1．ウ イ ル ス 第 一 部

部 長　倉 根 一 郎

概　要

当部において、本年度の人事異動は、平成 18 年 4 月 1 日付で福士秀悦第一室研究員が主任研究官に昇任した。平成 19 年 3 月 31 日付で根路銘令子主任研究官が退官した。

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

第一室においては、SARS の実験室診断法の開発と改良、SARS コロナウイルスの感染機序に関する研究を行った。痘そうワクチンの有効性を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。また、リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルスに関する研究を進めるとともに、新興・再興ウイルスに対する網羅的検出方法を開発し、本法が有力な検査法である確認を行った。

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、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、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。また、チクングニヤに対する検査法の確立を行い本邦初の感染例を確定した。

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、狂犬病ウイルスの弱毒化に関する因子、狂犬病ウイルス感染時の脳内免疫応答、特にサイトカイン、ミクログリアに関する解析を行った。さらに、進行性多巣性白質脳症診断のための JC ウイルス検査系を確立した。

第四室においては､水痘ワクチンの品質管理法の検討、新規抗水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）薬の検索と評価法の確立を行った。また、サイトメガロウイルス（CMV）による先天性感染の迅速スクリーニング法の確立・パイロット調査などを行った。さらに、モルモット CMV を用いて母児感染様式を解析した。EBV に関しては潜伏感染の機序に関する研究を進展させた。

第五室においては、リケッチア感染症検査法の検証と国内における実態調査を行った。また、ダニからのリケッチア検出を行った。Q 熱スクリーニングのための血清診断法を検討した。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。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。また、肺炎クラミジア感染症に対する血清診断法も検討した。

以上の研究活動に対して、厚生労働省、ＨＳ財団、文部科学省、環境省等から研究費の援助を受けた。痘そうワクチン、日本脳炎ワクチン、黄熱ワクチン、狂犬病ワクチン、水痘ワクチン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。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 コロナウイルス(SARS-CoV)に関する研究

（1）SARS-CoV と *Mycoplasma fermentans* の共感染が細胞に及ぼす影響

SARS-CoV と他の病原微生物の共感染による病態の変化については報告がないので、*Mycoplasma fermentans* が感染している細胞に SARS-CoV が感染したときの変化を検討した。Vero E6 細胞に SARS-CoV を感染させると 48 時間後にはほとんどの細胞はアポトーシスを起こして死滅するが、一部の細胞が生き残ってウイルスを産生しながら増殖する。しかし、*M. fermentans* の感染後に SARS-CoV を感染させると､全ての細胞が死滅した。我々は SARS-CoV 感染における JNK や Akt のシグナル伝達系の活性化が持続感染の成立には重要であることを報告してきた。SARS-CoV の Nucleocapsid 蛋白質を発現した

細胞ではJNKとAktがリン酸化されることが明らかとなった。*M. fermentans* による Toll like receptor の活性化はこの現象には関係していないことが示唆された。また、*M. fermentans* 感染細胞と非感染細胞で発現している細胞性mRNA に大きな変化はなかった。*M. fermentans* は細胞の増殖を抑制し、かつ、細胞のアポトーシスに対する感受性を高めていた。一方、SARS-CoV 感染後に生き残った細胞では、抗アポトーシスシグナルの Akt と細胞死を促進すると考えられる p38 MAPK のリン酸化が同時に起こっており、微妙なバランスを保ちながら細胞が生存していることが明らかとなった。以上の結果から、SARS-CoV 持続感染細胞ではアポトーシスに対して感受性が高くなっているので、*M. fermentans* の共感染によって容易に細胞死が誘導されることが示唆された。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、酒井宏治、倉根一郎、森川 茂、佐々木裕子・見理剛（細菌第２部）、石井孝司（ウイルス第２部）、座本 綾（動物管理室）、遠藤大二（酪農学園大学獣医学部）]

（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改良

安全、且つ迅速な SARS-CoV 感染の血清診断法の開発を目的として、SARS-CoV の外被蛋白質(S)を被った組換え水泡性口内炎ウイルス(VSV)シュードタイプを作製した。従来の VSV シュードタイプは、GFP 遺伝子が組み込まれていた。このシュードタイプによる中和抗体測定方法は検体数が少なく迅速に判定する場合に優れた手法であった。しかし、感染を定量的に判定するためには、１ウェルごとの細胞の写真撮影と解析ソフトによる GFP 陽性細胞数のカウントが必要であることから、多くの検体を同時に処理するという点においては、必ずしも優れた手法とは言えないのが現状であった。本研究では、これを多検体同時処理可能なものにするため、GFP を SEAP に置き換えた VSV/SEAP-SARS-St19 を作製した。このシュードタイプの感染性はマイクロプレートルミノメーターで 96 ウェルプレートを同時に解析可能であった。VSV/SEAP-SARS-St19 の感染は SARS-CoV-S タンパク質特異的であり、健常人血清による非特異的中和活性も低かったことから、VSV/SEAP-SARS-St19 は SARS-CoV 感染の中和試験のハイスループット化に有用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]

（3）ラット ACE2 発現細胞で継代した SARS-CoV の変異の解析

ラットに馴化した SARS-CoV を分離し，馴化に関与する遺伝子変異について解析するため、ラット型レセプター（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った。ラット ACE2 を発現する CHO 細胞で１５代継代培養したウイルス(RatP15)は、ラット ACE2 発現 CHO 細胞では、親株である Frankfurt-1 に比べ 100 倍以上高い増殖効率を示した。一方，mutant ラット ACE2 発現細胞では、RatP15 と Frankfurt-1 は同程度に増殖した。このことから，RatP15 はラット ACE2 発現細胞に馴化したと考えられた。RatP15 には、S1 ドメインの RBD には変異がなく、S2 ドメインに 2 カ所アミノ変異が認められた。そのうち１カ所は Heptad repeat ドメインに位置していた。また、SARS-CoV S 蛋白質を被った VSV シュードタイプを用いた解析では、これらの変異 S 蛋白質を被ったシュードタイプは ratACE2 発現細胞に高い感染性を示した。このウイルスは S2 ドメインにアミノ酸変異を持つことから、SARS-CoV の他動物種への馴化には、RBD の変異のみならず、S2 ドメインの変異による S 蛋白全体の構造変化なども関与すると考えられた。[福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川　茂]

Ⅱ．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）サル痘ウイルスの迅速診断のための定量的 real time PCR 法の開発と評価

ヒトにおけるサル痘ウイルス感染症はヒトサル痘と呼ばれ、アフリカ中央部から西部にかけて流行し、重要な再興ウイルス感染症のひとつである。中央アフリカに分布するサル痘ウイルスコンゴ盆地型は、西アフリカに分布するサル痘ウイルス西アフリカ型よりも病原性が高い。サル痘ウイルス遺伝子の中の ATI 遺伝子には、コンゴ盆地型と西アフリカ型にそれぞれ特異的な塩基配列が認められる。また、痘瘡ウイルスを含む他のオルソポックスウイルスに認められない塩基配列も認められる。これらの特徴に基づいて、サル痘ウイルス遺伝子を、特異的に、かつ、コンゴ盆地型サル痘ウイルスと西アフリカ型サル痘ウイルスを区別して増幅させ、高感度に検出する定量的 real-time LightCycler PCR 法（qLC-PCR）を開発した。カニクイザルに 2 種類のサル痘ウイルスをそれぞれ感染させ、経時的に採取された末梢血液や咽頭スワブからのウイルス分離検査と比較して、本 qLC-PCR は感度および精度ともに 90%を超え、サル痘ウイルス感染症の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、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根

一郎、網康至・須崎百合子（動物管理室)、長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子（感染病理病理部)］

2. 痘そうワクチンに関する研究

（1）高度弱毒痘そうワクチン LC16m8 が治療的ワクチンとして使用される場合の霊長類におけるサル痘発症予防効果

近年、痘そうウイルスがバイオテロ病原体として用いられる危険性が指摘され、我が国では高度弱毒痘そうワクチン LC16m8 の再生産と備蓄対策がなされている。このワクチンを治療的に用いる場合、つまり、感染後早期にワクチン投与する場合の効果を、霊長類におけるサル痘発症モデルを用いて解析した。その結果、ワクチン非接種カニクイザル（非接種群，3 頭）にサル痘ウイルスを感染させた場合に全て死亡したのに対し、サル痘ウイルスを同様に 3 頭のカニクイザル（m8 治療群）に感染させ、続いて LC16m8 接種を施行した場合には、1 頭は死亡し 2 頭が生存した。最大ウイルス血症レベルも、非接種群では平均 10^8 コピー/ml に達したのに対し、m8 治療群の生存例では 10^7 コピー/ml 未満であった。サル痘ウイルス接種部位に出現した潰瘍性病変も、m8 治療群では非接種群に比べて有意に小さく、また、治癒傾向が早期に認められた。このように、カニクイザルがサル痘ウイルスに感染した場合に、暴露後早期に LC16m8 を接種することによりサル痘の症状を軽減することが可能であることが明らかにされた。万が一バイオテロリズムにより天然痘が流行し、かつ、痘瘡ウイルスに暴露されたと考えられる場合には、痘瘡ウイルス暴露後早期に LC16m8 を接種することにより天然痘の発症の予防または症状の軽減を期待することができると考えられる。［西條政幸、森川　茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、網康至・須崎百合子（動物管理室)、長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子（感染病理病理部)］

（2）痘瘡ウイルスと他のオルソポックスウイルス鑑別と大痘瘡･小痘瘡ウイルスを鑑別する Light Cycler PCR 法の開発と評価

近年、天然痘（痘瘡）ウイルスによるバイオテロリズムの危険性が指摘されている。また、アフリカ大陸に限局していたサル痘が､2003 年に米国で流行したことから、天然痘やサル痘の迅速診断の必要性が高まっている。天然痘やサル痘ウイルスは、他のオルソポックスウイルスと抗原的には識別できず、既種痘者の場合、抗ワクチニア抗体があるため血清診断は難しい。このため、診断はウイルス種の同定が必要になる。これまでに、サル痘ウイルス特異的 Light Cycler (LC)-PCR を開発し、サル痘ウイルス感染サル検体を用いて評価したが、今年度は、天然痘の原因ウイルス（痘瘡ウイルス）と他のオルソポックスウイルスとの鑑別 LC-PCR 及び､強毒な大痘瘡ウイルスとやや弱毒な小痘瘡ウイルスの鑑別 LC-PCR を開発した。これらの痘瘡ウイルス以外のポックスウイルスとの反応性に関しては予め評価した上で、米国 CDC において痘瘡ウイルス DNA の検出感度を検討した。その結果、１）オルソポックスウイルス共通 LC-PCR は，痘瘡ウイルスを含めて高感度に検出できた。２）痘瘡ウイルス特異的 LC-PCR は､他のポックスウイルスと交差せず特異的かつ高感度に痘瘡ウイルスを検出できた｡３）大痘瘡・小痘瘡鑑別 LC-PCR は，高感度かつ特異的に両者を鑑別できた。［森川　茂、福士秀悦、緒方もも子、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎］

Ⅲ. ウイルス性出血熱に関する研究

1. リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルスに関する研究

（1）日本人のリンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルスに対する抗体保有率

リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルス（Lymphocytic choriomeningitis virus，LCM ウイルス）は、旧世界アレナウイルスに分類されるウイルスであり、マウスやハムスターに感染しているウイルスである。ヒトが LCM ウイルスに感染すると、髄膜炎や網膜炎を引き起すことが知られている。さらに、妊婦が感染すると胎児感染を引き起し、先天性 LCM ウイルス感染症を発症させる例が報告されている。本研究では、LCM ウイルスの組換え核蛋白を抗原とした IgG-ELISA を用いて､日本人 960 人の血清中の抗 LCM ウイルス抗体保有率を検討した。IgG-ELISA 陽性（400 倍稀釈検体の OD 値が 0.200 以上）を呈した検体は 12 検体（1.3%）であった。さらに、これらの検体について LCM ウイルス感染細胞を抗原とした間接蛍光抗体法や中和抗体法で抗 LCM ウイルス抗体の有無を検討したところ、全て陰性を呈した。本研究から、日本人の多くは LCM ウイルスに感染していないと予想される。［西條政幸、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、森川　茂］

（2）リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルス（LCMV）に汚染したマウス系統の調査

理研がパスツール研から導入した、野生由来近交系マウス *Mus musculus musculus*, MAI/Pas（MAI）系統が LCMV 感染している可能性が示唆され、本系統マウスの抗体、ウイルス検出を行なった結果、ウイルス垂直感染

マウスでは抗体陰性が多く、陽性例でも抗体価が低かった。LCMV 検出 RT-PCR は文献的に報告されている多くの primer sets では検出できないか検出感度か低かった。ウイルス分離は 15 匹の腎臓から 2 例分離できた。分離ウイルス M1, M2 株の S-RNA 遺伝子配列を決定し、本ウイルス株特異的 RT-PCR を用いて再検討した結果、本系統のマウスは 100%持続感染していることが明らかになった。また、本 LCMV 株は、これまで遺伝子配列の解析されている他の LCMV 株とは最も分子系統学的に離れていた。[森川　茂、酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、滝本一広・山田靖子（動物管理室)、池郁男（理研 BRC)]

（3）リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルス（LCMV）の組換え N 蛋白を用いた抗体検出系の開発

LCMV や近縁な Lassa ウイルス等のアレナウイルスの N 蛋白に対する抗体は感染すると最も早期に、また高力価に上昇するため、抗体検出抗原として適している。組換えバキュロウイルスによりこれらの N 蛋白は多量に発現できるが、可溶化には 8M 以上の濃度の urea が必要である。これらの抗原は、2,000 倍程度に希釈して低濃度にすることにより可溶化でき ELISA 用抗原として用いられる。しかし、より高感度にするため、あるいは蛋白アレイのようなより迅速，高感度な系を構築するためには、高濃度な可溶化蛋白が必要である。そこで、LCMV の組換え N 蛋白の可溶化と抗原性に関して検討した。至適 buffer 条件下で不溶性 N 蛋白を 2,000 気圧の超高圧処理を 18 時間行なった結果、超高圧処理による蛋白質のリフォールディングにより 80%の N 蛋白が可溶化できた。この可溶化蛋白と 8M urea で可溶化した N 蛋白の抗原性を ELISA で比較した結果、抗原性に相違は認められなかったが、前者では、高濃度でも可溶化しているため ELISA による抗体検出感度が高かった。また、迅速・高感度な蛋白アレイに応用できることも明らかとなった。本技術を用いることにより、ラッサウイルスや南米出血熱ウイルスの抗体検出系の改良、高感度化が可能であると思われる。[森川　茂、酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、滝本一広・山田靖子（動物管理室)、池　郁男（理研 BRC)]

Ⅳ．ウイルス新規検査法に関する研究

1.　新興・再興ウイルスの網羅的検出方法（Rapid Determination of Viral RNA Sequence; RDV 法）の開発と応用に関する研究

（1）新興・再興ウイルスの網羅的検出方法（RDV 法）の開発

RNA ウイルス感染細胞からウイルス核酸を検出する新しい方法として、「リボゾーマル RNA に結合しにくいプライマーセット」を用いた逆転写反応後にサブトラクションを行なう方法を発表した。この方法は、細胞の RNA が含まれていても RNA ウイルスの核酸を特異的に増幅できるという点で優れているが、遺伝子産物をクローニングしなければならない点と、1 週間の日数を要するという欠点があった。そこで、既存の全ゲノム均等増幅の技術と独自に開発したダイレクトシーケンスの方法を組み合わせることにより、迅速な RNA ウイルス検出方法を開発した。この技術（Rapid Determination of Viral RNA Sequence; RDV 法）は,

１．動物や人の血清・培養上清から DNA を排除したウイルスのゲノム RNA を抽出し、

２．逆転写酵素と RNase H を用いて効率よく 2 本鎖の cDNA を作成する。

３．全ゲノム均等増幅法によりウイルスゲノムの 1 次ライブラリーを作成する。

４．更に, Hae III 切断とリンカーライゲーション後に,

２次ライブラリーを作成し、

５．特殊な技術を用いたダイレクトシーケンス法によりウイルスゲノムの塩基配列を決定、

できる。RDV 法は網羅的に RNA ウイルスのゲノムの cDNA を増幅するので、あらゆる RNA ウイルスを検出でき。また、この操作は２日以内で完了するので、新興・再興ウイルス感染症発生時などの緊急時に有用であると考えられる。更に、ダイレクトシーケンス法の採用により、組換え DNA 申請を行なわなくてもウイルスゲノムの塩基配列を知ることが可能になった。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、酒井宏治、倉根一郎、森川 茂、根路銘令子、伊藤美佳子、林　昌宏、高崎智彦、石井孝司・鈴木哲朗・有田峰太郎・清水博之（ウイルス第２部)，白戸憲也（ウイルス第 3 部)，遠藤大二（酪農学園大学)，岡本道子・西村秀一（仙台医療センター)]

（2）RDV 法の蚊媒介ウイルスへの応用

Rapid Determination of Viral RNA Sequence（RDV 法）は、既存の全ゲノム均等増幅の技術と独自に開発したダイレクトシーケンスの方法を組み合わせることにより、迅速な RNA ウイルス検出方法を可能にした。RDV 法を用いて蚊が媒介するウイルスを検出できるか検討した。タイのデングウイルス感染患者の室内で捕捉された蚊をすりつぶし、C6/36 細胞に添加した後、培養上清か

らRNAを抽出してRDV法をおこなった。RDV法で得られたアンプリコンをダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定したところ、デングウイルス（4型）とCell free agent virusの部分配列が得られた。蚊のすりつぶし液からRNAを抽出してこれらのウイルスに対するRT-PCRをおこない、蚊にこれらのウイルスが感染していることを確認した。RDV法は網羅的にRNAウイルスのゲノムのcDNAを増幅するので、あらゆるRNAウイルスを検出でき、この操作は２日以内で完了する。本研究で、,デングウイルスや西ナイルウイルスなどの人獣共通感染症の原因ウイルスを媒介する蚊のすりつぶし液を培養細胞へ感染させた培養上清を用いて、RDV法による非特異的な増幅でデングウイルスなどを検出できた。[水谷哲也、酒井宏治、高崎智彦、小滝　徹、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川　茂、遠藤大二（酪農学園大学)、木原悠希・佐藤朝光（福岡大学)、江下優樹（大分大学)]

（3）RDV法によるキクガシラコウモリ由来新規ヘルペスウイルスの分離・同定

SARSコロナウイルスの自然宿主として考えられているキクガシラコウモリより培養細胞の樹立を試み、その過程で新規ヘルペスウイルスの分離に成功した。キクガシラコウモリ（英名 Horseshoe bat: Rhinolophus ferrumequinum）を都道府県知事の許可を得て捕獲し、脾臓由来の初代培養細胞の継代3代目からCPEが出現した。RDV法により新規ヘルペスウイルス（BV1）の分離に成功した。このウイルスはFASTA解析を行った結果、既知のウイルスではウマヘルペスウイルス2型と最も相同性が高いことが示唆された。さらにヘルペスウイルス共通のプライマーセットを用いてPCRならびに増幅断片の塩基配列を決定した結果、ヘルペスウイルス科、ガンマヘルペスウイルス亜科、ラディノウイルスに属することが示された。本研究はコウモリ由来ヘルペスウイルス分離の最初の報告である。[水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川　茂、前田健・本道栄一・寺川純平・木曽康郎（山口大学)、遠藤大二（酪農学園大学・獣医放射線)、安本茂（神奈川県立がんセンター)]

（4）RDV法によるオオコウモリ由来新規アデノウイルスの分離と同定

翼手目大翼手亜目クビワコウモリの一種であるヤエヤマオオコウモリ（英名 Ryukyu flying fox: Pteropus dasymallus yayeyamae）を山口県知事の許可の下捕獲し、脾臓由来初代培養細胞の継代4代目よりCPEが出現、RDV法によりウイルス（FBV1）分離に成功した.このウイルスはデータベースとの遺伝子相同性解析により、イヌアデノウイルスやウシアデノウイルスに近縁であることが示された。アデノウイルスであることを確認するため、DNAポリメラーゼ領域のアデノウイルス共通プライマーを用いたPCRにて特異バンドを確認した。この増幅断片の塩基配列を決定し、系統樹を作成した結果，Mastadenovirus属に属することが示された。ウイルスゲノムを制限酵素切断パターンにより解析した結果、約30kbpであることが推測された。BALB/ｃマウスの腹腔内にウイルス接種をした結果、外見上は変化を認めなかった。コウモリ由来アデノウイルスはこれまで一切報告が無く、本報告が初めてである。健常コウモリの脾臓より分離されたことから、持続感染したウイルスであると予測された。[水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂、前田健・本道栄一・寺川純平・木曽康郎（山口大学)、遠藤大二（酪農学園大学・獣医放射線)]

