 年から 10 年の長期展望に立ってサーベイをしていく必要がある。また今後は患者・元患者の治療及び後遺症を一般医療で偏見無く実施できる体制を構築する努力が必要であり、医師の啓発のためハンセン病アトラスを作成した。

日本が国際的にハンセン病対策に協力することも重要なことで、今までは患者の早期発見と早期治療が主眼であったが、今後はそれらと共に、後遺症対策、後遺症予防、さらに偏見・差別の解消が重要で、これらの問題についてミャンマーをフィールドとして対策の研究を行っている。

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 も撲滅に意欲を燃やしている。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。薬剤感受性の検討とともに、病態解明のため、実験感染マウスにおける末梢神経と菌の病理学的検討を行い、密接な関連があることが判明しつつある。

一般検査室で同定不可能な抗酸菌について、同定の検査・研究も実施しており、本邦で非常に稀な菌も検出され、日本における病原性抗酸菌の分類が書き換えられることが予想される。

以上、生体防御部は主に生体側の立場からハンセン病制圧のための基礎的及び臨床的研究を日夜遂行している。

業　績

調査・研究

I. らい菌の動態に関する研究

1. らい菌感染部位の初期病理像と防御細胞(2 報)

らい菌は潜伏期間が他抗酸菌と比較して非常に長い。かつ、毒力が弱く発症までに数年かかる。SHR/NCrj-*rnu* と *-rnu/+*ラットを用いて感染初期の防御反応について検討したところ、感染後 1 時間で既にらい菌を貪食排除する進展像が観察された。本報では、感染 10 分から 30 分後の直ちにらい菌排除に働く防御細胞について検討したところ、らい菌感染局所からは、らい菌が脱顆粒を起こした肥満細胞に取り囲まれた中に無反応状態で横たわり、周辺血管からは、盛んに浸潤してくる好中球と、続いて紡錘型細胞のらい菌感染部位への浸潤像が観察された。この結果から、らい菌に対する極めて初期の防御エフェクターは肥満細胞の脱顆粒に始まり、好中球とスピンドルな貪食細胞による排除機構が働くことがわかった。

[與儀ヤス子、藤村響男（北里大学）]

II. 抗ハンセン病の薬剤に関する研究

1. Moxifloxacin と garenoxacin の抗らい菌活性

Moxifloxacin(MFLX)は、７位にピロロピリジン基を導入して抗菌活性を強め、８位にメトキシ基を導入して光毒性を軽減した新規ニューキノロンで、Buddemeyer(*in vitro*)法で SPFX を凌ぐ強い抗らい菌活性を認め、また既存ニューキノロンと異なる構造式を持ちニューキノロンの中で最も低毒性で小児にも適用可能な garenoxacin (GRNX)に LVFX と同等の抗らい菌活性を認めた。ヌードマウス足蹠法で MFLX は、10 mg/kg の経口投与（週 5 日毎日）でヌードマウス足蹠内のらい菌の増殖を完全抑制し、これまでニューキノロン中最も強い SPFX と同等の強い抗らい菌活性を認めた。GRNX は 60mg/kg で完全抑制した。

[儀同政一]

２．簡易薬剤耐性菌検出法の開発

ダプソン、リファンピン、キノロンについて薬剤耐性を惹起する遺伝子変異が明らにされ、その変異の検出により、これらの薬剤に対する耐性の有無の判定が従来行われてきたマウス足蹠法に変わって利用され始めている。その変異の検出は PCR 産物のシークエンスにより行われている。この方法はコスト、手技の複雑さから、高い新患発生率を示す開発途上国においては実施が困難である。Dot blot 法を基本とした変異の簡易検出法の開発を図った。開発された技術はフィリピン、ミャンマーへ技術移転され、両国において得られた結果を当センターにおいてシークエンシングにより確認した結果、いずれの移転先のデータも 95%以上の一致を示し、現地における感受性検査が可能となった。