（5）RDV法を用いたトリ由来ウイルスの同定

RDV法の検出感度の向上を改良し,発育鶏卵で分離した鳥由来ウイルスの遺伝子の検出・同定を試みた。改良RDV法ではwhole transcriptome amplification systemを用いて逆転写反応と増幅反応をひとつのチューブで行なうことにより、簡便性と感度が上昇した。野生鴨の新鮮糞便を発育鶏卵に摂取し、HA反応は陽性であるがPCRによるインフルエンザウイルスが陰性の検体が得られた。改良RDV法により、効率良くトリパラミクソウイルス（APMV）のＮ，Ｆ，Ｌ遺伝子断片を検出することができた。遺伝子配列既知のAPMV-6/duck/Taiwan/Y1/98のＬ遺伝子特異的プライマーにより検体からRT-PCR増幅産物が得られ、その塩基配列はAPMV-6と高い相同性（98.6%）を示した。本法は感染細胞の培養上清や血清のみならず発育鶏卵で増殖させたウイルスについても適用可能であり、鳥由来ウイルスの同定に有用であると考えられた。[酒井宏治、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)、岡村雅史・中村政幸・竹原一明（北里大学)]

（6）RDV法を用いたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）の同定

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）は、遺伝子配列の同義置換が多いために全てのウイルス株を網羅で

きるRT-PCR用プライマーの設定が困難である。そこで、ウイルス核酸を非特異的に増幅できるRDV法をLCMVの検出に適用した。LCMV Armstrong株及びM1株をそれぞれ感染したHeLa細胞の培養上清を検体とした。感染細胞の培養上清から効率良くLCMV Armstrong株, M1株のS遺伝子断片をそれぞれ効率良く検出することができた。理研BRCで導入マウス系統がLCMVに汚染していた事例では、これまで報告されていたLCMV検出プライマーの内いくつかのプライマーを用いたRT-PCRで遺伝子が検出されたが、最終的には分離ウイルス（M1, M2株）のS-RNAの全遺伝子配列を決定後に作製した分離株特異的なプライマーで再検討した結果、同一系統のマウスの100%がウイルスに感染していることが初めて明らかになった。このように、同義置換が非常に多いLCMVのようなウイルスの場合は、既知のウイルス遺伝子配列情報から作製されたプライマーでは検出感度が低い, あるいは検出されないウイルス株がある。本研究では、LCMVのように同義置換の高頻度なウイルスの遺伝子検出・同定法として、特異的primersを必要としないRDV法が有用であることを示した。[酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川　茂、池　郁男（理研BRC)、遠藤大二（酪農学園大学)]

Ⅴ．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）日本脳炎ウイルスgenotype 1完全長cDNAクローンの作製とウイルス産生系の確立

日本で主にブタから分離される日本脳炎ウイルスのgenotypeは、１９９０年代初頭を境に３型から１型へ変化した。一方genotypeの変化と時期を同じくして、日本脳炎患者数が１９９０年代初頭に顕著に減少した。このことから１型と３型との間で増殖性・病原性に差がある可能性が指摘されているが、それを実証する実験的データは得られていない。我々は日本脳炎ウイルス１型の増殖性および病原性ついて詳細な解析を進めるため、組換え日本脳炎ウイルス１型のウイルス産生系の確立を試みた。鋳型となるウイルスは、当部で日本脳炎ウイルス感染ブタ血清より分離し、前年度に全塩基配列を決定したSw/Mie/41/2002株を使用した。これまでに完全長cDNAクローンを作成し、本クローンに由来するウイルス粒子を回収することにも成功した。今後本クローンを用いて変異体を作成し、病原性解析等を行なう予定である。[田島　茂、貫井陽子、根路銘令子、高崎智彦、倉根一郎]

（2）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

① ブタ血清からのウイルス分離

2006年には、三重県から送付されたブタ血清より1株の日本脳炎ウイルスが分離された（JEV/Sw/Mie/51/2006)。このウイルスを用いたプラーク形成試験では、現行ワクチン株（Beijing-1株）に比べてプラークサイズは大きく、ベロ細胞における感染価は１×10^6 PFU/mlであった。E蛋白領域の遺伝子配列は遺伝子1型であった。

② 離乳マウスにおける神経毒性及び神経侵入性の解析

2005年に三重県の豚血清より分離された2株の日本脳炎ウイルス(Sw/Mie/83/2005, Sw/Mie/84/2005)について、離乳マウス(DDY, 3週齢、メス)における神経毒性及び神経侵入性試験を実施した結果、神経毒性は2.88と2.98 (log_{10} PFU/LD_{50})、神経侵入性は3.83と4.24 (log_{10} PFU/LD_{50})で、比較的低いレベルであることが明らかになった。[根路銘令子、高崎智彦、田島 茂、小滝 徹、林 昌宏、倉根一郎、田部井由紀子（東京都衛研)、小川知子（千葉県衛研)、足立　聡（静岡県環衛科研)、細谷佳行（静岡県西部食肉衛検)、山内昭則（三重県科技振センター)、尾西 一（石川県保環センター)、内田順子（香川県衛研究)、島津幸枝（広島県保環センター)、永安聖二（高知県衛研)、原田誠也（熊本県保環科研)、糸数清正（沖縄県衛環研）]

（3）腹腔経路で感染させた日本脳炎ウイルスの、離乳マウスの脳内および血清中におけるウイルス増殖様態

4株の日本脳炎ウイルス（Beijing-1、Nakayama-NIH、Sw/Mie/41/2002 、Sw/Mie/40/2004）を10^5PFUウイルス量（100μℓ/マウス）に希釈調製し、各20匹のDDYマウス(SPF)（3週齢、メス）に腹腔内接種により感染させた。感染後10日間、毎日マウス2匹を麻酔下で心臓採血し、その後脳を採取した。血清と脳内のウイルス量は、Vero9013細胞を用いたプラーク法で測定した。その結果、これら4株のウイルス間には、マウスにおける神経侵入性および脳内と血清中のウイルス増殖様態に明かな違いのあることが判明した。[根路銘令子、林　昌宏、田島　茂、貫井陽子、小滝　徹、高崎智彦、倉根一郎]

2.　デングウイルスに関する研究

（1）デング１型ウイルスNS1　N型糖鎖付加部位変異クローンの作製とウイルス産生能の解析

フラビウイルスの非構造蛋白質　NS1　は、分子量

45-50kDa の糖蛋白質であり、小胞体や細胞膜上に局在し、また細胞外にも分泌される。ウイルスゲノムの複製や疾患の重症化に NS1 が関与するとの報告があるが、その機能・作用機序は不明である。我々はデング１型ウイルス（DENV-1）の増殖における NS1 N 型糖鎖付加の意義について解析するため、糖鎖付加部位に変異を有する DENV-1 分子クローンを作製し、ウイルス産生能を調べた。DENV-1 感染性分子クローン rDENV-1(02-20)/pMW119 を用いて、N 型糖鎖付加部位である 130 番目と 207 番目の Asn を、一方および両方を Ala に置換したクローン（rDENV-1-130Ala、-207Ala、および-130.207Ala/pMW119）を作製した。各クローンより合成したゲノム RNA を Vero 細胞にトランスフェクトしウイルス産生を試みた。207Ala 変異体からは野生型クローンとほぼ同等のウイルス産生が観察されたが、130Ala および 130.207Ala 変異体からはウイルス産生を確認できなかった。また野生型クローンと 130Ala クローン RNA をヒトヘパトーマ由来細胞 Huh-7 および蚊由来細胞 C6/36 細胞にトランスフェクトしたところ、野生型のみウイルス増殖が確認された。以上の結果より、DENV-1 NS1 の 130 番目の Asn はウイルス複製において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。[田島　茂、高崎智彦、倉根一郎]

（2）Ｎ型糖鎖付加阻害剤ツニカマイシンがデング１型ウイルスゲノムＲＮＡ複製に及ぼす影響

NS1 へのＮ型糖鎖付加がデング１型ウイルスゲノムの複製に及ぼす影響を調べるため、野生型 DENV-1(02-20)を感染させた細胞を N 型糖鎖付加阻害剤であるツニカマイシンで処理し、２４時間後のウイルス RNA 蓄積量を調べた。すると非処理に比べ細胞内のウイルス RNA 量がプラス鎖、マイナス鎖ともに低下していた。これより糖鎖付加反応がウイルス RNA 複製に関係することが示唆された。[田島　茂、高崎智彦、倉根一郎]

（3）デング１型ウイルス非構造蛋白質 NS1 の哺乳動物細胞内および蚊細胞内発現プラスミドの構築

今後 DENV-1 NS1 の機能解析を進めてゆく上で、NS1 を単独発現させる系は必須である。そこで哺乳動物細胞内発現ベクターpME18Neo および節足動物内発現ベクターpIEx-4 に野生型およびＮ型糖鎖付加部位変異を有する NS1 を組み込んだ。また NS1 の C 末端側に Flag 配列を連結した。哺乳動物用については Vero あるいは Huh-7 細胞に、節足動物用は C6/36 細胞に導入後、ウエスタンブロット法により発現を確認した。[田島　茂、高崎智彦、倉根一郎]

（4）デング熱患者における尿、唾液中のウイルス遺伝子、抗体検出に関する研究

デング熱輸入症例の尿および唾液からウイルス遺伝子および IgM 抗体の検出を試みた。その結果、すべての症例からではないが、ウイルス遺伝子を検出する場合があることを確認した。特にウイルス血症が消退しウイルス遺伝子が血液中から検出できない場合でも、尿中から検出することがあることが確認され、診断上の意義があることが明らかとなった。また、IgM 抗体が尿中、唾液中から検出する場合もあることが確認された。[高崎智彦、小滝　徹、原田文植、田島　茂、倉根一郎、名和　優・町田早苗（埼玉医大）、水野泰孝・加藤康幸・工藤宏一郎（国立国際医療センター）]

（5）デング熱サルモデルの開発

デングウイルス感染の病態解析およびワクチン評価のための動物モデルとして、サルにデングウイルスを感染させ、症状の有無、ウイルス血症を解析したところある種のサルにおいて、血尿（肉眼的血尿、尿潜血）が確認され、感染後数日間ウイルス血症を検出し、尿中からもウイルス遺伝子を検出した。[高崎智彦、平山隆則、伊藤美佳子、小滝　徹、倉根一郎、明里宏文・片貝裕子・中村紳一朗(医薬基盤研究所･霊長類医科学研究センター)]

（6）デング出血熱小動物モデルの開発

スナネズミを用いたデングウイルス感染小動物モデルを開発した。白色系がデングウイルスに対して検出可能なウイルス血症をきたすことが明らかとなったが、症状をきたすことはなかった。また、再感染による感染増強効果を検討したがその効果は認められなかった。[高崎智彦、濱野正敬、倉根一郎、松田潤一郎（医薬品医療基盤研究所）]

（7）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

デング出血熱の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，Fcγ受容体を Cos-7 細胞に導入した細胞を作製し，Fcγ受容体を介したデング出血熱の in vitro における感染機構を解析した．解析にはデング熱・出血熱患者血清から分離したデングウイルス 2 型および 3 型の強毒株を用いた．これら実験の結果 Fcγ受容体のリン酸化部位の欠損変異体ではデングウ

イルスの感染増強が認められなかったことから Fcγ受容体によって誘導されるシグナル伝達がデングウイルスの感染増強機構に関与していることが示唆された。[林昌宏、高崎智彦、モイ メイリン、倉根一郎]

3. チクングニヤウイルスに関する研究

（1）チクングニヤウイルスに関する実験室診断法の確立

チクングニヤウイルス（Bah306 株、AF 株）を用いて、通常の RT-PCR 法およびリアルタイム PCR 法（TaqMan RT-PCR 法）を確立した。またフランスパスツール研究所から無償供与いただいた抗体陽性血清を用いて、抗チクングニヤウイルス IgM 捕捉 ELISA 法を確立した。[高崎智彦、林　昌宏、伊藤美佳子、小滝　徹、田島　茂、倉根一郎]

（2）本邦で初めて確認されたチクングニヤ熱輸入症例と患者血清からのウイルス分離

スリランカから帰国し発熱と重度の関節痛を呈した患者検体について実験室検査を行い，2007 年 1 月にチクングニヤ熱の輸入症例を確認した．また続いて発症した 2 例目のチクングニヤ熱患者血清より日本で初めてチクングニヤウイルスを分離した．分離したウイルスの遺伝子解析を行ったところ本ウイルスは近年インド洋諸島から西インドにかけて流行しているチクングニヤウイルスと相同性が高いことが明らかとなった[林　昌宏、高崎智彦、小滝　徹、倉根一郎、水野泰孝・加藤康幸・工藤宏一郎（国立国際医療センター国際疾病センター）、渡邊香奈子（新潟県保健環境科学研究所）]

（3）本邦で初めて分離されたチクングニヤウイルスの形態学的解析

わが国においてはじめて分離されたチクングニヤウイルスの形態学的観察を行った。ウイルス培養上清を精製・濃縮し電子顕微鏡を用いて形態的観察を行ったチクングニヤウイルスの属するアルファウイルスに特徴的な直径約 70㎚の正二十面体構造をもつウイルス粒子が多数観察された。[林　昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

4. フラビウイルス検査法に関する研究

（1）フラビウイルス共通プライマーを用いた迅速診断法の確立

フラビウイルス間で比較的共通した塩基配列の認められる膜（E）タンパク領域，非構造タンパクである NS3，NS5 領域にそれぞれ PCR プライマーを設計し，フラビウイルス遺伝子の増幅を検討した．その結果蚊によって媒介される日本脳炎ウイルス，ウエストナイルウイルス，セントルイス脳炎ウイルス，マレーバレー脳炎ウイルス，デングウイルス，ダニによって媒介されるロシア春夏脳炎ウイルスのいずれも検出することが可能なフラビウイルス共通プライマーを作製することに成功した．本プライマーはフラビウイルス感染症の迅速診断に応用可能であることが示唆された。[林　昌宏、高崎智彦、小滝　徹、倉根一郎]

Ⅵ. 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）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、狂犬病を発症したイヌの脳から狂犬病ウイルスG遺伝子を増幅し、塩基配列に基づいて流行株の分子疫学的解析を行った。また、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、倉根一郎、西園　晃(大分医大)、Pakamatz Khawplod、Henry Wilde (The Thai Red Cross Society)、Sukathida Ubol (Mahidol University)]

（2）中国の狂犬病流行株の遺伝子解析とワクチン株の遺伝子解析

近年、中国において増加中の狂犬病に関して、中国防疫制御センター(China CDC)脳炎部唐青(Tang, Quing)博士と協力して研究を行っている。中国において最も発生例の多い広西省チワン自治区を中心とした中国南部の省において、イヌより採取された狂犬病ウイルスの遺伝子解析を行い、狂犬病の流行様式の解析を行っている。また、中国で使用しているワクチン株である CTN 株のゲノム全長の塩基配列の決定を行っている。[森本金次郎、Quing Tang (China CDC)]

（3）狂犬病ウイルス侵襲に対する脳内免疫応答の解析

狂犬病ウイルス(CVS 株)が末梢から脳へと効率的に移行する性質を利用し、ウイルス侵襲に対する脳の免疫応答様式を解析した。末梢から脳への RV 感染では、その最初期においてケモカイン CCL5 および CXCL10 の発現が誘導され白血球の動員を促すことが示唆された。また、CCL5 および CXCL10 の発現は脳幹および小脳において鋭敏に応答することが明らかとなった。さらに、インターフェロンは脳幹、炎症性サイトカインは小脳において応答し、ケモカインの発現を間接的に増強する可能性が

示唆された。[中道一生、伊藤睦代、久保山有紀、齋木めぐみ、森本金次郎、倉根一郎]

(4)ウイルス感染に対するミクログリア活性化機序の解析

狂犬病ウイルス等の神経系ウイルスによって侵襲を受けた脳では、常在型のマクロファージ様細胞であるミクログリアが活性化し病原体の排除に働く。ウイルス感染に対するミクログリアの活性化機序を分子、および形態レベルで解析した。ミクログリアにおける炎症性遺伝子の発現は、NF-kB ならびに JNK、p38 を介したシグナル経路によって誘導されることを示した。また、分岐状の静止型細胞からアメーバ型の貪食細胞へと変化する過程には、JNK 経路を介した細胞骨格の再構築が関与することを明らかにした。[中道一生、齋木めぐみ、久保山有紀、伊藤睦代、森本金次郎、倉根一郎]

(5)狂犬病ウイルスワクチン株の弱毒化に関与する因子の解析

HEP-Flury 株は高度に弱毒化した狂犬病ウイルスであり、ヒト用狂犬病ワクチンの製造において使用されている。本株の弱毒化に関与する因子をリバースジェネティクス法によって解析した。高い病原性を示すウイルス株および本株のウイルス膜蛋白質(G 蛋白質)のアミノ酸配列を比較した結果、本株では第 333 位にアルギニンではなくグルタミンをコードすることが分かった。また、G 蛋白質の第 333 位をアルギニンに置換した変異ウイルスでは、脳内のウイルス伝播ならびにマウスに対する神経病原性が増加することが分かった。[伊藤睦代、倉根一郎、森本金次郎]

2. JC ウイルス(JCV)に関する研究

(1) 髄液を用いた JCV 検査系の確立

進行性多巣性白質脳症(PML)は、免疫不全患者等において発生する致死的な脱髄性疾患であり、持続感染した JCV によって引き起こされる。脳生検試料と比較して採取が容易な髄液を用いた JCV 検査体制を整備するため、T 抗原および VP1 領域を標的としたプライマーおよび TaqMan プローブを設計し、数コピーから 10E9 コピーまでのウイルス DNA を定量するためのリアルタイム PCR を確立した。また、PML 患者等の髄液を用いたバリデーションを実施し、本検出系が JCV 検査において実用可能であることを示した。[中道一生、久保山有紀、伊藤睦代、齋木めぐみ、森本金次郎、倉根一郎]

(2) JCV 持続感染細胞の培養系の確立

培養細胞における JCV の増殖は極めて遅く、感染実験等において十分量のウイルスを得るためには長期の細胞培養と熟達した実験手技を要する。JCV の調製をより簡便化するため、持続感染細胞(CJ-7)の培養系を確立した。CJ-7 細胞は COS-7 細胞に JCV の全長ゲノム DNA を導入することで樹立された細胞であり、安定して JCV を産生する。また、COS-7 細胞と同様に取扱いが容易であるため、JCV を対象とした幅広い研究において有用なツールとなり得ることが分かった。[中道一生、奴久妻聡一(神戸市環境保健研究所)、伊藤睦代、久保山有紀、齋木めぐみ、森本金次郎、倉根一郎]

(3) JCV 蛋白質に対する抗体パネルの作製

JCV の蛋白質に対する抗体パネルの作製を目的として、T 抗原および t 抗原、VP1、VP2/3、Agno をコードする各領域を大腸菌発現ベクターに組込み、ヒスチジンタグもしくは GST タグとの融合蛋白質として発現させた。融合蛋白質をタグの親和性等により精製した後、ウサギに免疫し十分量の抗血清を作製した。各抗体の特異性を間接免疫蛍光法ならびにウェスタンブロット法を用いて調べた。作製された抗体パネルは、JCV の複製機序の解析ならびに免疫組織化学検査において有用なツールとなることが示唆された。[伊藤睦代、中道一生、齋木めぐみ、久保山有紀、森本金次郎、倉根一郎]

Ⅶ. 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)水痘ワクチンの遺伝子レベルでの品質管理法の検討

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、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 18 塩基部位を検討し、15 部位について期待されるＰＣＲ産物を得て P-Oka とワクチン株との分別が可能であった。本方法を用いて、海外メーカーの非ライセンスワクチン 2 ロットについて、ワクチン親株及び本邦メーカーの国家検定を合格し重大副作用が発生しなかったことが確認されているワクチンの１ロットを比較検討した。我国の生物学的製剤基準に照らしてはるかに継代数が多いこの非ライセンスワクチ

ン製剤は、本来のワクチン株配列から逸脱していることが見出された。遺伝子レベルでの確認を生物学的製剤基準に導入するために、本邦メーカーや水痘ワクチン専門家とワーキンググループに設け、プロトコールなどを共有化する作業を開始した。[井上直樹、倉根一郎]

（2）新規抗 VZV 薬の検索と評価

VZV は細胞フリーの感染粒子が得にくいので、感染細胞と VZV を簡便迅速に検出できるレポーター細胞株を共培養することにより、VZV 感染力価を 3 日間で測定できることを昨年度示した。この系を用いて、VZV 感染を 20μM で阻害する新規抗ウイルス剤候補を 5600 種類のランダム化合物ライブラリーから検索した。1 次スクリーニングで約 200 化合物に候補を絞り込み、最終的に、細胞毒性がなく(>20μM)、VZV 感染阻害がある 7 化合物を同定した。確認の結果、１つは、核酸アナログで VZV に対する効果がよく知られる araC であることが判明し、スクリーニング系が期待通り働いていることが結果的には裏付けられた。また、１つは、免疫染色法を用いて阻害効果を確認する実験を行ったところ、効果が見られなかったことから、ルシフェラーゼに対する阻害剤と判断し以後の検討から除いた。残りの 5 化合物のうち 2 つは異なる側鎖を有する thienyl carboxamide 系の化合物であり、特に EC50 が 1.25μM 以下と比較的強い阻害効果があった。[永野暎子、福井良子、山口十四文(帝京科学大)、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）特殊濾紙を用いたリアルタイム PCR 法の確立

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。しかし従来の方法による尿の収集・輸送・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。昨年度までに、尿検体を含む特殊濾紙片から溶出した DNA をリアルタイム PCR に供することで、CMV ゲノムコピー数の定量を可能とした。今年度はさらに各種条件を最適化し、濾紙から打ち抜いた 3mm 径ディスクを１回洗浄後そのまま直接リアルタイム PCR に供し、ディスク当り 50 ゲノムまでの感度で CMV を検出できる迅速・簡便な CMV 検出法を確立した。本法は尿検体以外にも、唾液・髄液・気管内分泌液・血漿検体にも使用可能であった。[野澤直樹、古谷野伸（旭川医大)、山本由美子、倉根一郎、井上直樹]

(2)先天性 CMV 感染スクリーニングのパイロット調査と感染児のフォローアップ

上記のリアルタイム PCR 法を用いて、先天性 CMV 感染のマススクリーニングのパイロット調査を開始した。2 箇所の産科で約半年間に出生し、親権者より同意書が得られた 600 例の新生児をスクリーニングした。その結果、スクリーニングを行わない限り同定されないような不顕性の先天性感染児を 2 例見出し、乾燥臍帯など追加検体を得て先天性感染を確認した。これら 2 例は、CT 検査や ABR 聴覚検査で異常は認められなかった。先天性 CMV 感染による遅延性の後遺症として、難聴や発達遅滞が知られることから、これら症例についてフォローアップを行なっている。[井上直樹、古谷野伸（旭川医大)、山本由美子、稲見有希、倉根一郎]

（3）CMV ゲノムタイプの解析

高度感音難聴を２才までに発症した乳幼児の約２割が先天性ＣＭＶ感染によること、その頻度は遺伝的要因として知られるＧＪＢ２遺伝子変異と同程度であること、先天性ＣＭＶ感染による難聴発症が遅延性・進行性であることなどを、我々は明らかにしてきた。しかしながら、すべての先天性感染児が難聴を発症するわけではないことや発症時期が異なることから、特定の性質をもつＣＭＶ株が先天性感染後の高度難聴発症に関与する可能性がある。そこで、健常小児、先天性感染による高度難聴患児、顕性の先天性感染新生児、上記スクリーニングにより同定された不顕性の先天感染新生児より得られたＣＭＶ株について、UL144, gB, gH 遺伝子についてその遺伝子型の比較検討を行なった。その結果、gB 遺伝子の特定の型が先天感染児より得られた株に有意に多いことを見出した。[顔海念、古谷野伸(旭川医大)、稲見有希、山本由美子、錫谷達夫(福島医大)、牛島廣治(東大医)、倉根一郎、井上直樹]

（4）モルモット個体におけるモルモット CMV(GPCMV)の感染様式の検討

GPCMV は先天性 CMV 感染の唯一の小動物モデルとしてその有用であるが、詳細な分子生物学的解析法が確立していない。そこで我々はまず、これまでに確立した GP83 遺伝子領域をターゲットとしたリアルタイム PCR 法を用いて、入手可能な 5 種の近交系モルモットに GPCMV を腹腔内接種し、モルモット体内でのウイルス感染動態を解析した。その結果、系統間でのウイルス感受性には差が認められなかったが、ウイルス感染７日後で脾臓など大半の臓器に、感染 21 日後では特に唾液腺に高レベルのウ

イルス DNA が検出され、GPCMV はマウス・ヒト CMV と類似した伝播様式を示すことを明らかとした。[野澤直樹、中村幸之助、横井雅之、山本由美子、倉根一郎、井上直樹]

(5) GPCMV 全塩基配列の決定と前初期蛋白 IE2 に対する抗体の作製

GPCMV ゲノムを各種の制限酵素で切断後、クローニングし、得られたプラスミドライブラリーを用いて約 230kB の全塩基配列を決定した。中間部分にヘルペスウイルスで共通な配列が、両末端に GPCMV 特有の配列を見出した。この塩基配列情報をもとに、ウイルス感染の極めて早い時期に発現することが期待される前初期蛋白 IE2 を GST 融合蛋白として大腸菌で発現させた。発現蛋白をアフィニティ精製後、GST 部分を特異的プロテアーゼにて除去した。この IE2 蛋白を用いて、ウサギを免疫し、IE2 に対する特異的抗体を得た。この抗体は、組織免疫染色などに有用であることを示した。[井上直樹、横井雅之、山本由美子、稲見有希、小村広美、片野晴隆(感染病理部)、野澤直樹、倉根一郎]

(6) 新規抗 CMV 薬の検索と評価

CMV レポーター細胞を用いて、CMV の感染初期過程を 20μM で阻害する新規抗ウイルス剤候補を 9600 種類のランダム化合物ライブラリーから検索した。最終的に、細胞毒性がなく(>20μM)、CMV 感染阻害効果がある７化合物を同定した。[福井良子、倉根一郎、井上直樹]

３．エプスタイン・バールウイルス(EBV)に関する研究

(1) EBV 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 潜伏感染に重要なウイルス核蛋白である 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や昨年度の酵母実験系などで EBNA-LP と相互作用する細胞性蛋白の検索を試み、幾つかの遺伝子産物を報告してきた。今年度はそれら候補遺伝子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し、分析を深めるとともに、EBNA-LP の補因子機能への関与や局在などを検討した。[原田志津子、加藤美緒、平田顕恵]

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

EBNA-LP の EBV 感染細胞における機能を解析するために、EBV 潜伏感染細胞由来の EBNA-LP ドミナントネガティブ変異体の誘導発現細胞株を作成し、発現細胞の性質をこれまで解析してきた。すでに一部のウイルス遺伝子の発現が RNA レベルで低下していることや、リポーター分析での解析で myc など細胞遺伝子の発現活性が優位に低下することを明らかにした。また、アポトーシスが昂進し、特定の細胞周期が遅延することを見いだした。今年度はそのメカニズム検討のため、変異蛋白の発現による細胞遺伝子発現の様式の変動を DNA アレイ法の複数の方法を検討して網羅的に検索した。いくつかの変動遺伝子については、定量的 PCR 法で確認した。それら遺伝子が関与する機構について検討を続けている。[原田志津子、平田顕恵、野澤直樹、加藤美緒]

Ⅷ. 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国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築

わが国におけるつつが虫病、増加する日本紅斑熱、新たなリケッチア症、エーリキア症やアナプラズマ症等への対応のため、疫学、検査診断、予防治療の研究を総合的に進め、リケッチア症の国内実態解明、早期診断と警鐘システムを構築することを目的に以下の検討を行った。①つつが虫病、日本紅斑熱発生状況の集約、マダニ等ベクター、病原体、動物の全国調査、国内侵入の点からアジア大陸の現地調査を実施した。②医師の本症に対する認知度を調査した。③新規診断ツール候補抗原、免疫組織染色法を検討した。④つつが虫病、日本紅斑熱の現行検査法の検証改良を行った。⑤エーリキア、アナプラズマの新規遺伝子検出法の開発を試みた。⑥重篤例、死亡例とイヌ感染実験で病態解析を行った。さらにこれらの検討を総合的に進める予定である。[岸本壽男､安藤秀二､小川基彦､坂田明子､川端寛樹(細菌第一部)､岡部信彦(感染症情報センター)、高田伸弘(福井大学医学部)、大橋典男(静岡県立大学環境科学研究所)､堤　寛(藤田保健衛生大学医学部)、岩崎博道(福井大学医学部)、藤田博己((財)大原総合病院付属大原研究所)、猪熊　壽(帯広畜産大学獣医学部)、古屋由美子(神奈川県衛生研究所微生物部)、田原研司(島根県保健環境科学研究所)、山本正悟(宮崎県衛生環境研究所ウイルス科)､倉田　毅(富山県衛生研究所)]

(2)鳥類に由来するマダニ材料からのリケッチアの検出

日本国内の紅斑熱群リケッチアには様々な種が存在することが知られており、近年、日本紅斑熱リケッチア(*Rickettsia japonica*)以外の紅斑熱群リケッチアによ

る患者の発生の可能性が指摘されている。また、リケッチア症は、自然界においてマダニと野生動物の間に感染サイクルが構築されており、そのサイクルにヒトが侵入、マダニの刺咬によって感染を受け、発症する。このことから、自然界のマダニ、野生動物からの材料を用い、直接リケッチアを検出することは、ヒトの感染の可能性をあらかじめ防ぐ情報を提供するためのハザード・マップの作成に必要な情報を得るために有用である。山階鳥類研究所に協力する全国の関係者から集められた、野生鳥類に関連するマダニからリケッチアの検出、解析を試みた。[安藤秀二、坂田明子、岸本壽男、藤田博己(（財）大原総合病院附属大原研究所)、鶴見みや古・尾崎清明(（財）山階鳥類研究所)、高野　愛・川端寛樹（細菌第一部）]

（3）日本国内におけるリケッチア感染症検査法の検証

日本国内のリケッチア症（つつが虫病や日本紅斑熱）の実験室診断の診断技術レベルの維持を目的に、現在国内で実施可能なリケッチア診断法の評価を複数の施設で検証した。間接蛍光抗体法（IFA)、補体結合反応（CF）について市販抗原および自家作製抗原を用い、ペア血清抗体検査においてつつが虫病が確定した患者血清の抗体価を比較した。また、非特異的に疑陽性を示した検体について複数の施設において比較した。CF ではこれらの半数以上が陰性となり感度が極めて低く、患者発生地の血清型にも大きく左右された。また、市販抗原と自家抗原の結果を比較すると、自家抗原による値の方が若干高い数値を示した。これらの結果から、現行のリケッチア症実験室診断の熟練と精度管理の維持についての検討の必要性と、また民間検査施設では実施されていない PCR や日本紅斑熱の抗体検査も含めて、国内のリケッチア感染症検査体制の再検討と維持のためのネットワークの構築が急務と考えられた。[安藤秀二、岸本壽男、小原真弓(富山県衛生研究所)、田原研司(島根県保健環境科学研究所)、古屋由美子(神奈川県衛生研究所)、藤田博己(大原総合病院付属大原研究所)、山本正悟(宮崎県衛生環境研究所)]

（4）*Rickettsia felis* のプロテオーム解析

紅斑熱群リケッチアの一つ *Rickettsia felis* の全ゲノム配列が明らかにされ、多くの特徴的な遺伝子がコードされていることなどが示された。そこで、ショットガンプロテオミクスにより発現タンパクを解析した。その結果、165 の異なるタンパク質を同定し、putative adhesin、Sca ファミリーなどリケッチアの感染に関与するタンパク質、タイプ 4 分泌系やトキシンアンチトキシンなど他の細菌で病原性への関与が示唆されているタンパク質が発現していた。さらに、バイオインフォマティクス解析による細菌 23 種との発現プロファイルの比較では、偏性細胞内寄生細菌は翻訳に関与するタンパク質を、また他の一般細菌はエネルギー産生や代謝に関与するタンパク質をより多く発現していることを明らかにした。また、一部のタンパク質は、細菌のあいだで広く遺伝子（オルソログ）が保存されているにもかかわらず、リケッチアにだけ発現されているものもあった。今後は、Sca ファミリーや adhesin などの感染過程における詳細な役割、病原性に関与するタンパク質やリケッチア特異的なタンパク質の宿主細胞内での役割、すなわち宿主細胞との相互作用、また環境の変化における発現の変化について解析する予定である。[小川基彦、Renesto, P.・ Azza, S.・ Moinier,D.・ Fourquet, P.・ Gorvel, JP.・ Raoult, D.(Mediterranean University)]

（5)リケッチアの環境応答タンパクのダニのライフサイクルでの変化

R. massiliae が持続的に感染しているマダニ *Rhipicepharus turanicus* のコロニーを確立し、リケッチアの持続感染における環境応答タンパクの解析を行った。その結果、外膜タンパク質 rOmpA の発現が、ダニのステージによって変化することを発見した。最近の報告でも、*Dermacentor andersoni* と共生する *R. peacockii* は、ダニの細胞では rOmpA を発現してないことが明らかにされており、ダニの体内でのリケッチアの生存や維持に何らかの役割を担っている可能性も示されている。今後こういった外膜タンパク質の宿主細胞内での役割、すなわち宿主細胞との相互作用について解析する予定である。[小川基彦、Matsumoto, K.・ Parola, P.・ Raoult, D.・ Brouqui, P.(Mediterranean University)]

2.　Q 熱コクシエラに関する研究

（1）Q 熱のスクリーニングに用いる血清診断法の検討

バイオテロに Q 熱コクシエラ(*C.burnetii*)が用いられた場合を想定し、患者特定に重要なスクリーニングのための血清診断法の検討を行った。Q 熱の血清診断において、従来の *C.burnetii* 感染細胞を抗原とした IFA 法での陽性判定には非特異反応による偽陽性の結果がしばしば問題となっており、Q 熱疑い患者にスクリーニングとして用いた場合、臨床現場での混乱が予想される。今回その非特異反応の問題を解決するため、非特異反応除去剤の検討を行い、改良法を開発、実用化した。これまでの低値陽性例が多いとされたいわゆる本邦独特の非典型 Q 熱は、本法の非

特異反応除去剤によって陰性となる例も出てくる可能性があり、今後本法による再検討の必要性が示唆された。[岸本壽男、安藤秀二、小川基彦、福士秀人(岐阜大学)、蔡燕・矢野竹男・中尾義喜(オリエンタル酵母工業(株)長浜生物科学研究所)]

IX. 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)オウム病の早期診断体制とコントロールに関する研究

オウム病は診断治療が遅れると致死的となることもあり侮れない。オウム病の早期診断体制確立とコントロールを行うには、まずは診断法の確立と普及が欠かせない。現在オウム病の血清診断の標準法のひとつである micro-IF 法は、精製抗原の準備が煩雑で判定にも熟練を要するため扱いにくく、施行可能な施設は限られている。そこでオウム病のより簡便な血清診断法として、*C.psittaci* 感染細胞を用いた間接蛍光抗体法（inclusion IFA）の臨床応用について検討した。本法でオウム病患者血清を測定した結果、micro-IF 法と高い相関性が認められ、判定も容易であった。また、界面活性剤を添加した検体希釈液では、PBS に比べ、非特異反応によると思われるバックグラウンドを低下させることができた。今後、本邦の臨床的有用性の検証を進める予定である。[岸本壽男、安藤秀二、坂田明子、小川基彦、福士秀人・大屋賢司(岐阜大学)、蔡 燕・矢野竹男・中尾義喜(オリエンタル酵母工業（株）長浜生物科学研究所)]

(2) 動物展示施設におけるオウム病集団発生事例での感染源調査

2005 年 12 月に神戸市内の鳥展示施設で発生したオウム病集団発生事例での感染源調査のため、トリならびにヒトから検出された *C.psittaci* 株について遺伝子学的な解析を行った。オウム病発生時に 87 羽由来の糞などの検体を調査したところ、5 羽由来の検体がクラミジア陽性であった。肺炎で入院した 1 名の気管支洗浄液より、クラミジア遺伝子が検出でき、MOMP 1,438bp の塩基配列を決定した。PCR で陽性となったトリ由来のクラミジア MOMP の配列と比較したところ、ヒムネオオハシ由来の遺伝子配列が、患者のそれと 100%一致した。それ以外のトリ由来のものは 1～5 塩基異なっていた。その肺炎患者はヒムネオオハシが 3 羽放たれていた約 4.3 ㎡の部屋の閉鎖空間に出入りしており、そこで感染性の排泄物を吸い込んで感染したものと推察された。[飯島義雄・秋吉京子・大石英明・田中 忍・貫名正文・伊藤正寛(神戸市環境保健研究所)、春田恒和(神戸市立中央市民病院)、福士秀人(岐阜大学)、安藤秀二、岸本壽男]

(3) オウム病の病態発現に関する病原因子の探究

オウム病の病態については、菌株の病原性の相違や宿主との関連などまだ不明な点が多い。病態発現を比較ゲノム解析の視点から行うためには、*C.psittaci* ゲノム配列の解読と比較解析が必要であるが、現時点で *C.psittaci* の全ゲノム配列は未解読である。そこで本年度は、我が国において集団発生事例で分離された Mat116 株、およびセキセイインコ由来 Budgerigar No.1 株の 2 株を選定し、ゲノム配列の解読と比較解析に着手した。現在までに菌の増殖と EB 精製を終え、順次高純度ゲノム DNA の抽出を行いつつあり、今後解析を進める予定である。[岸本壽男、安藤秀二、坂田明子、小川基彦、福士秀人・大屋賢司(岐阜大学)、蔡 燕・矢野竹男・中尾義喜(オリエンタル酵母工業(株)長浜生物科学研究所)]

2. 肺炎クラミジアに関する研究

(1) 肺炎クラミジアと多発性硬化症についての研究

特定疾患の微生物学的原因として、近年、多発性硬化症（以下 MS）と、肺炎クラミジアとの関連の可能性が指摘されているが、不明な点が多い。本年度の研究では、本邦の MS 症例血清 26 検体を用いて、肺炎クラミジア抗体価測定を行い、MS との関連を検討した。IgG 抗体保有は MS 症例対健常者ではそれぞれ、65.4%:49.5% 、IgG 高値は 4.7%:0.8%、IgM 抗体陽性 15.4%:4.8%であり、MS 症例の方がいずれも高率であった。しかし、呼吸器感染症例、ならびに肺炎クラミジア急性呼吸器感染症例の IgG 抗体保有はそれぞれ 51.6%:87.2% 、IgG 高値は 7.7%:57.4%、IgM 抗体陽性 18.5%: 27.2%であり、MS 症例よりもさらに高率であった。現時点では MS と肺炎クラミジアの関連の有無について判断することは困難であり、今後、検体数の追加と髄液での PCR などの検討をさらに進める予定である。[岸本壽男、安藤秀二、坂田明子、川端寛樹(細菌第一部)、楠 進・宮本勝一(近畿大学医学部神経内科)、川越清隆・守川俊英・増田周子(日立化成工業(株))]

(2) 肺炎クラミジア感染症における血清診断法の検討

肺炎クラミジア感染症の血清診断における「ヒタザイム C.ニューモニエ Ab-IgM」の判定基準の見直しと評価を行った。19 施設から、肺炎クラミジア感染症例の保存血清と、新たに肺炎クラミジア感染が疑われる呼吸器感染症患者の血清及び鼻咽頭スワブを収集し検討した。基準の再設定のため健常小児（16 歳未満）232 検体及び健

常成人(16 歳以上)417 検体の血清を用い、retrospective 例で小児 1,323 検体、成人 238 検体、prospective 例で小児（16 歳未満）78 検体、成人（16 歳以上）129 検体について検討した。ヒタザイム C.ニューモニエ IgM による健常小児での平均+3SD は ID 2.11（陽性率 1.7%）、健常成人は ID 2.06（陽性率 2.4%）であった。新前処理剤により、RF 高値検体及び抗核抗体陽性検体の非特異的反応が抑制できた。prospective 例は、小児では ID≧2.00 が 17.9%、成人では ID≧2.00 が 5.4%であった。新たな IgM カットオフ値 ID2.00 は、micro-IF 法のほぼ 32 倍に相当し、その prospective 例の陽性率からも、妥当な値と考えられたため、新たな診断基準の提案を予定している。[岸本壽男、安藤秀二、沼崎　啓(ウイルス第三部)、尾内一信(川崎医科大学 2 小児科)、山崎　勉(埼玉医科大学小児科)、中浜　力(中浜医院)、肺炎クラミジア血清診断法研究会]