[松岡正典]

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、神経障害に係わる生体側因子の探索を、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-PAGE で展開、PVDF 膜に転写した後、抗らい菌抗体と反応する spot について質量分析で解析した結果、heat shock 蛋白、神経栄養因子、peroxiredoxin 等が候補として挙がって来た。これらのタンパク質を MS/MS 解析等で詳細に同定し、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．らい菌遺伝子非翻訳領域発現に関する研究

らい菌ゲノム全域をカバーするマイクロアレイを作製し、らい菌に高レベルで発現する遺伝子領域の同定を試みたところ、mRNA として高発現する領域に偽遺伝子が高頻度に含まれることが明らかとなった。全生物種中でもらい菌の持つ偽遺伝子の数と割合は突出しており、らい菌が偽遺伝子や非翻訳領域由来 RNA に関する研究の格好のモデル生物となりうる可能性が示された。

[鈴木幸一、石井則久]

２．感染による自然免疫活性化に関する研究

Toll 様受容体は病原体構成成分を認識するが、この細胞内シグナル伝達を阻害する因子として TRAF4 を同定した。感染の初期に自然免疫系が活性化しインターフェロンや炎症性サイトカインを誘導するが、これがいつまでも持続することは生体にとってかえって不都合である。TRAF4 は活性化した自然免疫能を元に戻す働きがあると考えられた。

[鈴木幸一、武下文彦（横浜市大）]

３．Toll 様受容体非依存性自然免疫活性化に関する研究

病原体構成成分だけでなく、自己由来の二本鎖構造を持つ DNA (dsDNA)も強いアジュバント作用を有する。今

回dsDNAによってI型インターフェロンやサイトカインが誘導されることを明らかにし、その機序が、病原体由来の核酸成分を認識するToll様受容体やRIG-Iなどの受容体に依存しない､未知の認識機構による事を証明した。また、dsDNAのうち、右巻きのB-DNAに強い作用があり、左巻きZ-DNAは弱いことを示した。

[鈴木幸一､武下文彦(横浜市大)､石井 健(大阪大)]

V. ハンセン病の疫学に関する研究

１．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 17 年（2005 年）については、日本人 0 名、在日外国人 6 名（ブラジル人 4 名、フィリピン人 2 名）であった。平均年齢は 33.3 歳であった。

[石井則久]

２．医師へのハンセン病啓発のためのアトラス作成

ハンセン病の新規患者の減少に伴い、ハンセン病を正確に診療できる医師が極端に減少した。そのため、医師に対するハンセン病の診断、さらに鑑別診断、検査、治療などをビジュアルで解説する「ハンセン病アトラス」を出版し、啓発に努めた。

［石井則久、小野友道（熊本大学)、尾崎元昭（長島愛生園)］

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

ミャンマー連邦および他の途上国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いた。今後は偏見・差別について各国ごとの考察を加える必要があった。

[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に有効な化学療法は、いまだ確立されていない。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、現在電子顕微鏡やマイクロダイセクション法あるいはvon Frey法により形態学的および生理学的な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

培養や同定が困難な病原性抗酸菌について､1. 培養条件の検討、2. 菌の生化学的性状、3.各種遺伝子の配列解析、による分離・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* さらに日本で第一例目の *M. genavense* 並びに *M. mageritense,*の分離・同定に成功した。現在これら菌株を用いて、薬剤感受性試験や、動物接種実験を行い、治療法の改善を検討中である。

［中永和枝､ 石井則久､ 岩本朋忠(神戸市環境保健研究所)､齋藤 肇(広島県環境保健協会)］

レファレンス業務

１．らい菌・ハンセン病のレファレンス

生体防御部は、ハンセン病研究センターとして実施している行政検査（病理検査、血清検査、PCR 検査、薬剤耐性検査）を担当している。内容については「ハンセン病研究センター」の項に記載されている。