Ｘ．その他の研究

1.　染色体に関する研究

（1）化学薬剤による未成熟染色体凝縮法（PCC）の確立とその応用

染色体の解析は種・亜種の同定に際し遺伝学的手段として必須のみならず、先天性染色体異常症の診断など医学的にも重要な手段である。また染色体は後天的に放射線や環境変異原物質などにより損傷を受け、これら傷害による発癌や晩発傷害の解決も医学的に大きな課題であり、染色体の解析は遺伝子の損傷を評価するための必須の手段である。しかしながら遺伝子の損傷の程度が大きくなると、細胞周期の遅延あるいは停止により分裂中期染色体を得ることが困難あるいは不可能となり染色体解析そのものが不可能となっていた。未成熟染色体凝縮法はこの限界を克服する技術であり、オカダ酸あるいはカリクリンＡなどの蛋白質脱リン酸化酵素阻害剤により極めて簡便で効率的に PCC を誘発する方法を開発した。この方法により従来困難であった染色体の解析に広く利用されることとなり、放射線生物学、環境変異原学、あるいは出生前診断などの広い分野に応用されている。[後藤　英介]

（2）PCC 法とビーズロード法による染色体構造構築と染色体複製の動態の視覚化

染色体は分裂中期に凝縮し良く知られた分裂中期染色体構造を構成することが一般に知られている。一方染色体凝縮と染色体の複製は強く連関した現象であることが近年数多くの報告から明らかになっている。しかしながらこれらの報告は細胞周期間期核の観察でなされたものであり、その分解能には限界があり、また染色体構造との関係性は明らかでなかった。薬剤による PCC 法とビーズロード法による DNA 複製領域を直接標識する方法により染色体の複製と染色体構造の構築の動態を従来より明瞭にとらえ視覚化することに成功し、染色体の凝縮が DNA 複製に並行して進行していることを明らかにした。[後藤英介]

2.　ウイルスに関する研究

（1）293T 細胞における単純ヘルペスウイルスのチミジンリン酸化酵素の発現とその性状の解析

単純ヘルペスウイルス 1 型および 2 型（HSV-1 および HSV-2）や水痘・帯状疱疹ウイルスのチミジンリン酸化酵素（thymidine kinase, TK）は、アシクロビルなどの薬剤をリン酸化する酵素であり、抗ヘルペス薬の標的蛋白のひとつである。これらのウイルスのチミジンリン酸化酵素を哺乳細胞で発現させ、その性状を解析する方法を開発した。HSV-1 または HSV-2 のチミジンリン酸化酵素遺伝子を pcDNA3.1(+)発現ベクターの MCS に挿入し、その発現ベクターを 293T 細胞にトランスフェクトする。次いで 48 時間 geneticin 含有増殖培地を用いて培養すると、293T 細胞において TK が発現していることが明らかにされた。さらに、対象となる TK 非発現 293T 細胞に TK 欠損薬剤（アシクロビルなど）耐性 HSV-1 を感染させ、次いでアシクロビル存在下で細胞を培養しても、同ウイルスの増殖は抑制されないが、TK 発現 293T 細胞に TK 欠損薬剤耐性 HSV-1 を感染させ、アシクロビル存在下で細胞を培養すると、同ウイルスの増殖は抑制されていた。このシステムを用いて、各種変異を有する HSV-1 や HSV-2 の TK を 293T 細胞において発現させ、抗ウイルス薬存在下で TK 欠損薬剤耐性 HSV-1 の増殖抑制の程度を解析することにより、TK の薬剤リン酸化能を評価することが可能である。このシステムを応用することによりウイルスの薬剤感受性試験の迅速化を図ることが可能になると考えられる。[西條政幸、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、森川茂]

3.　バイオセーフティに関する研究

(1)地方衛生研究所のバイオセーフティに関する状況調査

各自治体が有する地方衛生研究所は、地域の公的な感染症対策の科学的拠点として重要な立場にある。平成 19 年 6 月の改正感染症法の施行により病原体の取り扱いに

ついて法的な管理が進められようとしている現在、ほとんどの地方衛生研究所が病原体管理においては法的に厚生労働大臣の許可を必要とする第二種の病原体取り扱い施設となり、また、地域の病原体取り扱い施設のモデルとしての新たな指導的立場が期待される。平成 18 年度は、これら地方衛生研究所に対してバイオセーフティとバイオセキュリティに関する全国調査として平成 17 年度末から実施したアンケート調査を解析し、平成 18 年度春の状況として過去に実施された調査と比較検討した。設備保有状況、病原体取り扱いのための規則などは整備されてきているものの、教育訓練、感染事故対策、職員の健康管理などはいまだ未整備のままであり、施設間の格差が広がるとともに、人員や予算の削減、施設の老朽化などからも法改正に伴う様々な事案に対して具体的な措置・活動が取れない状況にあることが多くの施設にとって問題となっており、早急な解決を進める必要がある。[安藤秀二（バイオセーフティ管理室併任)、坂田明子]

レファレンス業務

1. フラビウイルスに関する行政検査

日本脳炎 2 件、デング熱 10 件、チクングニア熱 1 件の行政検査が依頼されこれを実施した。[高崎智彦、伊藤美佳子、根路銘令子、林　昌宏、田島　茂、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。平成18年の行政検査においては、オウム病３例１９検体、リケッチア症２例４検体、Q熱１例３検体を実施した。また、その他の検査依頼としてクラミジア３例３検体、リケッチア１１例２１検体、Q熱３例６検体を実施している。さらに、不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を検査検討した。[安藤秀二、岸本壽男、倉根一郎]

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

リケッチア診断体制構築のために *Orientia tsutsugamushi* の生菌 2 株を地方衛生研究所に分与した。また、クラミジアおよびリケッチア診断用不活化抗原を 4 施設のべ 8 種供与するとともに、不活化クラミジア 1 株を製品交付した。[安藤秀二、岸本壽男、倉根一郎]

品質管理に関する業務

1. 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定

平成 18 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

7 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、7 ロットすべてを合格と判定した。[根路銘令子、田島茂、伊藤美佳子、林　昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

3. 黄熱ワクチンの依頼検査

平成 18 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、適と判定した。１件の副作用情報に基づく依頼検査を行政検査として実施した。[林　昌宏、根路銘令子、田島茂、伊藤美佳子、高崎智彦、倉根一郎]

4. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

平成 18 年度は、3 ロットの乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定(不活化試験および力価試験)を実施し、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

乾燥水痘生ワクチン国家検定 6 ロット、輸出用ワクチン依頼検査 9 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研修

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ている。随時、希望機関の職員を受け入れ、研修を行うとともに、国立保健科学院ウイルスコースならびに希少感染症診断技術研修会において講義を行った。[安藤秀二、岸本壽男、倉根一郎]

2. 地方衛生研究所九州ブロックにおけるバイオセーフティ研修

地方衛生研究所は感染症対策において、感染症法の中でも地域における科学的拠点としてその重要性が示されている。平成 18 年度、前年度の中国四国ブロックに続き、九州ブロックの地方衛生研究所の技術研修としてバイオセーフティとバイオセキュリティに関する研修依頼があった。前年度の研修にバイオセキュリティに関する情報

を加え、バイオセーフティに関する総論・各論の講義、地方衛生研究所の希望に即した実習を含む研修を 2 日間にわたって実施し、実践的なバイオセーフティ教育プログラムの効果的な構築を試み、教育プログラムの評価を行い、その有用性について検討した。[安藤秀二(バイオセーフティ管理室併任)、重松美加(感染症情報センター)、高木弘隆(バイオセーフティ管理室)]

3. 長野県の公的機関に対するバイオセーフティ研修の試行

病原体を取り扱う施設は多様である。全体の組織としてはひとつである地方自治体においても、地方衛生研究所、保健所、公立病院など様々な形態の病原体取り扱い施設を持っている。平成 18 年度は、これらの業務形態の施設すべてを対象とした検査室バイオセーフティに関する研修会を一度の研修で実施する依頼を長野県より受けたことから、講義と実習による研修を計画、実施し、多様な施設を対象とした研修スタイルの課題点を研修終了後に行った受講者による研修内容に対する評価シートとあわせて検討した。施設の多様性も反映し、受講者の希望するバイオセーフティに関する関心も多様であった。このことから、バイオセーフティにおける個々の内容に関し十分な研修ができなかったが、体系的にバイオセーフティの全体をつかむ機会はすべての施設に不足しており、バイオセーフティの全体像を把握し、各施設の状況を念頭においてバイオセーフティに関しての対策を各々が考える機会となったことが多くの参加者から感想が寄せられた。全国的にはさらに多様な病原体取り扱い施設があることから、柔軟性のある教育プログラムの構築とバイオセーフティの個々のテーマに十分対応できる研修ツールの作成が必要であることが確認された。[安藤秀二(バイオセーフティ管理室併任)、篠原克明・杉山和良(バイオセーフティ管理室)]

4. フォーカス(PAP)法を応用したフォーカス計数法による日本脳炎中和抗体価測定法に関する研修

第一回日本脳炎中和抗体価測定法研修会においてパーオキシダーゼ抗パーオキシダーゼ(PAP)法を応用したフォーカス計数法について感染症流行予測調査・日本脳炎感受性調査に参加する地方衛生研究所 9 施設(山形県、宮城県、新潟県、三重県、富山県、山口県、愛媛県、熊本県、沖縄県)の担当者に対して実習を中心に研修を行った。現在日本脳炎ウイルスの中和抗体価測定法にはウイルスにより形成されるプラークを指標としたプラーク法が用いられている。しかしながらプラーク形成には約 1 週間を要し、多くの 6 穴プレートを必要とするため作業が煩雑となる。フォーカス法においてはフォーカスの形成に要する時間は 46 時間であり、判定までの時間が短縮され、非特異反応も低く、96 穴プレートの使用が可能なため、短時間で大量の検体を処理することが可能である。したがって本法は感染症流行予測調査の速やかな情報収集に寄与する。本会は実習形式で行い、各自実習結果において再現性が認められた。[林　昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) 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 (84): 820-825, 2006.

2) Maeda, A., Maeda, J. and Kurane, I.: SUMOylation in viral infection: Does SUMO wrestle or help virus infection? Current Topics in Biochemistry. pp99-120. 2006

3) Huan, H.Y., Pan, X.L., Fu, S.H., Wang, L., Li, M.H., Kurane, I. and Liang G.D.: Molecular characterization of full-length genome of Japanese encephalitis virus (02-76) newly isolated in China Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi. 20 (3): 203-208, 2006.

4) Saijo M, Niikura M, Ikegami T, Kurane I, Kurata T, Morikawa S: Laboratory diagnostic systems for Ebola and Marburg hemorrhagic fevers developed with recombinant proteins. Clinical and Vaccine Immunology 13:437-443, 2006

5) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S: Highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, lacking B5R membrane protein expression protects monkeys from monkeypox. Journal of Virology 80:5179-5188, 2006

6) Saijo M, George-Courbot MC, Fukushi S, Mizutani T, Philippe M, Georges AJ, Kurane I, Morikawa S: Marburgvirus nucleoprotein-capture enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies to recombinant nucleoprotein detection of authentic Marburgvirus. Japanese Journal of Infectious Diseases 59:323-325, 2006

7) Ikejiri M, Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Maruyama T: Anti-SARS-CoV activity of nucleoside analogs having 6-chloropurine as a nucleobase.

Nucleic Acids Symposium Series 50:113-114, 2006

8) Ikejiri M, Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Maruyama T: Synthesis and biological evaluation of nucleoside analogues having 6-chloropurine as anti-SARS-CoV agents. Bioorganic & Medical Chemistry Letters 17:2470-2473, 2007

9) Shirato K, Nishimura H, Saijo M, Okamoto M, Noda M, Tashiro M, Taguchi F: Diagnosis of human respiratory syncytial virus infections using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). Journal of Virological Methods 139:78-84, 2007

10) Ike F, Bourgade F, Ohsawa, K, Sato H, Morikawa,S., Saijo M, Kurane I, Takimoto K, Yamada YK, Jaubert J, Berard M, Nakata H, Hiraiwa, N, Mekada K, Takakura A, Itoh T, Obata Y, Yoshiki A, Montagutelli, X. : LCMV infection in a wild-derived mouse inbred strain undetected by dirty bedding sentinel health monitoring and revealed after embryo transfer. Comp. Med., 57(3):272-281, 2007.

11) Urata S, Noda T, Kawaoka Y, Morikawa,S., Yokosawa H, Yasuda J. : Interaction of Tsg101 with Marburg virus VP40 depends on the PPPY motif, but not the PT/SAP motif as in the case of Ebola virus, and Tsg101 plays a critical role in the budding of Marburg virus-like particles induced by VP40, NP, and GP. J Virol. 81(9):4895-9, 2007.

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

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

14) Obara M, Yoshii K, Kawata T, Hayasaka D, Goto A, Mizutani T, Kariwa H, Takashima I. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of tick-borne encephalitis using subviral particles. J Virol Methods. 2006. 134. 55-60.

15) 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 2006. 351:368-380.

16) Mizutani T, Fukushi S, Ishii K, Sasaki Y, Kenri T, Saijo M, Kanaji Y, Shirota K, Kurane I, Morikawa S. Mechanisms of establishment of persistent SARS-CoV-infected cells. Biochem Biophys Res Commun. 2006. 347:261-265.

17) Mizutani T. Overview on Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) In SARS 2006 (Edited by Tetsuya Mizutani). Transworld Research Network. 1-16. 2006.

18) Shirato K., Ujike M., Watanabe R., Mizutani T. SARS as an emerging disease In SARS 2006 (Edited by Tetsuya Mizutani). Transworld Research Network. 17-28. 2006.

19) Endoh D., Mizutani T., Saito H. Representational difference analysis of non-poly(A) RNA In SARS 2006 (Edited by Tetsuya Mizutani). Transworld Research Network. 157-. 2006.

20) Mizutani T. Signal Transduction in SARS-CoV-infected cells. (review) In Emerging Infectious Diseases. (S.K. Lai., Eds.) Ed. S. K. Lai, 1102: 86-95. Ann. N.Y. Acad. Sci.

21) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Kanaji Y, Kurane I, Taguchi F, Morikawa S. Evaluation of a Novel Vesicular Stomatitis Virus Pseudotype-Based Assay for Detection of Neutralizing Antibody Responses to SARS-CoV. J Med Virol.78, 1509-1512, 2006.

22) Yu F, Le MQ, Inoue S, Hasebe F, Parquet MD, Morikawa,S., Morita K. : Development of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assay ststem for severe acute respiratory syndrom coronavirus by using recombinant truncated nucleocapsid proteion as antigen. Clin Vaccine Immunol. 14(2):146-149, 2007.

23) Okada M, Okuno Y, Hashimoto S, Kita Y, Kanamaru N, Nishida Y, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Fukamizu R, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Kase T, Takemoto Y, Yoshida S, Peiris JS, Chen PJ, Yamamoto N, Nomura T, Ishida I, Morikawa,S., Tashiro M, Sakatani M. : Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models. Vaccine, 25(16): 3038-3040, 2007

24) Nagata, N, Iwata, N, Hasegawa, H, Fukushi, S, Yokoyama, M, Harashima, A, Sato, Y, Saijo, M, Morikawa,S., and Sata, T. : Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome in F344 rats infected with SARS coronavirus, J. Virol., 81(4):1848-57, 2006

25) Zamoto A, Taguchi F, Fukushi S, Morikawa S, Yamada YK. Identification of ferret ACE2 and its receptor function for SARS-coronavirus. Adv Exp Med Biol 581, 519-522, 2006.

26) Matsuyama S, Ujike M, Ishii I, Fukushi S, Morikawa,S., Tashiro M, and Taguchi F. : Enhancement of SARS-CoV infection by proteases. Adv. Exp. Med. Biol. 581:253-8, 2006.

27) 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., JSM Peiris, Daphne E. deMello, Pei-Jer Chen, Yamamoto N., Yoshinaka Y., Nomura T., Ishida I., Morikawa S., Tashiro M., and Sakatani M.: Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS Corona Virus using mouse and SCID-PBL/HU mouse models. Adv. Exp. Med. Biol. 581:593-6, 2006.

28) Ishii K., Hasegawa H., Nagata N., Mizutani T., Morikawa,S.., Tashiro M., Suzuki T., Taguchi F., Takemori T., Miyamura T. and Tsunetsugu-Yokota Y. (2006) Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Adv. Exp. Med. Biol. 581:593-6.

29) 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. Adv. Exp. Med. Biol. 581:515-8, 2006.

30) Fukushi S, Mizutani T.: Pseudotyped vesicular stomatitis virus for functional analysis of SARS coronavirus spike protein. Adv Exp Med Bio 581:293-296, 2006.

31) Mizutani T., Endoh D., Okamoto M., Shirato K., Shimizu H., Arita M., Fukushi S, Saijo M., Sakai K., Chang Kweng Lim, Ito M., Nerome R., Takasaki T., Ishii K., Suzuki T., Kurane I., Morikawa S., Nishimura H.: Rapid Genome Sequencing of RNA Viruses. Emerg Infect Dis. 13,322-324, 2007

32) Hamano M, Lim CK, Takagi H, Sawabe K, Kuwayama M, Kishi N, Kurane I, Takasaki T. Detection of antibodies to Japanese encephalitis virus in the wild boars in Hiroshima prefecture, Japan. Epidemiol Infect. 12,1-4, 2007

33) Wang HY, Takasaki T, Fu SH, Sun XH, Zhang HL, Wang ZX, Hao ZY, Zhang JK, Tang Q, Kotaki A, Tajima S, Liang XF, Yang WZ, Kurane I, Liang GD. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China. J Gen Virol. 88, 885-94, 2007

34) Azuma M, Nishioka Y, Ogawa M, Takasaki T, Sone S, Uchiyama T.: Murine typhus from Vietnam, imported into Japan. Emerg Infect Dis. 12(9):1466-8, 2006

35) Hoshino K, Isawa H, Tsuda Y, Yano K, Sasaki T, Yuda M, Takasaki T, Kobayashi M, Sawabe K.: Genetic characterization of a new insect flavivirus isolated from Culex pipiens mosquito in Japan. Virology 359(2):405-414, 2007

36) Itoda I, Masuda G, Suganuma A, Imamura A, Ajisawa A, Yamada K, Yabe S, Takasaki T, Kurane I, Totsuka K, Negishi M. Clinical features of 62 imported cases of dengue fever in Japan. Am J Trop Med Hyg. 75(3):470-474, 2006.

37) Eshita, Y., Takasaki, T., Takashima, I., Komalamisra, N., Ushijima, H., and Kurane, I. : Vector competence of Japanese mosquitoes for dengue and West Nile viruses (III. Biology, Natural Products and Biotechnology). In: Pesticide Chemistry. Crop Protection, Public Health, Environmental Safety, (Edited by Ohkawa, J. , Miyagawa, H. and Lee, P.W.), Wiley-VCH, Weinheim, pp.217-225, 2007

38) Dieng H., Boots M., Tamori N., Satoh T., Higashihara J., Okada T., Kato K., Komaramisra N., Ushijima H., Takasaki T., Kurane I., Eshita Y. : Effects of food, embryo density and conspecific immatures on hatchability in dengue vector Aedes albopictus. House and Household Insect Pests 28(2): 117-127, 2007

39) 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

40) Gotoh E. and Durante M.: Chromosome condensation outside of mitosis: Mechanisms and new tools. Journal of Cellular Physiology. 209(2):297-304 and Front Cover Page, 2006

41) Tanno, Y., Kobayashi, K., Tatsuka, M., Gotoh, E.and Takakura, K.: Mitotic arrest caused by an x-ray microbeam in a single cell expressing egfp-aurora kinase B. Radiation Protection and Dosimetry. 122: 301-306, 2006

42) Nakamichi, K., Saiki, M., Kitani, H., Kuboyama, Y., Morimoto, K., Takayama-Ito, M., Kurane, I.: Suppressive effect of simvastatin on interferon-beta-induced expression of CC chemokine ligand 5 in microglia. Neuroscience Letters. 407(3): 205-210, 2006

43) Nakamichi, K., Saiki, M., Kitani, H., Kuboyama, Y., Morimoto, K., Takayama-Ito, M., Kurane, I.: Roles of NF-kappaB and MAPK signaling pathways in morphological and cytoskeletal responses of microglia to double-stranded RNA. Neuroscience Letters. 414(3): 222-227, 2007

44) Takayama-Ito, 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 arginine at position 333 in glycoprotein. Virus Research. 119(2): 208-215, 2006

45) Yamada, K., Ito, N., Takayama-Ito, M., Sugiyama, M., Minamoto, N.: Multigenic relation to the attenuation of rabies virus. Microbiology and Immunology. 50(1): 25-32, 2006

46) Krug, L.T., Teo, C.G., Tanaka-Taya, K., and Inoue, N. Newly identified human herpesviruses. pp. 197-276. *In:* (Eds) Fong, I.W., Alibek, K. Emerging Infectious Diseases of the 21st Century. Springer, NY. 2006.

47) Wang, G..Q., Suzutani, T., Yamamoto, Y., Fukui, Y., Nozawa, N., Schmid, D.S., Kurane, I. and Inoue, N.: Generation of a reporter cell line for the detection of infectious varicella-zoster virus and its applications for antiviral studies. Antimicrob Agents Chemother. 50:3142-45, 2006.

48) Ogawa, H., Baba, Y., Suzutani, T., Inoue, N., Fukushima, E., and Omori, K. Congenital cytomegalovirus infection diagnosed by polymerase chain reaction with the use of preserved umbilical cord in sensorineural hearing loss children. Laryngoscope. 116:1991-4, 2006.

49) Ogawa, H., Suzutani, T., Baba, Y., Koyano, S., Nozawa, N., Ishibashi, K., Fujieda, K., Inoue, N. and Omori, K.: Etiology of severe sensorineural hearing loss in children: independent impact of congenital cytomegalovirus infection and GJB2 mutations. J Infect Dis. 195:782-88, 2007

50) Katano, H., Sato, Y., Tsutsui, Y., Sata, T., Maeda, A., Nozawa, N., Inoue, N., Nomura, Y. and Kurata, T.: Pathogenesis of cytomegalovirus-associated labyrinthitis in a guinea pig model. Microbes Infect. 9:183-91, 2007

51) Kumar, N., McLean, K., Inoue, N., Moles, D.R., Scully, C., Porter, S.R., and Teo, C.G. Human herpesvirus 8 genoprevalence in populations at disparate risks of Kaposi's sarcoma. J Med Virol. 79:52-9, 2007.

52) 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 Journal of Virology. 80, 1979-1991, 2006

53) Shimakage, M. Harada, S., Kawahara, K., Oka, T., Yanoma, S., Horii, K., Sasagawa, T.: Detection of Epstein-Barr virus antigen leader protein expression in various cancers. New Developments in Epstein-Barr virus research, C.S.Umar ed. Nova Science pub. p261-276, 2006

54) Nakashima,K.,Tanaka, T., M,H,Kramer, Takahashi,H., Ohyama,T., Kishimoto,T., Toshima,H., Miwa,S., Nomura,A., Tsumura,N., Ouchi,K., Okabe,N.:Outbreak of *Chlamydia pneumoniae* Infection in a Japanese Nursing Home,1999-2000.Infection Control and Hospital Epidemiology, 27;1170-1177,2006

55) Kawabata, H., Ando, S., Kishimoto, T., Kurane, I., Takano, A., Nogami, S., Fujita, H., Tsurumi, M., Nakamura, N., Sato, F., Takahashi, M., Ushijima, Y., Fukunaga, M., Watanabe, H. : First Detection of *Rickettsia* in Soft-Bodied Ticks Associated with Seabirds, Japan. Microbiology and. Immunology., 50: 403-406, 2006

56) Iwai, M., Nakayama, T., Matsuura, K., Hasegawa, S., Ando, S., Obara, M., Nagai, Y., Yoshida, H., Horie, H. : Assesment of Efficacy of a Live Oral Poliovirus Vaccine for Virulent Sable-like Poliovirus 1 Strains in Japan. Acta virologica, 50: 139-143, 2006

57) Ouchi, K., Endo,M., Okazaki, A., Komura, H., Miyashita, N., Yamazaki, T., Ando, S., Kishimoto, T. Typing of *Chlamydophila pneumoniae*. Chlamydial Infection, Max Chernesky et. al. (ed.), 37-40, 2006

58) Kaibu, H., Iida, K., Ueki, S., Ehara, H., Shimasaki, Y., Watanabe S., Anzai, H., Takebu, W., Muta, T., Kusaba, T., Kishimoto, T., Ando, S. : Psittacosis in all four members of a family in Nagasaki, Japan. Japanese Journal Infectious Disease, 59: 349-350, 2006

59) Lee, K. J., Kwon S. J., Choi, B. R., Bae, S. M., Kishimoto, T., Ando, S., Mashida, C., Lee Y.H., Oh, H.B., Kim, K.S. : Outbreak of respiratory tract infections on an islet in Korea: possible *Chlamydia pneumoniae* infections. Japanese Journal Infectious Disease, 59: 294-298, 2006

60) Kim, W.J., Hahn, T.W. Kim, D.Y., Lee, M.G., Jung, K.S., Ogawa, M., Kishimoto, T., Lee, M.E., Lee, S.J.: Seroprevalence of *Coxiella burnetii* Infection in Dairy Cattle and Non-symptomatic People for Routine Health Screening in Korea. Journal of Korean Medical Science. 21 (5): 823-826, 2006

61) Ogawa, M., Matsumoto, K., Parola, P., Raoult, D., Brouqui, P.: Expression of RompA and RompB protein in *Rickettsia massiliae* during *Rhipicephalus turanicus* life cycle. Annal NewYork Academic Science 1078: 352-356, 2006

62) Azuma, M., Nishioka, Y., Ogawa, M., Takasaki, T., Sone,

S., Uchiyama, T.: Murine typhus from Vietnam, imported into Japan. Emerging Infectious Disease 12(9): 1466-1468, 2006
63)Hoshida,S.,Nishino,M.,Tanouchi,J.,Kishimoto,T.,Yamada, Y.: Acute *Chlamydia pneumoniae* infection with heat shock protein 60-related response in patients with acute coronary syndrome. Atherosclerosis 183: 109-112, 2005

2．和文発表

1）倉根一郎:開発中の日本脳炎ワクチン　小児科　47：321-525，2006
2）林昌宏,倉根一郎:ウエストナイル熱・脳炎の流行状況　臨床と微生物　33(4)：393-398，2006
3）倉根一郎:ウエストナイル熱とウエストナイル脳炎　脳と神経　58(1)：542-552，2006
4）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
5）西條政幸:根絶されたはずの天然痘の今．小児科臨床 60:149-154，2006
6)西條政幸:ウイルス講座　天然痘.感染制御 2:342-346，2006
7）西條政幸:クリミア・コンゴ出血熱．日本臨床65（臨時増刊3）：322-324，2007
8）西條政幸:ラッサ熱．日本臨床65（臨時増刊3）：40-43，2007
9）森川茂:SARSコロナウイルス検査法の進展　化学療法の領域（医薬ジャーナル社）22(12)：39-46，2006
10）森川茂:サル痘　新感染症学（日本臨床），65(suppl 3)：150-153，2007
11）森川茂:マールブルグ病新感染症学（日本臨床），65(suppl 3)：35-39，2007
12）水谷哲也:第 III 部　治療における最近の新薬（薬効別）の位置付け ～新薬の広場～ワクチン．新薬展望 2006．143-147．2006．医薬ジャーナル社
13）石井孝司，水谷哲也：SARSコロナウイルス研究の最前線　「医学のあゆみ」2006．218．839-844　医歯薬出版
14）林　昌宏,高崎智彦：特集　ウイルス性疾患の動向と最近の治療「ウエストナイル熱・脳炎　－北米での爆発的な流行拡大と感染経路・予防について－」．クリニカ 34(3)，162-166，2007
15）水野泰孝,高崎智彦:話題の疾患と治療「旅行者とデング熱」．感染・炎症・免疫　37(2),183-185，2007
16）高崎智彦:ウイルス感染症 UPDATE「ウエストナイルウイルス感染の拡大」.医学のあゆみ　218(10) 849-854，2006
17）高崎智彦:ウエストナイル熱・脳炎　日本臨床 65．98-103，2007
18）高崎智彦:デング熱・デング出血熱　日本臨床 65．117-121，2007
19)澤邊京子,佐々木年則,星野啓太,伊澤晴彦,小滝　徹,伊藤美佳子,高崎智彦,江下優樹,小林睦生:日本国内における蚊からのウエストナイルウイルス検出法の検討. Med.Entomol．Zool．57(4):279-286，2006
20）細川隆史,中嶋秀人,高崎智彦,杉野正一,木村文治,花房俊昭: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．臨床神経学　47,109-111,2007
21）高崎智彦:ウイルス性肝炎と血液媒介性感染症．医療･福祉系学生のための専門基礎科目(金芳堂)p.509-513 2007
22）高崎智彦:神経系感染症．医療・福祉系学生のための専門基礎科目（金芳堂）p.517-520　2007
23）高崎智彦:創傷感染症．医療・福祉系学生のための専門基礎科目（金芳堂）p.521-525　2007
24）高崎智彦,伊藤美佳子:鳥類と感染症．保全鳥類学[山階鳥類研究所編、山岸哲 監修]（京都大学学術出版会）p.313-320
25）原田志津子:EBV と細胞内シグナル伝達　「ヘルペスウイルス学」日本臨床 64 巻　増刊号　ｐ.552-557、2006 年
26）岸本寿男，安藤秀二，小川基彦:検査結果の見方　抗体検査結果の判定法－クラミジア．ベットサイドで役立つ微生物検査ガイド，ｐｐ401-404，文光堂，2006 年 7 月
27）岸本寿男，安藤秀二:新しい臨床検査・未来の臨床検査　各論　感染症検査　抗クラミジア・ニューモニエ IgM 抗体．検査と技術，34：1261-1262，2006 年 11 月
28）岸本寿男，安藤秀二，小川基彦:非定型肺炎の治療－クラミジア肺炎.Medical Practice，23：1953-1957，2006 年 11 月
29)安藤秀二，岸本寿男:バイオテロリズムとダニ媒介性感染症．柳原保武監修.高田伸弘ほか編 全国農村教育協会,249-255，2007 年 3 月
30）安藤秀二，岸本寿男:伝染病予防法から感染症法へ．柳原保武監修.高田伸弘ほか編全国農村教育協会,33-37，2007 年 3 月
31)岸本寿男，安藤秀二，小川基彦:Q 熱の現状と課題．柳原保武監修.高田伸弘ほか編全国農村教育協会,205-217，2007 年 3 月
32）岸本寿男，安藤秀二:肺炎クラミジア，日本臨床，

Sp.3：428-432，2007 年 3 月
33）岸本寿男，安藤秀二:オウム病，日本臨床，Sp.3：188-191，2007 年 3 月
34）岸本寿男，安藤秀二:クラミジアの病原因子，日本臨床，Sp3：458-463,2007 年 3 月
35）岸本寿男:オウム病,今日の治療指針,医学書院,140-141,2006 年 1 月
36）岸本寿男,安藤秀二:リケッチア感染症,小児科診療,診断と治療社,69:169-172,2006 年 4 月
37)岸本寿男,佐藤　梢,井上美由紀,山口徹也,山崎　勉:肺炎クラミジア,図説呼吸器系細菌感染症疫学・診断・治療,佐々木次雄編,じほう,79-104,2006 年 11 月
38）正木明夫，安藤秀二，堀元栄嗣，松浦久美子:当医院における最近５シーズンのインフルエンザ発生状況 Epidemiological and virological investigation on influenza during five (2000/01～2004/05) in Masaki pediatric clinic (Toyama)　小児感染免疫，18，3-17，2006
39）大口純人,岸本寿男：虚血性心疾患のリスクファクター　基礎病態である動脈硬化の危険因子、感染症・喫煙・ホモシスチン　The Lipid: 17，229-235，2006 年 7 月

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1) Saijo　M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Highly attenuated vaccinia vaccine, LC18m8, lacking B5R membrane protein expression protects monkeys from monkeypox. 12th International Conference of Infectious Diseases. Lisbon, Portugal, June 2006

2) Yokote H, Shinmura Y, Satou A, Kanehara T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, Kurata T, Hashizume S. Safety and efficacy of attenuated smallpox vaccine LC16m8 in animals. 12th International Conference of Infectious Diseases. Lisbon, Portugal, June 2006

3) Saijo M, Georges-Courbot MC, Fukushi S, Mizutani T, Marianneau P, Georges AJ, Kurane I, Romanowski V, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein-base diagnosis of Lassa fever-antibody and antigen detection systems. Filoviruses: Recent advances and future challenges, An ICID global conference. Winnipeg, Canada, September 2006

4) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M,　Fukushi S,　Mizutani T,　Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Difference in pathogenesis of monkeypox virus (MPXV) in nonhuman primates between MPXV Zr-599 (Congo Basin) and Liberia (Western Africa) strains. US-Japan Cooperative Medical Science Program 40th Virology Panel Meeting. Sendai, Japan, June 2006

5) Shinmura Y, Sasaki T, Matsui H, Kuranaga M, Yokote H, Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Hashizume S. Investigation into the protection of attenuated smallpox vaccine LC16m8. 5th ASM Biodefence Research Meeting. Washington DC, February 2006

6) Yokote H, Kanehara T, Satou A, Nagai C, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, Hashizume S. Establishment of PRNT method for smallpox vaccine. 5th ASM Biodefence Research Meeting. Washington DC, February 2006

7) Watanabe, R., Maejima, M., Fukushi, S., Matsuyama, S., Morikawa, S., and Taguchi, F. Cleavage of spike protein defines the entry pathway of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV). Keystone Symposia, Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Singapore. December 10-15, 2006.

8) Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Harashima, A., Sato, Y., Fukushi, S., Saijo,　M., Morikawa, S., and Sata, T. Animal models of severe acute respiratory syndrome using rodent-passaged SARS-CoV. Keystone Symposia, Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Singapore. December 10-15, 2006.

9) Fukushi, S., Mizutani, T., Sakai, K., Saijo, M., Kurane, I., and Morikawa, S. Amino acid substitutions on S2 region responsible in enhancement of SARS-CoV infection to rat ACE2-expressing cells. Keystone Symposia, Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Singapore. December 10-15, 2006.

10) Morikawa, S., Saijo, M., Qing, T., and Kurane, I. A diversity of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in China. The 1st Thailand-Japan Joint Forum on Infectious Diseases. Thailand, 29-30 Jan 2007.

11) Tajima, S., Nukui, Y., Takasaki, T. and Kurane, I.: Role of variable region of 3' NTR in dengue type 1 virus replication. 40th Joint Working Conference on Viral Diseases. Sendai. July 24-26, 2006.

12) Tajima, S., Nukui, Y., Takasaki, T. and Kurane, I: Characterization of the variable region in the 3' NTR of dengue virus type 1. The 1st Thailand-Japan Joint Forum on Infectious Diseases. Bangkok, Thailand. January 29-30, 2007.

13) Morimoto, K.: Rabies situations in the world - the virus structure, pathogenesis, diagnosis and control. Conference on

rabies control in China. Nanjing, China. May 10, 2006

14) Morimoto, K.: Rabies detection. Academic conference on Rabies in 2006. Beijing, China. October 26, 2006

15) Wang, G.Q., Suzutani, T., Yamamoto, Y., Fukui, Y., Nozawa, N., Schmid D.S., Kurane, I. and Inoue, N.: Generation of a reporter cell line for the detection of infectious varicella-zoster virus and its applications for antiviral studies. 31st International Herpesvirus Workshop. Seattle, USA., July 22-28, 2006

16) Inoue, N., Suzutani, T., Ogawa, H., Koyano, S., Baba, Y., Yamamoto, Y., Inami, Y., Nozawa, N., Omori, K., Fujieda, K. and Kurane, I.: Epidemiology of congenital CMV infection in pediatric patients with severe sensorineural hearing loss: prevalence, viral loads, and genotypes. 31st International Herpesvirus Workshop. Seattle, USA., July 22-28, 2006

17) Kuremiya, E., Ishibashi, K., Nishimura, H., Inoue, N., Kaneko, H., Suzutani, T. Design of molecular diagnostic methods in a highly conserved region in the human cytomegalovirus (HCMV) glycoprotein H gene. 31st International Herpesvirus Workshop. Seattle, USA., July 22-28, 2006

18) Harada, S.: Epstein-Barr virus nuclear protein EBNALP is critical for maintaining lymphoblastoid cell line growth. The 12th biennial conference of the International Association for Research on Epstein-Barr virus. Boston, USA July, 2006

19) Kitamura, R., Sekimoto, T., Ito, S., Harada, S., Yoneda, Y., Yanagi, K.: Phosphorylation of the nuclear localization signal of EBNA-1 up- and down regulates its nuclear import mediated by importin alpha5. The 12th biennial conference of the International Association for Research on Epstein-Barr virus. Boston, USA July, 2006

20) Ando, S., Shigematsu, M., Ogawa, M., Kishimoto, T.: Trend of Tsutsugamushi Disease in Japan. The 12th International Congress on Infectious Disease, Lisbon, Port ugal, June 15-18, 2006

21) Ouchi, K., Endo,M., Okazaki, A., Komura, H., Miyashita, N., Yamazaki, T., Ando, S., Kishimoto, T.: Typing of *Chlamydophila pneumoniae*. The 11th International Symposium on Human Chlamydial Infections, Ontario, Canada, Hune June 18-23, 2006

2．国内学会

1）西條政幸：バイオテロ病原体としての出血熱ウイルスおよび痘そうウイルス感染症の診断法の開発．第80回日本感染症学会総会・学術総会，東京，2006年4月

2）池尻昌宏，西條政幸，森川茂，福士秀悦，水谷哲也，倉根一郎：6-クロロプリンを塩基とした核酸誘導体のSARS-CoV抑制作用．第16回抗ウイルス化学療法研究会．福島市，2006年5月

3）永田典代，岩田奈織子，長谷川秀樹，福士秀悦，西條政幸，森川茂，佐藤由子，佐多徹太郎：マウス，ラット順化SARS-CoVを用いたSARS発症動物モデルの作製．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

4）西條政幸，網康至，須崎百合子，永田典代，岩田奈織子，長谷川秀樹，緒方もも子，福士秀悦，水谷哲也，倉根一郎，佐多徹太郎，倉田毅，森川茂：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．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

5）西條政幸，錫谷達夫，水田克巳，倉根一郎，森川茂：チミジンリン酸化酵素遺伝子の1番目と45番目のコドンに存在するメチオニンの間に終始コドンが存在するHSV-1の薬剤感受性．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

6）木所稔，西條政幸，網康至，須崎百合子，永田典代，岩田奈織子，長谷川秀樹，緒方もも子，福士秀悦，水谷哲也，志田壽利，田代眞人，佐多徹太郎，倉根一郎，倉田毅，森川茂：改良痘そうワクチン株m8Δのカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

7）石岡顕，福永永子，佐藤友香，橋本浩一，石橋啓，西條政幸，錫谷達夫：HSV-1変異株がIFN感受性となるメカニズム．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

8）渡辺理恵，前島雅美，福士秀悦，松山州徳，森川　茂，田口文広：SARSコロナウイルス解裂性スパイク蛋白を持つpseudotypeウイルスの細胞内侵入機構に関する研究 第５４回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月

9）福士秀悦，水谷哲也，酒井宏治，西條政幸，緒方もも子，倉根一郎，森川　茂： ラットACE2発現細胞で継代したSARS-CoVのS遺伝子変異 第５４回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月

10）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，ラット馴化SARS-CoVを用いたSARS発症動物モデルの作製 第５４回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月

11）氏家　誠，福士秀悦，森川　茂，田口文広：SARS-CoVスパイク（Ｓ）蛋白質のCys-rich領域は細胞間融合及びウイルス細胞侵入活性に重要な働きを持つ 第５４回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月