２．非結核性抗酸菌のレファレンス

一般検査機関で同定不能な抗酸菌についての分離・同定を依頼に基づき実施している。内容は培養、生化学的性状、遺伝子配列解析などの検討に基づくものである。

サーベイランス業務

１．ハンセン病患者のサーベイ

日本国内におけるハンセン病の新規患者について報告を行っている。また、毎年の WHO への患者数報告も行っている。

国際協力関係業務

１．ミャンマーの研究者との国際協力

ハンセン病の早期発見・早期治療の効率的な運用、薬剤感受性の早期検査法の開発、障害予防の研究、偏見・差別の解消の研究などを幅広く行っている。

研修業務

１．JICA 研修

JICA 研修生を４月から 12 月まで研修行っている。詳細は「ハンセン病研究センター」の項に記載されている。

２.横浜市立大学医学部学生研修

横浜市立大学医学部１年生福祉見学研修（横浜市立大学医学教育学講座よりの依頼）の６名の学生を受入れた。５日間に亘ってハンセン病の基礎･臨床､実習を行った。

その他

１．らい菌供給

らい菌は現在まで培養が不可能なため、研究が滞っている。この解消のためヌードマウスの足蹠にらい菌を接種し、増殖させ、大量のらい菌を海外・国内の研究者に供給している。詳細は「ハンセン病研究センター」の項に記載されている。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Matsuoka M, Zhang L, Fafutis M, Legua P, Wiens C: Polymorphism in the *rpoT* gene in *Mycobacterium leprae* isolates obtained from Latin American countries and its possible correlation with the spread of leprosy. FEMS microbiol. Lett. 243: 311-315, 2005.

2) Zhang L, Budiawan T, Matsuoka M: Diversity of potential short tandem repeats in *Mycobacterium leprae* and application for molecular typing. J. Clin. Microbiol. 43: 5221-5229, 2005.

3) Kimura H, Kimura M, Tzou S-C, Chen Y-C, Suzuki K, Rose NR, Caturegli P: Expression of class II major histocompatibility complex molecules on thyrocytes does not cause spontaneous thyroiditis but mildly increases its severity after immunization. Endocrinology 146:1154-1162, 2005.

4) Kimura H, Tzou SC, Rocchi R, Kimura M, Suzuki K, Parlow AF, Rose NR, Caturegli P: Interleukin-12 driven primary hypothyroidism: the contrasting roles of two Th1 cytokines (IL-12 and IFNγ). Endocrinology 146:3642-3651, 2005.

5) Takeshita F, Ishii KJ, Kobiyama K, Kojima Y, Coban C, Sasaki S, Ishii N, Klinman DM, Okuda K, Akira S, Suzuki K: TRAF4 acts as a silencer in TLR-mediated signaling through the association with TRAF6 and TRIF. Eur. J. Immunol. 35:2477-2485, 2005.

6) Makino M, Maeda Y, Ishii N: Immunostimulatory activity of major membrane protein-II from *Mycobacterium leprae*. Cell. Immunol. 233:53-60, 2005.

2. 和文発表

1) 石井則久：抗酸菌感染症. 日本皮膚科学会雑誌 115: 995-999, 2005.

2) 石井則久：らい菌. 日本臨床 (増刊 7) 63: 156-158, 2005.

3) 石井則久：知っておきたいハンセン病の知識. 皮膚と美容 37: 129-134, 2005.

4) 石井則久、森 修一：ミャンマーにおけるハンセン病対策-多剤併用療法以前と以後-.日本ハンセン病学会雑誌 74: 177-180, 2005.

5) 石井則久：Hansen 病. 日本医師会雑誌 134(suppl 2): 319-320, 2005.

6) 石井則久:在日外国人ハンセン病患者について. Visual Dermatol 4: 1208-1210, 2005.

7) 石井則久:イベルメクチンが疥癬に対して特定療養費の適用に. Visual Dermatol 4: 1216-1217, 2005.