12）座本　綾，福士秀悦，田口文広，森川　茂，山田靖子：フェレットACE2とSARS-CoV S蛋白質の親和性の解析　第５４回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月
13）水谷哲也，福士秀悦，見理 剛，佐々木裕子，遠藤大二，座本 綾，西條政幸，緒方もも子，倉根一郎，森川 茂：Mycoplasma fermentansとSARS-coronavirusの共感染が細胞に及ぼす影響　第33回マイコプラズマ学会，東京　2006年6月
14）水谷哲也，遠藤大二，白戸憲也，岡本道子，渡辺理恵，福士秀悦，西條政幸，倉根一郎，石井孝司，鈴木哲朗，清水博之，高崎智彦，森川茂，西村秀一：　新興・再興感染症に備えた迅速な網羅的ウイルスゲノム検出方法　第42回日本獣医学会，山口　2006年9月
15）水谷哲也，福士秀悦，石井孝司，西條政幸，緒方もも子，遠藤大二，座本 綾，倉根一郎，森川 茂：SARS-coronavirus とMycoplasma fermentansの共感染が細胞に及ぼす影響．第54回日本ウイルス学会，愛知　2006年11月
16）水谷哲也：教育講演・獣医師から見た国際感染症の驚異と対策　ーSARSを例としてー．第5回東北国際保健研究会，福島　2006年4月
17）水谷哲也：特別講演・新興・再興ウイルスの網羅的検出方法．第13回トガ･フラビ･ペスチウイルス研究会，東京　2007年1月
18）田島茂,根路銘令子,高崎智彦,倉根一郎：日本脳炎ウイルス genotype 1完全長cDNAクローンの作製とウイルス産生系の確立　第４１回日本脳炎ウイルス生態学研究会　長崎　2006年5月26-27日
19)高崎智彦,小滝徹,根路銘令子,林　昌宏,伊藤美佳子,田島茂,倉根一郎,松井　真,中村龍文,阿部康ニ,寺田喜平,中嶋秀人,国重誠：本邦の原因不明脳炎・無菌性髄膜炎における日本脳炎ウイルス関与に関する回顧的調査．第41回日本脳炎ウイルス生態学研究会　長崎　2006年5月26-27日
20）町田早苗,名和　優,伊藤美佳子,高崎智彦,倉根一郎：IgA抗体捕捉酵素免疫吸着測定法による日本人デング熱患者の血清診断.第41回日本脳炎ウイルス生態学研究会　長崎　2006年5月26-27日
21）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,高崎智彦,小林睦生,澤邊京子：本邦生息蚊類が保有するフラビウイルスの検出および性状解析．第41回日本脳炎ウイルス生態学研究会　長崎　2006年5月26-27日
22）田島茂,貫井陽子,高崎智彦,倉根一郎：デング１型ウイルス3’NTR内variable領域のウイルス増殖における役割　第５４回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2006年11月19-21日
23)貫井陽子,田島茂,小滝徹,根路銘令子,高崎智彦,倉根一郎：日本脳炎ウイルス genotype 1型完全長cDNAクローンの作製とウイルス産生系の確立　第５４回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2006年11月19-21日
24）加藤廣幸,羽田野善郎,水野泰孝,上田晃弘,源河いくみ,川名明彦,金川修造,原田文植,高崎智彦,倉根一郎,狩野繁之,岡慎一,木村哲,工藤宏一郎：フラビウイルスIgM抗体が偽陽性となった熱帯熱マラリアの一例.第80回日本感染症学会　東京　2006年4月20-21日
25）井戸田一朗,井上康子,伊藤美佳子,高崎智彦,倉根一郎,戸塚恭一,鳴門弘：ミクロネシア連邦ヤップ州に在住する日本人におけるデング熱発生状況について．第80回日本感染症学会　東京　2006年4月20-21日
26）原田文植,高崎智彦,高木弘隆,林昌宏,伊藤美佳子,倉根一郎：日本人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.第80回日本感染症学会　東京　2006年4月20-21日
27)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：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研究.第54回日本ウイルス学会　名古屋　2006年11月19-21日
28）町田早苗,名和優,山城哲,西園晃,高崎智彦,倉根一郎：マウス樹上細胞株Jaws II細胞を用いたデングウイルス感染機構の解析.第54回日本ウイルス学会　名古屋　2006年11月19-21日
29)井本淳一,石川知弘,村上賢二,林昌宏,濱野正敬,高崎智彦,倉根一郎,小西英二：ブタにおける日本脳炎DNAワクチンおよびタンパクワクチンの混合投与による中和抗体の誘導．第５４回日本ウイルス学会学術集会　名古屋　2006年11月19-21日
30)名和優,町田早苗,高崎智彦,田島茂,原田文植,水野泰孝,加藤康幸,倉根一郎：デングウイルス感染の抗体検査：患者尿中よりIgA，IgM抗体の検出．第13回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会　東京　2007年1月19日
31)高崎智彦,小滝徹,原田文植,西村聖美,水野泰孝,加藤康幸,工藤宏一郎,倉根一郎：デング熱患者における尿および唾液中のデングウイルス遺伝子検出．第13回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会　東京　2007年1月19日
32）Guan-Qing Wang,福井良子,錫谷達夫,古谷野伸,山本由美子,柳舞美,野澤直樹,倉根一郎,井上直樹：ヒトサイ

トメガロウイルス及び水痘帯状疱疹ウイルスの力価を迅速に測定できるレポーター細胞株の樹立及びその抗ウイルス剤評価への応用　第 16 回抗ウイルス化学療法研究会　福島　2006 年 5 月 26-27 日

33）山本和歌子,野澤直樹,古谷野伸,山本由美子,倉根一郎,井上直樹：　乾燥臍帯および Guthrie 紙乾燥血液を用いた低出生体重児 CMV 感染症例の感染経路の推定　第 21 回ヘルペスウイルス研究会　岐阜　2006 年 6 月 8-10 日

34）井上直樹,野澤直樹,山本由美子,稲見有希,Vladimir Loparev,倉根一郎：　LightCycler による Tm 値解析を応用した水痘ワクチンの品質管理　第 21 回ヘルペスウイルス研究会　岐阜　2006 年 6 月 8-10 日

35）野澤直樹,古谷野伸,倉根一郎,井上直樹：　尿・唾液などの液体試料を塗布した濾紙片を直接使用したリアルタイム PCR 法の開発:尿中の CMV 検出を実例として　第 54 回日本ウイルス学会　名古屋　2006 年 11 月 19-21 日

36)顔海念,古谷野伸,錫谷達夫,野澤直樹,倉根一郎,牛島廣治,井上直樹：　先天性及び後天性感染においてサイトメガロウイルス遺伝子型に差はあるか？　第 54 回日本ウイルス学会　名古屋　2006 年 11 月 19-21 日

37)片野晴隆,佐藤由子,筒井祥博,佐多徹太郎,前田明彦,野澤直樹,井上直樹,倉田毅：　モルモットサイトメガロウイルスを用いた実験的ウイルス性内耳障害　第 54 回日本ウイルス学会　名古屋　2006 年 11 月 19-21 日

38)福島永子,石橋啓,西村秀一,井上直樹,金子久俊,石岡賢,錫谷達夫：サイトメガロウイルス（HCMV）の分子診断に適した多型の少ない遺伝子領域の同定と応用　第 54 回日本ウイルス学会　名古屋　2006 年 11 月 19-21 日

39)石橋啓,井上直樹,福島永子,橋本浩一,金子久俊,石岡賢,錫谷達夫:サイトメガロウイルスにおける抗糖タンパク H 抗体の測定　第 54 回日本ウイルス学会　名古屋　2006 年 11 月 19-21 日

40）島影美鈴,河原邦光,笹川寿之,原田志津子,岡聖次,新家俊明：腎細胞癌と nephroblastoma における Epstein-Barr ウイルスの発現　第 65 回日本癌学会総会　横浜　2006 年 9 月

41）岸澤有華, 渡部直己, 小熊豊, 安藤秀二, 岸本寿男, 三好正浩：非常に高力価の血清抗体価を呈し肝生検が診断の契機となった急性Q熱症例.第80回日本感染症学会, 東京, 2006 年 4 月 20 日

42）安藤秀二：バイオセーフティの基礎と実践-微生物を安全に扱うために-埼玉県臨床衛生検査技師会公衆衛生検査研究班・微生物検査研究班研修会, 大宮市, 2006年4月28日

43）安藤秀二：クラミジア肺炎の現状と課題. 衛生微生物協議会第27回研究会, 札幌, 2006年6月29-30日

44）三好正浩, 後藤明子, 山野公明, 本間寛, 菊池志帆, 有澤有華, 上野弘志, 安藤秀二, 岸本寿男：国内感染が疑われた急性 Q熱の一症例とその疫学調査から得られた知見について.衛生微生物協議会第27回研究会, 札幌, 2006年6月29－30日

45）安藤秀二, 篠原克明, 杉山和良：微生物検査室における管理について, 長野県臨床検査技術研修会, 長野市, 2006年7月14日

46）安藤秀二：バイオセーフティの実際-ソフト面.BMSAバイオセーフティ技術講習会主任管理者コース, 2006年　8月30日

47）安藤秀二, 坂田明子, 佐藤 梢, 小川基彦, 藤田 修, 堀田明豊, 宇田晶彦, 棚林 清, 百田隆祥, 小島 禎, 池戸正成, 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3報). 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

48）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：肺炎クラミジアの血清診断におけるIgMの課題ヒタザイムC.ニューモニエIgMの診断基準見直し(第2報).第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

49）飯島義男, 秋吉京子, 大石英明, 田中忍, 貫名正文, 伊藤正寛, 春川恒和, 福士秀人, 安藤秀二, 岸本寿男：トリ展示施設におけるオウム病集団発生例. 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

50）和田耕一郎, 上原慎也, 狩山玲子, 門田晃一, 松本明, 公文裕巳, 村尾航, 藤原道久, 福士秀人, Rajesh Chahota, 柳陳堅, 蔡燕, 安藤秀二, 小川基彦, 岸本寿男：男性尿道炎及び子宮頚管炎患者から高頻度に分離される*Chamydophila cavie*類似株に関する検討. 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

51）遠藤雅子, 尾内一信, 岡崎旭美, 古村速, 宮下修行, 山崎勉, 安藤秀二, 岸本寿男：*Chlamydia pneumoniae*のタイピングに関する研究(第4報), 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

52）須藤広誠, 金地伸拓, 坂東修二, 永村徳浩,

岸本寿男，安藤秀二，坂田明子,佐藤　梢,石田俊彦：家族内発症したオウム病の3例，第95回日本内科学会四国地方会，松山市，2006年11月

53）平野由紀，柴原浩章，島田和彦，安藤秀二，小川基彦，岸本寿男，山崎 勉，高橋敬一，鈴木光明：クラミジア・トラコマティスによる卵管性不妊症モデルマウスの作製．19 回日本性感染症学会，金沢市，2006 年 12 月

54）安藤秀二：バイオセーフティの概論及び対策，独立行政法人製品評価技術基盤機構研修会,千葉県木更津市,2006 年 12 月

55）松井珠乃,佐藤 弘,岡部信彦,安藤秀二,岸本寿男,坂崎善門,尹浩信：熊本県内の皮膚科医におけるつつが虫病・日本紅斑熱サーベイランス.日本皮膚科学会第 190 回熊本地方会,熊本市,2006 年 12 月

56）安藤秀二：バイオセーフティ概論と実際-微生物を安全に扱うために-衛生微生物技術協議会九州ブロック技術研修会,熊本市,2007 年 1 月

57）安藤秀二：日本のリケッチア感染症の現状－日本紅斑熱を中心に－平成 18 年度希少感染症診断技術研修会，東京都，2007 年 2 月

58）蔡 燕，野村彩朱，矢野竹男，内田浩二，中尾義喜，岸本寿男，安藤秀二，福士秀人：*Chlamydophila psittaci* 感染細胞を用いた間接蛍光抗体法（IFA）のオウム病血清診断における臨床応用，臨床化学学会近畿地区学術研究報告会　2006 年 10 月

2．ウイルス第二部

部長 脇田隆字

概　要

平成18年4月1日に宮村達男前部長の後任として脇田隆字が部長に着任した。また、Grant S．Hansmanが研究員として平成18年10月1日に採用された。

ウイルス第二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定、検査である。本年は小分製品１件の検定をおこなった。また、WHO世界ポリオ根絶計画の進展に伴い、わが国では不活化ポリオワクチン導入が喫緊の課題である。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おり、その免疫原性について研究をおこなった。

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進展した。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。平成 18 年末から 19 年にかけての大流行は記憶に新しい。ノロウイルスは食品を介する伝播のみならず、ヒトーヒトの伝播が可能なウイルスであることが明らかとなってきた。また、新たな下痢症ウイルスであるサポウイルスの研究も進んだ。

E型肝炎ウイルスの研究が進んだ。ウイルス中空粒子を用いた感度の良い診断系の確立により、人畜共通感染症として位置づけられたE型肝炎ウイルスの野生動物における感染状況の調査が進んだ。また、感染モデルの開発が進みつつあり、その解析が期待される。

第２室はWHO世界ポリオ根絶計画に参画している。WHOの指定をうけて、世界の特殊専門ラボとして、また西太平洋地域の指定レファレンスラボとして世界各地で分離されるポリオウイルスの性状解析を続けた。ポリオウイルスの根絶計画はいよいよ最終段階だが、ナイジェリアなどの国でいまだに伝播する野生株ウイルスの解析と、ワクチン変異株の解析をおこなっている。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。さらに、ポリオウイルス根絶後の野生株実験室封じ込めに関する準備をおこなっている。また、国内エンテロレファレンスセンターとしてレファレンス活動、依頼検査をおこなった。

第３室及び第４室ではC型肝炎ウイルスの研究をおこなった。ウイルス培養系を用いた研究が進み、ウイルスのライフサイクルの詳細な解析をおこなった。また、予防的ワクチンの開発のための基礎研究が進んだ。

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１件、B型肝炎ワクチン８件の検定をおこなった。また、A型肝炎ウイルスに関する研究が進行している。

また、平成 19 年 3 月 6 日から 7 日、感染研において「3rd Expert Working Group Meeting on Hepatitis B」を主催し、西太平洋地域における B 型肝炎ワクチン接種について議論した。

各室で以下のような国際的技術協力をおこなった。

1. Rowena Bull（オーストラリア、ニューサウスウェールズ大学）＜ニューサウスウェールズ大学フェロー＞平成18年4月1日～平成18年7月31日、ノロウイルスの分子生物学的研究
2. Nguyen Thi Thanh Thao（ベトナム、パスツール研究所）<JSPS フェロー> 平成 18 年 12 月 2 日～平成 18 年 12 月 29 日、エンテロウイルス 71 感染症の血清疫学および分子疫学に関する研究
3. Ong Kien Chai（マレーシア、マラヤ大学））<マラヤ大学フェロー> 平成 18 年 9 月 20 日～平成 18 年 10 月 18 日、エンテロウイルス 71 マウス分離株の塩基配列解析
4. 凌　華(中国、重慶市疾病予防控制センター）<笹川フェロー> 平成 18 年 4 月 6 日～平成 19 年 3 月 31 日、C 群エンテロウイルスの血清型の解析
5. 李　津（北京生物製品研究所）＜日中笹川医学研究者制度第 28 期研究者＞平成 18 年 4 月 1 日～平成 19 年 3 月 31 日． C 型肝炎ウイルス粒子形成機構及びワクチン開発に関する基盤研究

研究費としては、経常研究費の他に厚生労働科学研究費補助金、ヒューマンサイエンス振興財団、文科省科学研究費等の援助を受けた。

片山和彦主任研究官は平成 17 年 6 月よりノロウイル

スの分子生物学の研究のため米国ベイラー大学に、鈴木亮介研究員は平成17年10月よりフラビウイルスの感染増殖機構の研究のため米国テキサス大学ガルベストン校に、下池貴志主任研究官は平成17年5月よりC型肝炎ウイルスの翻訳開始機構を解析するため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）組換え粒子（VLPs)を用いた消毒薬の評価系の構築

ノロウイルスに対する不活化剤の探索、効果検証を行うための評価法について検討する目的で、昆虫細胞で発現させたノロウイルスVLPと市販塩素系消毒剤を異なる濃度、時間で反応させた後、電子顕微鏡でVLPの形態を観察し、VLP粒子の崩壊と粒子数の減少の程度から不活化効果の半定量的解析が可能であることが示された。本手法による評価の結果、市販の塩素系薬剤に加え、炭酸Naなどのアルカリ剤も有効であることが示唆された。

［継国孝司、久保田浩美、徳田　一、日置祐一(花王株式会社)、小川智子、岡智一郎、Hansman S. Grant、武田直和］

（2）国内の調理従事者糞便中に検出されるノロウイルス株の分析

2005年11月～2006年12月の間、ノロウイルスの散発および集団発生があった55事例について、調理従事者（調理人、ウェイター、ウェイトレス等）2376名の糞便をリアルタイムPCR法でスクリーニング検査し、449名(19%)からノロウイルスを検出した（内訳 GI 26(5.8%)、GII 423(94.2%)）。これら陽性サンプルについてさらにRT-PCR法によって構造蛋白領域の一部を増幅し、塩基配列を解読した。その遺伝子型別を行ったところ、GIはGI/3、GI/4、GI/8およびGI/14に、GIIはGII/1、GII/2、GII/3、GII/4、GII/5、GII/6、GII/7、GII/8、GII/9、GII/10、GII/14、GII/newに分類された。調理従事者の糞便中に検出された株はGII/4が主流(53%)であったが、GII/3など他の多くの株も検出され、しかも同一人物で異なる株が検出される混合感染例も認められた。GII/4株以外の遺伝子群や遺伝子型も広くヒトに感染している。ウイルス排泄量の平均値は糞便1グラムあたりGIが2.79×10^{7}コピー、GIIが3.81×10^{8}コピーであった。なお、国内で主流のGII/4と他のGII株とのウイルス排泄量の違いは認められなかった。調理従事者からは症状の有無にかかわらず、同コピー数のノロウイルス（核酸）が糞便中に検出されている事例もあり、無症状の調理従事者が感染源となりうる可能性が示唆された。

［小澤一弘（中部衛生検査センター)、Hansman S. Grant、岡智一郎、武田直和］

（3）2006-2007シーズンに流行したノロウイルスのゲノム解析

ノロウイルスは冬季に流行するが、2006年は例年より早く10月中旬から流行した。従来報告されていたノロウイルス株との違いの有無を検討する目的で、11の地方衛生研究所を通じて糞便検体の提供を受けた。国立感染症研究所の病原体ゲノム解析センターとの共同研究により、55検体のノロウイルス構造タンパク質領域の遺伝子塩基配列解析を試み、そのうち43検体について構造タンパク質領域の塩基配列を決定した。その結果、昨年末に我が国で流行したノロウイルスGII/4株は昨年までのものとは変化していることが明らかとなった。2006年に日本および諸外国（香港、EU、英国）で検出されたGII/4株について比較を行うため、系統樹解析を行ったところ、分離地域が異なるにもかかわらず、これらの株がほぼ同一のクラスターに分類されることが示された。2006/07シーズンのGII/4は大きく3つのクラスターに分けられ、そのうちのひとつは昨シーズンまでは検出されていないヨーロッパ2006bとよばれる新型のタイプであった。いずれの地研でもこの新型が主流であった。2番目も新型でヨーロッパ2006aとよばれるタイプであった。残りの一つは2004/2005年にわが国の高齢者介護施設で死亡した患者から検出されたウイルスと同じクラスターに分類された。現在ゲノム全長塩基配列の決定、解析を継続中である。

[本村和嗣、横山　勝、神田忠仁、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析センター)、岡智一郎、Hansman S. Grant、武田直和]

（4）ノロウイルスの培養細胞への結合の解析

ノロウイルスの細胞結合因子の探索、および結合阻害物質の検索を目指し、まず培養細胞へのノロウイルスVLPsの結合を蛍光免疫染色法で検出した。ノロウイルスVLPは分化したCaco2細胞に結合することが示された。現在、サポウイルスVLPsについても同様に結合性を検討している。

［村上耕介、松田　幹(名古屋大)、Hansman S. Grant、岡智一郎、片山和彦、武田直和］

（5）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 Chiba407 株由来の 3C 様プロテアーゼを精製後、基質ペプチドと共に結晶化し、X 線結晶構造解析を行った。その結果、基質ペプチドが、3C 様プロテアーゼの Lys108 残基側鎖及び Gln110 残基側鎖により保持されていることが明らかになった。また、3B(VPg)-3C 様プロテアーゼ前駆体の構造解析を試みたところ、結晶化には成功したものの、X 線照射で得られた情報には、3C 様プロテアーゼは含まれるが、VPg の情報はなかった。すなわち、VPg は 3B(VPg)-3C 前駆体において特定の構造を形成していなかった。

[染谷雄一、武田直和、熊坂崇（(財)高輝度光科学研究センター）]

（6）ノロウイルス 3C 様プロテアーゼ Glu54 残基の役割

ノロウイルス 3C 様プロテアーゼの結晶構造解析により、活性中心は、変異導入解析で同定された 2 残基(His30、Cys139）に加え、Glu54 の関与が示唆された。しかし、Glu54 の Ala 変異体は顕著な活性低下を示さなかった。そこで、Glu54 に対して更なる変異導入解析を行ったところ、139 位が Cys であるとき 54 位残基はプロテオリシスに関与しないが、139 位が Ser であるときは 54 位残基側鎖の水素結合能が重要であった。この結果は、野生型酵素は Cys139 残基 SH 側鎖と His30 残基イミダゾール側鎖とイオン的な相互作用をし、パパイン様の反応機構を採るのに対し、Ser139 変異体は典型的なトリプシン様反応機構を採り、プロテオリシスには 54 位側鎖の援助が必要であると考えられる。

[染谷雄一、武田直和]

（7）ノロウイルス ORF1 ポリプロテインの開始コドンの探索

ノロウイルスゲノムの 5’末端には VPg が共有結合しているとされる。また、eIF4E や eIF3 など翻訳開始因子との相互作用が報告されている。ゲノムの 5’非翻訳領域は GUGA の 4 残基と短く、その直後に AUG が３つ繰り返され、ORF1 が翻訳される。以上より、VPg は翻訳開始に積極的な役割を担っていることが示唆される。また、3 回繰り返される AUG のうちどの AUG が真の開始コドンとして機能しているかはわかっていない。そこで、CMV プロモーター支配下に 5’-GGUGAAUGAUGAUG...で mRNA 合成が開始されるようにし、レポーターとして EGFP を in-frame で融合したプラスミドを構築した。それぞれの AUG を AAG に変異させ、EGFP 発現をトランスフェクトした細胞で比較した。その結果、2 番目か 3 番目の AUG が開始コドンとして用いられ得ることが示唆された。

[染谷雄一、武田直和]

（8）ノロウイルス 3B(VPg)の翻訳開始における役割

T7 プロモーター支配下に、5’-GUGAAUGAUGAUG...で RNA 合成が開始されるようにし、その直後に Firefly luciferase 遺伝子を置き、更に IRES を介して Renilla luciferase 遺伝子を置いたプラスミドを構築した。このプラスミドより in vitro で合成した 5’末端の Cap 構造を持たない RNA をノロウイルス VPg を発現するプラスミドと共に細胞に導入し、それぞれの luciferase 活性を測定した。その結果、合成 RNA からの Firefly luciferase 活性は VPg が細胞内に存在することにより有意に上昇したが、Renilla luciferase の活性には変化はなかった。このことは、VPg は IRES 依存のタンパク質翻訳には影響を及ぼさないが、Cap 非依存のタンパク質翻訳に有意の影響を及ぼすことを示している。このことはノロウイルスタンパク質の翻訳が VPg に依存していることを示唆している。

[染谷雄一、下池貴志、武田直和]

（9）ノロウイルスと血液型抗原との結合：ウイルス株毎の結合パターンの違いの解析

ノロウイルス(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。そこで、NoV 16 株の VLPs を用い、Saliva-VLP binding assay、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、同じ遺伝子型に属するウイルス株は同じ結合パターンを示すことが明らかとなった。カプシド蛋白上で糖鎖結合に関与する残基が明らかにされている。これらの残基は同じ遺伝子型に属するウイルス株間で保存されていることが多く、私達の得た結果とこの事実は互いに矛盾のない結果となっている。

[白土東子、石井孝司、小川智子、脇田隆字、武田直和]

（１０）ノロウイルスと血液型抗原との結合：ウイルスとの結合に重要な糖鎖構造の解析

血液型抗原はそのコア構造によってタイプ 1、2、3、4 に分類される。組織によって発現されるタイプが異なることから、ノロウイルス（NoV）の組織特異性に関与している可能性もある。そこで、H type 1-、H type 2-、H type 3-trisaccahrides と NoV との結合を Carbohydrate-VLP binding assay により検討した。その結果、GI の 4 株、

GII の 4 株がいずれかの H 抗原を認識した。さらに、8 株中 6 株は、血液型抗原のタイプ毎に異なる結合強度を示し、これら糖鎖の構造の差を認識していることが明らかとなった。残り 2 株（GI/1 株、GII/4 株）はいずれのタイプにも強く結合したが、その結合も、H-disaccahrides（コア構造を持たない合成糖鎖）において失われ、前述の 6 株同様、タイプ間の糖鎖構造の差を認識していることが示唆された。以上の結果をさらに検討するため、現在、A type 1-、B type 1-、A type 2-、B type 2- pentasaccahrides への結合を Biacore にて解析中である。

[白土東子、石井孝司、小川智子、脇田隆字、武田直和、伊藤浩美、亀山昭彦、成松久（産総研）]

（１１）患者糞便中ノロウイルス粒子に含まれるゲノム RNA の感染性

ヒトノロウイルスはヒト以外に感染しないことに加え、培養細胞を用いた効率の良いウイルス増殖システムが構築されておらず、ウイルスの感染性、病原性など基礎的な研究が遅れている。この障害を取り除くため、ノロウイルスの増殖がウイルスライフサイクルのどの段階で阻害されているのかを明らかにする必要がある。ノロウイルスプロトタイプ NoV GI/1 (NV68/US)が感染した患者の糞便材料から得たノロウイルス粒子から NoV ゲノム RNA を抽出して培養細胞に導入し、自己増殖能力を調べた。

細胞内で、ノロウイルス蛋白質の発現が認められた。培養上清中のノロウイルスゲノム RNA 濃度は 0 から 10^{6-8}copies/ml に上昇した。培養上清には、ウイルス様粒子が観察された。ノロウイルスのゲノム RNA には自己複製、粒子産生能力があった。ノロウイルスの培養細胞での増殖は、ウイルスの細胞への侵入からウイルスゲノムの放出までのいずれかの段階で阻害されていると考えられた。

[スサーナ・ギックス、片山和彦、タイラー・シャープ、メアリー・エステス(米国ベイラー大学）]

（１２）ノロウイルス GII/3 U201 株を用いたリバースジェネティックスシステムの構築

ヒトに感染するノロウイルスの感染機構や病原性を研究するには、ウイルス遺伝子を培養細胞内部で転写し、ウイルス粒子を作出する技術、リバースジェネティックスシステムの構築が有用である。効率よく感染性ウイルス粒子を作出するため、哺乳類細胞のプロモーターEF-1αを用いたリバースジェネティックスシステムの構築を試みた。

U201 遺伝子を導入した細胞は、ウイルスの非構造蛋白質および構造蛋白質を効率よく発現した。細胞内部には自己増殖した U201 株プラス鎖 RNA 分子、複製中間体であるマイナス鎖 RNA 分子が検出された。さらに、構造蛋白質をコードするサブゲノム RNA の合成も確認された。培養上清には遺伝子導入 48 時間後に約 10^{8}copies/ml のウイルスゲノムを内包した粒子が観察された。ウイルス粒子はウイルス蛋白質 VPg を内包していた。培養上清中のウイルス粒子から抽出したゲノム RNA を培養細胞に導入したところ、ウイルス蛋白質の合成が観察された。本システムは、ヘルパーウイルスを必要とせず、完全なノロウイルスの複製を観察可能である。

[片山和彦、スサーナ・ギックス、タイラー・シャープ、メアリー・エステス(米国ベイラー大学）]

（１３）紫外線照射による Noroviruses 不活化の検討-４

昨年までは患者便材料から高度に濃縮した Noroviruses を用いて紫外線照射による不活化実験を行い Real time PCR 法で検討し不活化に最低限必要な紫外線照射量を 50mJ/cm2 以上とした。そこで、実際に終末処理施設に実機を装備し、紫外線照射による野外実験を行い Noroviruses の不活化を試みた。I 県 Y 町の漁業集落排水施設に紫外線照射装置を設置し実際の排水を使用して紫外線照射の Noroviruses 不活化効果を Real time PCR 法で検査した。流入水中の Noroviruses 遺伝子ﾚﾍﾞﾙは 200copies/L と低レベルであったが、紫外線照射後は全く検出されず不活化できたことを示した。今後も同地域での再現性を検討中である。

[宇田川悦子]

２．サポウイルス（SaV）に関する研究

（1）Enhancement of Sapovirus recombinant capsid protein expression in insect cells

We have found that inclusions of short foreign nucleotide sequences inserted directly upstream from the predicted capsid protein AUG start codon lead to increased yield of sapovirus virus-like particles. This method allowed us to express a sapovirus capsid protein, which could not have been expressed to measurable or practical levels otherwise.

[Hansman S. Grant, 岡智一郎, 片山和彦, 武田直和]

（２）Expression and Self-Assembly of Virus-Like Particles from a Full-Length Sapovirus Genome in Insect Cells

In order to better understand sapovirus virus-like particle formation we expressed the full-length genome in insect cells. Virus-like particles (VLPs) were produced from the full-length construct and these were morphologically and antigenically similar to the VLPs that were expressed from a subgenomic-like construct. These novel findings indicated that human sapovirus VLPs can be produced from either the cleavage of the translated ORF1 polyprotein or by the translation from the subgenomic-like construct.
[Hansman S. Grant、岡智一郎、片山和彦、武田直和]

（3）リアルタイム RT-PCR 法によるサポウイルス核酸検出系の構築

サポウイルスは５つの genogroup (GI-GV)に分類され、遺伝的に極めて多様である。このうちヒトからは GI, GII, GIV, GV 株が分離されている。これらのヒト由来サポウイルス株を検出するスクリーニング系を確立することを目的として、近年我々自身が解析したサポウイルスゲノム情報と公的データベース情報から、サポウイルスゲノム中の高度保存領域(polymerase-capsid junction 領域)を見いだした。この領域をターゲットに、ヒト由来のサポウイルス GI, GII, GIV, GV 株を１ウェルで検出可能な MGB TaqMan リアルタイム RT-PCR 系を世界に先駆けて構築した。

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

（4）サポウイルス集団発生事例の解析（秋田）

2006 年２月から３月に秋田県内の幼稚園で発生したサポウイルス集団発生事例の解析を行った。検出されたサポウイルスは Ggenogroup Ⅰで、ウイルス排泄量は糞便 1g 中 $5.8x10^5$～ $2.2x10^9$ コピーであった。また、構造タンパク質コード領域の全塩基配列を決定した。昆虫細胞での Virus-like particles (VLPs)の発現にも成功し、他の genogroup､genotype に属するサポウイルス VLPs との交差反応性を検討したところ、サポウイルスがノロウイルスと同様、genogroup 間だけでなく、genotype 間でも抗原性が異なる株が存在することを初めて見いだした。

［斉藤博之(秋田県健康環境センター)､Hansman S. Grant、岡智一郎、武田直和］

（5）サポウイルス集団発生事例の解析（北海道）

2000 年と 2005 年に北海道で発生したサポウイルス集団発生事例の解析を行った。2000 年に検出されたサポウイルスは Genogroup Ⅳで、ウイルス排泄量は糞便 1g 中 $5.4x10^5$～$7.5x10^9$ コピーであった。また、2005 年に検出されたサポウイルスは Genogroup Ⅱで、ウイルス排泄量は糞便 1g 中 $1.1x10^9$～$5.4x10^{10}$ コピーであった。サポウイルスの集団感染事例における糞便中排泄量はノロウイルスと同様､極めて高濃度であることが示された。［石田勢津子（北海道立衛生研究所)、Hansman S. Grant、岡智一郎、武田直和］

（6）環境水からのサポウイルスの検出

環境水中のサポウイルスの存在の有無を検討するため、河川、海水中のサポウイルス核酸の検出を試みた。その結果、日本国内の河川水において GI 、GV 株のサポウイルス核酸を検出した。海水からはサポウイルス核酸は検出されなかった。本研究は環境中からサポウイルスを検出した初めての例である。

［Hansman S. Grant、岡智一郎、武田直和、植木　洋（宮城県保健環境センター)、佐野大輔（東北大)］

（7）食用貝からのサポウイルスの検出

サポウイルスの感染経路はいまだ不明な点が多い。今回我々は、シジミからサポウイルス核酸を検出した。なお、今回解析した国内のカキからはサポウイルスは検出されなかった。

［Hansman S. Grant、岡智一郎、武田直和、岡本玲子、西田知子(山口県環境保健研究センター)、野田　衛(広島市衛生研究所、現国立医薬品食品衛生研究所)、植木洋（宮城県保健環境センター)、佐野大輔（東北大)、西尾　治・木村博一（感染症情報センター)］

（8）サポウイルス GV 株の全長クローンの作製

我々はこれまでにヒト由来の異なる遺伝子群（genogroup）の株（GI Mc114 株、GII Mc10 株）について全長クローンを作製した。ORF1 ポリプロテインのプロセッシング産物の解析および、非構造タンパク質（プロテアーゼ、ポリメラーゼ等）の活性の比較等を検討する目的で、新たに GV NK24 株の全長クローンを作製した。現在、これら異なる３つの genogroup 間のサポウイルス株についてプロテアーゼ活性の特異性の比較検討を行っている。

[宮下佳奈、岡智一郎、Hansman S. Grant、小川智子、片山和彦、武田直和]

（9）サポウイルスプロテアーゼの切断点認識に重要な周辺アミノ酸残基の解析

サポウイルスのプロテアーゼによる ORF1 ポリプロテインの切断は特定のグルタミンもしくはグルタミン酸の直後でおこる。切断部位認識に重要なアミノ酸残基として、我々は各切断点上流４番目 (P4)に高度に保存されているアミノ酸(F もしくは Y)を明らかにしてきた。今回、サポウイルスプロテアーゼの基質認識メカニズムをより詳細に調べることを目指し、ProPol/VP1 間の切断点周辺の上流下流各４アミノ酸残基の重要性を再度検討し、少なくともこの切断部位においては P4 と P1 以外のアミノ酸残基は切断点認識に影響しないことを明らかにした。
[山本真民、岡智一郎、小川智子、片山和彦、Hansman S. Grant、武田直和]

（１０）サポウイルスポリメラーゼ活性の検討

サポウイルスのポリメラーゼ活性を検出する目的で、プロテアーゼーポリメラーゼのうち、我々が同定した Mc10 株のプロテアーゼドメインを除いた領域をポリメラーゼ領域として大腸菌で発現させ、GI Mc114, GII Mc10, GV NK24 株について可溶性のポリメラーゼの発現、および RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの活性検出に成功した。現在、各株由来のポリメラーゼについて詳細な酵素活性の比較を行っている。
［Rowena A. Bull、Peter A. White(ニューサスウェールズ大学)、 岡智一郎、Hansman S. Grant、武田直和］

３．ネコカリシウイルスに関する研究

（１)ネコカリシウイルス(FCV)プロテアーゼの活性発現に重要なアミノ酸残基の同定

FCV F4 株のプロテアーゼの活性発現に重要なアミノ酸を同定するため、13 株の FCV 株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 (ノロウイルス、サポウイルス、および RHDV)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、FCV F4 株のゲノム全長の cDNA clone を鋳型として、12 箇所のアミノ酸 (H、E、C 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(1763 アミノ酸)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、FCV プロテアーゼの活性発現に重要なアミノ酸として、C^{1193}, H^{1110}, E^{1131}, H^{1208} を同定した。
[岡智一郎、山本真民、宮下佳奈、小川智子、片山　和彦、武田直和、Hansman S. Grant、高木弘隆（バイオセーフティー管理室)、遠矢幸伸（東大院獣医)、横山　勝、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析センター）]

４．カリシウイルスに関する研究

（１）カリシウイルスプロテアーゼの構造機能解析

サポウイルス Mc10 株、ネコカリシウイルス F4 株、ノロウイルス U201 株の全長 cDNA clone を鋳型として、カリシウイルスプロテアーゼの活性中心である GDCG モチーフ周辺で、１次配列上も統合計算化学システム MOE による立体構造モデル上も保存されている Thr, Pro, Tyr をそれぞれ Ala 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 がコードするタンパク質を発現させ、発現産物の泳動パターンからプロテアーゼ活性への影響を検討した。その結果、ノロウイルス、サポウイルス、ネコカリシウイルスのいずれにおいても、GDCG モチーフ周辺の Thr, Tyr の変異体ではプロテアーゼ活性が低下し、これらのアミノ酸が活性発現に重要であることが明らかとなった。
[岡智一郎、山本真民、宮下佳奈、小川智子、Hansman S. Grant、片山和彦、武田直和、高木弘隆（バイオセーフティー管理室)、遠矢幸伸（東大院獣医)、横山　勝、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析センター）]

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、要望に応じて地方衛生研究所等に配付した。2006 年度は、エンテロウイルス単味抗血清 30 種類、パレコウイルス抗血清 4 種類、プール抗血清 EP95(あるいは EP-2001)を 7 セット、コクサッキーA 群同定用 CF 腹水 1 セットを配布した。ポリオウイルスの同定および型内株鑑別検査を行政検査として実施した。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 16 回ポリオ実験室診断技術研修会を開催した。研修期間は 2007 年 1 月 23 日～2 月 17 日 、研修参加者は、スーダン、ニジェール、エチオピア、ザンビア、ケニア、ミャンマー、イエメンから各 1 名の計 7 名 (他に個別研修からの参加者 1 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 215 検体およびラオス 88 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。2005～2006 年にかけてカンボジアの AFP 症例 2 名から分離されたポリオウイルスは 3 型 VDPV と同定された。また、2006～2007 年にかけて、シンガポールおよびオーストラリアで分離された 1 型野生株ポリオウイルスは、それぞれ、ナイジェリアおよびパキスタンで伝播している地域固有の野生株ポリオウイルスであることを塩基配列解析結果から明らかにした。他のポリオウイルス分離株は、すべてワクチン株であり、西太平洋地域における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）2006 年 5 月 29 日－6 月 19 日に中国 CDC(北京)で実施さ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。[有田峰太郎、清水博之]

カ）2006 年 6 月 27－6 月 29 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、ポリオ根絶およびポリオ実験室診断について情報交換を行った。[清水博之]

キ）2006 年 8 月の中国ＣＤＣと国立感染症研究所間の研究協力に関わる覚書（ＭＯＵ）締結に際し側面支援を行った。[吉田　弘]

ク）2006 年 12 月より開始したＶＰＤｓプロジェクトの後方支援（協力計画策定、研修受け入れ）を実施すると共に、2007 年 8 月 6-17 日に中国ＣＤＣで実施したポリオ実験室診断研修会に講師として参加した。[吉田　弘]

ケ）2007 年 1 月に開催された第 120 回ＷＨＯ執行理事会に参加し、天然痘、マラリア、ポリオ、麻疹、鳥インフルエンザについて政府代表団への技術支援を行った。また 4 月には鳥インフルエンザリファレンスラボＴＯＲ会議に出席し、政府代表団への技術支援を行った。5 月に開催された第 60 回ＷＨＯ総会にも参加し上記感染症分野に関する技術支援をおこなうと共に情報収集に努めた。[吉田　弘]

２．西太平洋地域の 2006 年のウイルス分離状況

2006 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 303 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。野生株ポリオウイルスは検出されなかった。2005 年 12 月～2006 年 1 月にかけて、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、2006～2007 年にかけて 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、脇田隆字]

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）カンボジアの AFP 患者から分離された 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 cVDPV を分離した。これら VDPV の病原性を、ポリオウイルスレセプター発現トランスジェニックマウスにより解析した。その結果、カンボジア VDPV は、野生株ポリオウイルスと同程度の神経毒性をもつことが明らかとなった。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 3 型 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(WHO)、小島和暢(WHO)、宮村達男、脇田隆字、清水博之]

（２）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。分離ウイルスの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。他の 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)]

（３）オーストラリアで分離された１型野生株ポリオウイルスの解析

オーストラリアに滞在しているパキスタン人留学生が、パキスタンに一時帰国後 AFP を発症し、2007 年７月、オーストラリア RRL において１型野生株ポリオウイルスが分離された。オーストラリア RRL および感染研において塩基配列解析を行ったところ、現在パキスタンで伝播している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、ポリオ流行地からの AFP 患者の渡航による野生株ポリオウイルス伝播の可能性について留意する必要がある。
[西村順裕､清水博之､脇田隆字､Bruce Thorley (VIDRL)]

（４）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１型組換え cVDPV は強毒株である Mahoney 株と同等の病原性を有しており、糞便中へのウイルス排出から、ウイルス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)]