8) 石井則久：疥癬治療とイベルメクチン. 日経メディカル 454:123-125, 2005.

9) 石井則久:ヒゼンダニの生態. 日本医事新報 4246: 97-98, 2005.

10) 石井則久:イベルメクチンによる疥癬治療. 日本医事新報 4253: 94-95, 2005.

11) 石井則久:疥癬の標準的治療. 日本医事新報 4259: 97-98, 2005.

12) 石井則久、朝比奈昭彦、飯島正文、石川 治、大滝倫子、加藤安彦、上出良一、神崎 保、木花 光、小茂田昌代、竹崎伸一郎、田村暢子、南光弘子、牧上久仁子、松田知子、林 正幸、和田康夫：疥癬診療ガイドライン. 日本皮膚科学会雑誌 115: 1125-1129, 2005.

13) 中居賢司、大西誉光、渡辺晋一、石井則久：在日外国人にみられたハンセン病の 1 例.皮膚科の臨床 47: 123-127, 2005.

14) 和田秀文、石井則久：ハンセン病. Visual Dermatology 4: 158-159, 2005.

15) 小串葉月、田上俊英、木下美佳、大石 空、野上玲子、石井則久、小野友道：境界反応を呈したハンセン病の 1 例. 西日本皮膚科 67: 367-372, 2005.

16) 藤沢智美、山中新也、清島真理子、石井則久、森 修一、大橋一孝、錫谷達夫：50 年以上を経て発症したと考えられる BCG による皮膚結核.日本皮膚科学会雑誌 115: 2326-2329, 2005.

17) 田村暢子、石井則久：高齢者の疥癬に対するイベルメクチンの治療効果について. 日本皮膚科学会雑誌 115: 2405-2407, 2005.

18) 石井則久：非結核性抗酸菌症. 皮膚疾患最新の治療 2005-2006（瀧川雅浩、渡辺晋一編集）, p151, 南江堂（東京）, 2005.

19) 石井則久：ハンセン病. p1-20,日本皮膚科学会研修委員会（東京）, 2005.

20) 石井則久：皮膚結核,非結核性抗酸菌症. 今日の治療指針 2005（山口 徹、北原光夫総編集）,p843-844,医学書院（東京）,2005.

21) 石井則久：ハンセン病. 日本皮膚科白書 改訂版（日本皮膚科学会編集）, 296-299, 金原出版（東京）, 2005.

22) 石井則久：疥癬治療とイベルメクチン. 診療アップデート（日経メデイカル編集）,p93-95,日経 BP(東京), 2005.

23) 石井則久、田村暢子、小茂田昌代：疥癬とその対策. 薬剤師のための感染制御マニュアル（社団法人日本病院薬剤師会編集）, p91-96, 薬事日報社（東京）, 2005.

24) 上出良一、石井則久：疥癬. 日本皮膚科白書 改訂版（日本皮膚科学会編集）, 290-295, 金原出版(東京), 2005.

25) 牧野正彦、鈴木幸一、福富康夫、山下康子、前田百美、宮元友司、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. 日本ハンセン病学会雑誌 74: 3－21, 2005

26) 儀同政一：新規フルオロキノロン WQ-3345 及び WQ-3402 の抗らい菌活性. 日本ハンセン病学会雑誌 74:43-48,2005.

27) 吉田明雄、谷口晋一、福井裕子、岡村僚久、清水秀樹、大倉毅、重政千秋、久留一郎、鈴木幸一、谷山松雄：ペンドレット症候群の病態の解明とペンドリンの生理学的役割. ホルモンと臨床 53: 67-74, 2005.

28) 木村博昭、木村美穂、Patrizio Caturegli、鈴木幸一：自己免疫動物モデルによる甲状腺免疫学の進歩. ホルモンと臨床 53: 37-41, 2005.

29) 鈴木幸一、吉田明雄：Na/I シンポーター遺伝子と PDS 遺伝子. 日本臨床 63(増刊 10)、臨床分子内分泌学３―甲状腺・副甲状腺・骨内分泌代謝系―、20-23, 2005.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Goto M, Nakanaga K, Aung T, Ishii N, Yonezawa S, Saito H: Nerve damage in mice inoculated with *Mycobacterium ulcerans.* Annual Meeting of the WHO Global Buruli Ulcer Initiative, Geneva, Switzerland, March, 2005.

2) Matsuoka M, Zhang L, Suzuki Y: Mutations conferring drug resistance in *Mycobacterium leprae* and developing simple method for detection. 5th International Symposium on Antimicrobial Agents and Resistance. Seoul, Korea, April, 2005.

3) Saito H, Iwamoto T, Nakanaga K, Takahashi H: Phenotypic and genotypic identification of unusual mycobacteria recovered from 11 patients with pulmonary disease in Japan. 105th General Meeting of American Society for Microbiology, Atlanta, GA, June, 2005.

4) Saito H, Nakanaga K, Iwamoto T, Ishii N, Goto M, Takahashi H: Virulence for mice of unusual nontuberculous mycobacteria isolated from patients with pulmonary disease in Japan. 26th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, Istanbul, Turkey, June, 2005.

5) Matsuoka M, Zhang L, Budiawan T: Genotyping of *Mycobacterium leprae* by variable number tandem repeats and its application for molecular epidemiology. 41st Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Seattle, WA, July, 2005.

6) Muaki T, Miayamoto Y, Matsuoka M, Makino M: Rapid detection of *Mycobacerium leprae* by a loop-mediated isothermal amplification method. 41st Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Seattle, WA, July, 2005.

7) Phetsuksiri B, Wattanapokayakit S, Ruedeeaeksin J, Sriungunam S, Reinthong D, Cho S-N, Matsuoka M, Brerran P: Genotypic detection of rifampin resistance by mini PCR-Single strand conformational polymorphism. 41st Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Seattle, WA, July, 2005.

8) Goto M, Nakanaga K, En J, Aung T, Hamada T, Kitajima S, Ishii N, Yonezawa S, Saito H: Nerve damage in a mouse model of *Mycobacterium ulcerans* infection - Detection of *M. ulcerans*-specific DNA from micro-dissected nerve tissue. 41st Anniversary Meeting of US-Japan Cooperative Medical Science Program. Seattle, WA, July, 2005.

9) Yogi Y, Muchtar SV, Bang PD, Fujimura T, Sato N,

Yanagida Y, Ilyas FS, Djunaedi AS, Arif M, Abdullah R, Aniruddin MD: The backgrounds for occurrence of leprosy in South Sulawesi, Indonesia: Physiological, biochemical and serological analysis of the families with leprosy patients of child. The 11th National Congress of Indonesian Society of Dermatology. Jakarta, Indonesia, July, 2005.

10) Endoh M.: Studies of the peripheral nerve regeneration in leprosy patients. 7th International Congress of Neuroimmunology, Nagoya, October, 2005.

11) Suzuki K, Takeshita F, Nakata N, Ishii N, Makino M: Toll-like receptor 2 and CORO1A counteract for the survival of intracellular mycobacteria. The 18th Naito Conference. Hayama, Kanagawa, October, 2005.

12) Takeshita F, Sasaki S, Okuda K, Suzuki K: NADPH oxidase negatively regulates TLR signaling through the association with TRAF4. The 18th Naito Conference. Hayama, Kanagawa, October, 2005.

2. 国内学会

1) 伊藤香子、石垣 光、赤坂季代美、岸本恵美、堀田健人、利根川 守、守屋修二、江藤隆史、田嶋 徹、石井則久：多菌型ハンセン病の１例. 第 68 回日本皮膚科学会東京支部学術大会総会、東京、2005 年 2 月.

2) 川崎晶子、倉持 朗、土田哲也、石井則久：顕著な肉芽腫性変化を伴った $CD8^+$ T cell lymphoma. 第 68 回日本皮膚科学会東京支部学術大会総会、東京、2005 年 2 月.

3) 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝：未だ記載をみない、あるいは珍しい肺感染症原因抗酸菌. 第 55 回日本結核病学会中国四国支部学会、米子、2005 年 2 月.

4) 斎藤 肇、中永和枝、岩本朋忠：未だ記載をみない、あるいは珍しい肺感染症原因抗酸菌のマウスに対する病原性. 第 55 回日本結核病学会中国四国支部学会､米子、2005 年 2 月.

5) 與儀ヤス子: らい菌感染部の初期病理像と防御細胞. 第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月.

6) 齋藤 肇、中永和枝、岩本朋忠、石井則久：我が国で肺疾患の原因菌として分離された珍しい非結核性抗酸菌のマウスに対する病原性. 第 79 回日本感染症学会総会、名古屋、2005 年 4 月.

7) 森 修一、清島真理子、石井則久、大橋一孝、錫谷達夫：BCG による皮膚結核症例の報告. 第 79 回日本感染症学会総会、名古屋、2005 年 4 月.

8) 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝、小川賢二、座安 清、重藤えり子、安斉栄子：未だ記載をみない、あるいは珍しい肺非結核性抗酸菌感染症の原因菌. 第 79 回日本感染症学会総会、名古屋、2005 年 4 月.

9) 石井則久：ハンセン病. 第 104 回日本皮膚科学会総会研修講習会、横浜、2005 年 4 月.

10) 藤沢智美、山中新也、清島真理子、石井則久、森 修一、大橋一孝、錫谷達夫：50 年以上を経て発症したと考えられる BCG による皮膚結核. 第 104 回日本皮膚科学会総会、横浜、2005 年 4 月.

11) 宮田奈穂、田中京子、樹神元博、杉浦 丹、堀口大輔、石井則久：多菌型（ＭＢ）ハンセン病の 1 例. 第 104 回日本皮膚科学会総会、横浜、2005 年 4 月.

12) 並里まさ子、柏原嘉子、松岡正典、小川秀興、チョウチョウ、キンニュエウ：流行地における新たなハンセン病対策とＮＧＯの支援. 第 104 回日本皮膚病学会総会、横浜、2005 年４月.

13) 石井則久、熊野公子、杉田泰之、並里まさ子、野上玲子、細川 篤、牧野正直：2004 年のハンセン病新規患者発生状況. 第 78 回日本ハンセン病学会総会、青森、2005 年 5 月.

14) 中永和枝、佐々木 津、石井則久：ハンセン病を疑われた *Mycobacterium haemophilum* 感染症例：PCR 法の検証. 第７８回日本ハンセン病学会総会、青森、2005 年 5 月.

15) 佐藤則子、佐藤かすみ、青崎 登、石井則久、尾崎元昭、畑野研太郎、長尾榮治：ハンセン病の臨床とその鑑別診断. 第７８回日本ハンセン病学会総会、青森、2005 年 5 月.

16) 松岡正典、張 良芬、鈴木定彦：薬剤耐性らい菌の遺伝子変異およびその簡易検出法の開発. 第 78 回日本ハンセン病学会総会、青森、2005 年 5 月.

17) Zhang L, Budiawan T, Matsuoka M： Short tandem repeats: variation and application for molecular typing of *Mycobacterium leprae*. 第 78 回日本ハンセン病学会総会、青森、2005 年 5 月.

18) 儀同政一、松岡正典：OFLX 耐性らい菌に対する各種フルオロキノロン抗らい菌活性. 第 78 回日本ハンセン病学会総会、青森、2005 年 5 月.

19) 山崎利雄、松岡正典、儀同政一：生物発光法によるらい菌の薬剤感受性試験法. 第 78 回日本ハンセン病学会総会、青森、2005 年 5 月.

20) 甲斐雅規、Ha NPN、松岡正典、牧野正彦： リアルタイム PCR を利用した薬剤耐性変異検出の試み. 第 78 回日本ハンセン病学会総会、青森、2005 年 5 月.

21) 中永和枝、石井則久、斎藤 肇、後藤正道： わが国で肺疾患の原因菌として分離された珍しい非結核性抗酸菌のマウスにおける病原性. 第 80 回日本結核病学会総

会、さいたま、2005 年 5 月.

22) 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝、小川賢二、座安 清、重藤えり子、前倉亮治、安斉栄子：肺疾患患者より分離された珍しい抗酸菌種. 第 80 回日本結核病学会総会、さいたま、2005 年 5 月.

23) 石井則久：ハンセン病の現況-在日外国人患者について-. 第２１回日本臨床皮膚科医会総会、高崎、2005 年 6 月.

24) 岩本朋忠、中永和枝、石井則久、斎藤 肇：*M.shinshuense* ("*M.ulcerans* subsp. *shinshuense*")に関する研究（1）. 第 33 回結核･非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2005 年 6 月.

25) 田村暢子、石井則久：疥癬に対するイベルメクチンの治療効果について. 日本皮膚科学会第 800 回東京地方会、東京、2005 年 7 月.

26) 牧上久仁子、石井則久、大滝倫子、安村誠司：療養病床・精神科病院での疥癬発生に関する全国調査. 第 64 回日本公衆衛生学会総会、札幌、2005 年 9 月.

27) 齋藤 肇、岩本朋忠、中永和枝、石井則久：*Mycobacterium shinshuense* の分類学的研究. 第 75 回日本感染症学会西日本地方総会、長崎、2005 年 11 月.

28) 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝：*Mycobacterium mageritense* 感染症の一例. 第 75 回日本感染症学会西日本地方会総会、長崎市、2005 年 11 月.

29) 高瀬敬子、武下文彦、戸塚 幸、奥田研爾、佐々木 津、鈴木幸一：改変型 muscle creatinine kinase 遺伝子プロモーターによる筋肉特異的標的遺伝子発現制御. 第 28 回日本分子生物学会年会、福岡、2005 年 12 月.

30) 戸塚 幸、武下文彦、田中敏之、高瀬敬子、奥田研爾、佐々木津、鈴木幸一：Toll-like receptor アダプター分子を利用した遺伝子アジュバントの開発. 第 28 回日本分子生物学会年会、福岡、2005 年 12 月.

31) Takeshita F, Sasaki S, Okuda K, Suzuki K: NADPH oxidase negatively regulates TLR signaling through the association with TRAF4. 第 28 回日本分子生物学会年会、福岡、2005 年 12 月.

32) 山本美希、藤村響男、狩野真帆、與儀ヤス子、増澤幹男、勝岡憲生: AIDA 法を用いたらい菌 mce1A 領域の組み換え発現と上皮系細胞への侵入能の検討. 第 35 回日本免疫学会総会、横浜、2005 年 12 月.

33) Ishii KJ, Coban C, Kato K, Takeshita F, Suzuki K, Hemmi H, Sto S, Yamamoto M, Uematsu S, Kawai T, Takeuchi O, Akira S: TLR-independent innate immune activation by DNA: Implications for its role in immune system. 第 35 回日本免疫学会総会、横浜、2005 年 12 月.

34) Takeshita F, Sasaki S, Okuda K, Suzuki K：TRAF4 acts as a silencer in TLR-mediated signaling through the association with TRAF6 and TRIF. 第 35 回日本免疫学会総会、横浜、2005 年 12 月.

35) 斎藤 肇、岩本朋忠、能登谷京、秋山也寸史、松本英伸、服部淳夫、岸不盡彌、中永和枝、石井則久：わが国における *Mycobacterium genavense* 並びに *Mycobacterium mageritense* 感染症の第一例. 第 34 回結核･非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2005 年 12 月.