（５）Sabin 株由来不活化経粘膜ポリオワクチンの有効性評価

Sabin 株由来 IPV の経粘膜ワクチンへの応用の可能性ついて検討を行うため、TgPVR21 マウスに対し Sabin 1 株由来 IPV (IP-110)を３週間隔で経鼻免疫した。免疫には IP-110 単独あるいはコレラトキシン B subunit をアジュバントとして加えたものを用いた。最終免疫３週後に、PV1-Mahoney 株を経鼻接種し、麻痺発症率、PV 特異的 Ig 抗体価の測定と鼻腔における局所の免疫反応について組織学的に検討した。強毒株接種後 14 日以内に、非免疫群では 100%が弛緩性麻痺を発症し、IP-110 単独免疫群は 70%、アジュバント添加 IP-110 免疫群では 10%が発症した。また、免疫群はいずれも感染後３日目の血中 PV 特異的 Ig 抗体と鼻腔分泌液中の特異的 IgA の上昇がみられ、アジュバント添加群の血中 IgM、IgG および鼻腔分泌液中 IgA が有意に高かった。さらに、免疫組織学的にアジュバント添加群の鼻腔粘膜上皮において IgG, IgA 抗原強陽性の形質細胞、上皮細胞が検出された。
[永田典代、長谷川秀樹、佐多徹太郎(感染病理部)、清水博之]

（６）Sabin-IPV の抗原性に関する研究

日本ポリオ研究所が開発している弱毒ポリオウイルス Sabin 株を用いた不活化ポリオワクチン（Sabin-IPV）におけるホルマリン不活化工程でのエピトープの変化について、抗原認識部位特異的モノクローナル抗体（MAb）を用いた ELISA 法により調べた。Sabin１では site１を認識する Mab による､ELISA 反応が低下していたことから、ホルマリン不活化によって site１の構造変化が起きたことが示唆された。Sabin 2 ではホルマリン不活化によって大きな抗原性変化は認められなかった。Sabin 3 ではいくつかのモノクローナル抗体に対する反応性がホルマリン不活化後により失われており、一部の抗原認識部位がホルマリン不活化によって変化したと考えられる。ホルマリン不活化による Sabin-IPV の抗原性変化は、Sabin-IPV の有効性を評価する D 抗原価測定の改良や、Sabin-IPV の抗原性・免疫原性を他の IPV と比較する上で重要である。
[田野良夫(ポリオ研)、西村順裕、清水博之、宮村達男、Javier Martin(NIBSC)]

（７）ポリオ生ワクチン接種率全国累積調査

全国から 5,000 人の３歳児を無作為に抽出し、居住する市区町村に麻疹、風疹、ポリオ生ワクチンを接種した月齢の調査を依頼し、回収された調査票をもとに 2006 年度における全国累積接種率を推計した。ポリオ生ワクチンの累積接種率は１回目の接種も２回目の接種も良好であり、調査年度ごとの差はほとんどみられなかった。将来的な不活化ポリオウイルスワクチン導入に向けて、複数の異なる調査手法によるワクチン接種率調査を継続する必要がある。

[髙山直秀（都立駒込病院)、清水博之、宮村達男]

（８）開発途上国における環境ウイルスサーベイランス手法導入に関する研究

ポリオ野生株が根絶された地域におけるサーベイランス、集団免疫状況の Quality 調査を行うため中国ＣＤＣと協力して環境ウイルスサーベイランス導入妥当性の研究を開始した。今年度は 8 省を対象に技術導入を図った。今後ハイリスクエリアを中心にサーベイランスを行う予定である。

[吉田弘、帖佐徹（国立国際医療センター)、岩井雅恵（富山衛研）]

４．エンテロウイルスに関する研究

1. ポリオウイルスに関する研究

（1）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。低温凍結で長期にわたり性状が極めて安定である弱毒ポリオ株が試験のキャリブレーターとなりうるかを検討した。

［白土東子、李　天成、小川智子、小西恭子、岡　智一郎、染谷雄一、宇田川悦子、武田　直和、須崎百合子、網　康至（動物管理室)］

（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、宮村達男、脇田隆字、清水博之]

（３)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) 標準株 (BrCr 株, genogroup A) に由来する弱毒株である S1-3’株の抗原性および免疫原性を解析した。S1-3’株をカニクイザルに静脈内接種し、EV71 分離株 (genogroup A, B1, B4, C2, C4）に対する血清中和抗体価を測定した。その結果、S1-3’株感染で誘導されるサルの血清は、試験したすべての EV71 株に対する中和活性を有していたが、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、比較的弱い中和活性を示した（A > B1 > C4 > B4 > C2)。

[有田峰太郎、永田典代、網康志、須崎百合子、岩崎琢也、佐多徹太郎、脇田隆字、清水博之]

（４）エンテロウイルス擬似粒子を用いた抗エンテロウイルス薬の探索

ポリオウイルス (PV)およびエンテロウイルス 71（EV71）の感染増殖を阻害する化合物の探索を目的として、Sigma LOPACK^{1280} ドラッグライブラリーを用いて、各々の擬似粒子感染によるルシフェラーゼ活性発現を指標とした阻害剤スクリーニングを行った。その結果、擬似粒子感染細胞のルシフェラーゼ活性を顕著に低下させた薬剤 3 種類および同定した薬剤の構造類似化合物中から抗 EV71 活性を有する 1 種類の薬剤を同定した。同定した薬剤のうち、1 種類は PV および EV71 の感染をともに抑制したが、3 種類は EV71 感染のみを特異的に抑制した。今後、同定した薬剤の作用およびその機序に関する解析を進める予定である。

［有田峰太郎、脇田隆字、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

エンテロウイルス 71(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 変異株を分離およびアダプトに必要とされる変異を同定した。今回、マウスにアダプトした EV71 株にポリオウイルス Sabin 1 株の持つ弱毒化変異を導入し、変異株のマウスにおける組織特異性および弱毒化について解析を行った。その結果、ポリオウイルス Sabin 1 株の弱毒化変異により、EV71 は NOD/SCID マウスにおいても弱毒化されること、弱毒化には導入した弱毒化変異の協調的な作用が必須であることが明らかとなった。ただし、変異株の組織特異性は、ヒトおよびサルにおけるものと大きく異なることが見いだされた。

［有田峰太郎、網康志(動物管理室)、脇田隆字、清水博之］

（６）カンボジアおよびラオスで分離された C 群エンテロウイルスの解析

ポリオウイルス(PV)ワクチン由来株(cVDPV)は、ワクチ

ン接種率の低い国において小児麻痺の流行をもたらすために問題となっている。興味深いことにcVDPVは高い頻度でC群エンテロウイルス(HEV-C)と組換えを生じている。そのため、cVDPVと組換えを生じたHEV-Cの同定を目的として、カンボジアおよびラオスの急性弛緩性麻痺症例からHEV-Cを分離し、解析を行った。その結果、カンボジアとラオスでは異なる血清型のHEV-Cが伝播していることが明らかとなった。また、カンボジアとラオスで共通に伝播している株についての解析を行い、ウイルス遺伝子の2BC付近の配列が、カンボジアおよびラオス固有のHEV-Cを推定するために有用であることを見いだした。

［有田峰太郎、凌華、脇田隆字、清水博之］

（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、エンテロウイルス71およびコクサッキーA16を検出した。エンテロウイルス71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)、西村順裕、清水博之、宮村達男]

（８）家族内感染による成人EV71脳炎の解析

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、その多くはEV71急性脳炎症例であると考えられている。EV71脳炎は5歳以下の小児に高頻度に認められ、成人におけるEV71重症例の報告は、きわめてまれである。本事例においては、母親がEV71急性脳炎を発症し、同時期に手足口病を発症した3人の子供からもEV71が検出された。分離ウイルスの遺伝子解析により、家族内感染が強く示唆され、近年日本で多く分離されているsubgenogroup C4に属するEV71による家族内感染であることが明らかとなった。

[浜口　毅(金沢大学)、西村順裕、清水博之]

（９）日本におけるパレコウイルス抗体保有状況の解析

ヒトパレコウイルス(HPeV)は、我が国では、HPeV1型、3型、4型、6型が分離されており、急性胃腸炎や呼吸器症状患者からの報告が比較的多いが、脳炎や髄膜炎患者からの分離も報告されている。我が国における、各HPeV血清型の伝播状況および特定疾患と関連性については明らかにされておらず、血清疫学解析は重要である。そのため、年齢別健康人血清を用いたマイクロ中和法により、HPeV1～6型の抗体保有状況調査を実施している。

[町田早苗 (埼玉医大)、西村順裕、清水博之]

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。また、日本で発表されたポリオウイルスに関わる研究論文について網羅的に解析するため、検索対象資料として医学中央雑誌等のデータベースを用い、検索キーワードとして、「ポリオウイルス」等による検索を行い、施設、論文形式、論文内容等の各項目について年度ごとに集計した。電話聞き取り調査によって22施設中6施設が、アンケート調査によって回答58施設中9施設が、野生株ポリオウイルスあるいは野生株ポリオウイルスを含む可能性のある材料を保有していることが明らかとなった。アンケート回収58施設中15施設が、過去、他のルートによる保有調査を受けた経験がないと回答したことから、本調査は全体的な調査の精度向上に寄与すると考えられた。

[宮村達男、清水博之、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ィ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実施した。アンケート調査の回収率はきわめて高く、日常的に臨床検体や病原体を取扱う専門家におけるポリオウイルス実験室封じ込めに対する理解度について、精度の高い調査が可能であった。野生株ポリオウイルスを保有している可能性のある施設の割合は20%程度であったが、VDPVを含めると約40%、OPV株を含めると約70%の施設がポリオウイルスを保有している可能性が明らかとなった。施設内の感染症部門

以外に対する調査の徹底や野生株ポリオウイルス封じ込めに必要とされるバイオセーフティ等について、今後も関連情報の提供を継続していく必要がある。
[清水博之、宮村達男、安藤秀二、杉山和良(バイオセーフティ管理室)]

６．その他

（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）ネコ CD62L cDNA のクローニング

L-selectin (CD62L)分子のネコ相同体をコードする cDNA をクローニングした。ネコ CD62L 分子の細胞外領域には、C 型レクチンドメイン、表皮成長因子様ドメイン、Sushi ドメインが保存されていた。組換えバキュロウイルスを用いて発現した組換えネコ CD62L 分子は抗ヒト CD62L 抗体（Leu8）にて認識されるエピトープを保持していた。
[西村順裕、下島昌幸（東大医科研)、遠矢幸伸（東大農学部)、宮沢孝幸（京大ウイルス研）]

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）Ａ型肝炎ワクチンの接種回数と抗体価の基礎的検討

日本で認可されているＡ型肝炎ワクチンの接種回数は初回免疫と、その１ヶ月後、６ヶ月後の３回と決められている。一方、外国で使われているＡ型肝炎ワクチンは初回免疫とその６ヶ月後の２回接種である。日本のワクチンが外国のワクチンと同じスケジュールによる２回接種で十分な抗HAV抗体を誘導するかどうか、ボランティアを募って検討した。この検討は２００７年度に終了予定である。
［清原知子、佐藤知子、戸塚敦子、米山徹夫、脇田隆字］

（２）抗HAVIgM抗体のin-house検出系の確立

実験室内で簡便に抗HAVIgM抗体を測定するため、安定供給を見込まれる市販の抗体を組み合わせてin-houseELISAを作製した。抗ヒトIgM抗体を固相化したプレートに検体（患者血清）を加える。感作後洗浄し不活化HAV抗原を加え、標識抗HAV抗体で検出する。抗HAVIgM抗体パネルを測定してカットオフ値を設定した。
［清原知子、佐藤知子］

（３）検定試薬の変更

検定で使用するELISAの試薬（抗原、標識抗体）を切り替えるため、いくつかの候補品を比較した。もっとも感度が良く、特異性も高い試薬について反応条件を検討した。現在、各社のワクチン数ロットについて従来のELISAと新しい試薬を用いたELISAを同時に行い、結果の相関を確認している。
［清原知子、佐藤知子、戸塚敦子、米山徹夫］

（４）LAMP 法による HAV 遺伝子検出法の評価

遺伝子型の異なる実験室株を使って確立した HAV の RT-LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification)法を WHO の HAV-NAT 国際標準品と比較して、その評価をした。その結果、HAV の RT-LAMP 法は一般的に使われている RT-PCR 法とほぼ同等の検出感度であった。今後は、臨床検体を使って LAMP 法の応用を計る予定である。
［米山徹夫、清原知子、戸塚敦子、佐藤知子、嶋崎典子（北里環境科学センター)］

（５）無血清培地で長期増殖する細胞及び、馴化 A 型肝炎ウイルス（HAV）株の樹立

これまでワクチン製造用細胞GL37はHAVの増殖を損なわず無血清培地 OptiProSFM で数代継代出来た。今回無血清培地で長期増殖する細胞株の樹立を試み、GL37 を OptiProSFM で 5 代継代後にコロニー純化法により 4 種類のクローン細胞を得た。これらの細胞は 13 代(1 種類)、14 代（3 種類）の長期継代まで良好な細胞増殖性と HAV 増殖能を保持することが明らかとなった。しかしながら上記で得た細胞で HAV を継代したが、増殖の良い馴化 HAV 株はまだ得られていない。
[戸塚敦子、下池貴志、田代眞人（ウイルス第三部)、脇田隆字]

（６）HAV の加圧不活化の検討

病原体を幅広く不活化する新規な方法として血液製剤の安全性確保に期待される加圧法を HAV の実験室株で検討した。5%Albumin 中、300MPa 以下の加圧では全く不活化されなかったが、420MPa では株により $3\log_{10}$ から $5\log_{10}$ 不活化された。既報の加熱不活化の結果とあわせると、加熱と加圧の其々で不活化され易い株とされ難い

株があり、ウイルス安全性バリデーション試験に適切な株としては、其々の処理で不活化され難く、細胞で良く増殖する KRM238 株が適切であると考えられた。
［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。西郷らは 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 adaptor-ligation/ suppression PCR 法により見出した。そこで、肝癌患者検体からゲノム DNA を調製しサザンブロット法により組み込み様式の解析を行った。その結果、MLL4 遺伝子の中に HBV ゲノムが組み込まれた肝癌組織を見出した。
[鈴木哲朗、勝二郁夫、西郷健一（国立がんセンター東病院)、宮村達男]

（２）HBV 粒子高産生細胞系の構築

HBV の生活環研究また抗ウイルス剤探索を進める上では効率のよい HBV 産生細胞系の確立が重要である。B 型肝炎患者血清から単離した遺伝子型 A，B，C の各 HBV クローンを Huh-7 細胞へ導入して一過性の HBV 粒子産生を観察し､各クローンから導入後 10 日間以上に亘ってウイルスが産生されることを確認した。特に遺伝子型 A クローンでは従来の HBV 産生細胞株（Hep2.2.15）に比べ数十倍以上の高産生を示すことを見出した。
[鈴木哲朗、清原知子、松田麻未、田中靖人･溝上雅史（名古屋市立大学)、脇田隆字]

３．C 型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究

（１）E6AP による HCV 粒子産生の制御

コア蛋白質のユビキチン依存性分解を調節している E6AP が HCV 粒子産生に及ぼす影響について検討した。E6AP を過剰発現すると感染細胞内コアタンパクおよび HCV 粒子産生量が有意に低下し、内在性 E6AP を siRNA でノックダウンしたところ細胞内コア蛋白および上清中の HCV 粒子産生量が有意に増加した。これらの結果から E6AP によるコア蛋白質量が調節され、HCV 粒子産生を制御している可能性が示された。
［村上恭子、勝二郁夫、福田浩一郎、鈴木哲朗、脇田隆字］

（２）E6AP による HCV コアのユビキチン化部位の解析

HCV core 蛋白には７つのリジン残基が存在する。それぞれのリジン残基一つのみを残し、他のリジン残基をアラニン残基に置換した変異体を作製し、いずれのリジン残基がユビキチン化に重要であるか解析を行っている。
[勝二郁夫、大崎一直、村上恭子、奈須純一、下地　徹]

（３）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 aa58-71 が重要であることが分かった。さらに詳細に解析したところ aa58-66 が E6AP と結合するのに必要十分であることが分かった。この領域はすべての genotype で保存されており､実際､E6AP が他の genotype のコア蛋白質のユビキチン依存性分解を促進することが示された。
［福田浩一郎、勝二郁夫、下地　徹、村上恭子、宮村達男、水本清久（北里大学薬学部)］

（４）HCV コア蛋白質と結合する新規宿主因子 hnRNPH1,H2,F の解析

heterogeneous ribonucleoprotein H1(hnRNPH1), hnRNPH2 および hnRNP F を HCV コア蛋白質と結合する新規宿主因子として同定した。HCV コア蛋白質を 293T 細胞にて強制発現し,免疫沈降法によって細胞内でこれらの蛋白質が HCV コアと結合していることを確認した。また、バキュロウイルス発現系にて発現、精製した蛋白質を用いて免疫沈降法および GST-pull down 法により hnRNPH1,H2,F と HCV コア蛋白質が直接結合していることを示した。
［阿部克俊、勝二郁夫、村上恭子、市村徹（首都大学東京)、高橋由利絵、奈須純一、下地　徹、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字］

（５）HCV コア蛋白質および hnRNPH1,F の結合部位の同定

hnRNPH1,F による HCV コア蛋白質の認識機構を明らかにするためにコア蛋白質および hnRNPH1,F の各種変異欠損体をバキュロウイルス発現系および大腸菌発現系で発現させた。これらの発現蛋白を用いて GST-pull down 法、免疫沈降法などで結合部位を解析した。hnRNPH1,F との結合にはコア蛋白質 1-43aa および 58-111aa の領域が重要であることがわかった。また、core 蛋白質との結合部位は hnRNPH1,F の N 末側 RNA recognition motif (RRM) が関与していることが示された。

［阿部克俊、勝二郁夫、村上恭子、高橋由利絵、高宮智史、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字］

（６）HCV コア蛋白質および hnRNPH1,F の結合に対する RNA の影響

hnRNPH1,F による HCV コア蛋白質の結合部位はそれぞれの RNA 結合領域を含んでいる。このことから、HCV コア蛋白質と hnRNPH1,F の結合に RNA が影響する可能性が考えられた。His タグ融合 hnRNPH1,F に RNaseA または yeast t-RNA を加えた後､GST 融合 HCV コア蛋白質を加え、GST-pull down 法により検討したところ、RNaseA 処理を行った場合には hnRNPF,H1 と HCV コア蛋白質の結合が増強され, yeast tRNA を加えた場合には両者の結合が減弱した。以上より、hnRNPH1,F と HCV コア蛋白質の結合は蛋白間の直接結合で、両者の結合に RNA が抑制的に作用する可能性が示された。

［阿部克俊、勝二郁夫、村上恭子、高橋由利絵、高宮智史、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字］

（７）HCV コア蛋白質および hnRNPH1,F の結合を阻害する RNA の配列特異性の検討

hnRNPH1,F と HCV コア蛋白質の結合に RNA が抑制的に作用している可能性が示唆された。hnRNPH1,F に結合する RNA motif については既に報告がある。同様の配列が HCV コア蛋白質の結合部位である HCV-IRES (internal ribosomal entry site)内 IIId 領域に存在している。また、HCV IRES IIId 領域に結合する宿主因子として我々は hnRNPH1 を同定しており、 hnRNPH1,F と HCV コア蛋白質の結合が HCV-RNA により強く阻害される可能性が考えられた。現在、HCV-IRES 領域の RNA および IIId 領域を欠損した RNA を作製し、hnRNPH1,F とコア蛋白質との結合に及ぼす影響を検討している。

［村上恭子、阿部克俊、勝二郁夫、高橋由利絵、高宮智史、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字］

（８）hnRNPH1, F の HCV 複製に及ぼす影響の解析

hnRNPH1,F が HCV 複製効率に及ぼす影響について HCV JFH-1 感染系を用いて検討した。pCAG-FLAG-hnRNPH1,F を感染細胞に導入した｡24-48 時間後の培養上清中の HCV ウイルス産生量を測定した。その結果、hnRNPF を発現させた場合、コントロールと比較して培養上清中の HCV 粒子量が有意に減少していた。一方、 hnRNPH1 を発現させた場合にはコントロールと比較してやや上清中の HCV 粒子量は増加していたものの有意差はみられなかった。現在 HCV 粒子複製のどの段階に hnRNPH1,F が影響を及ぼしているか解析している。

［村上恭子、阿部克俊、勝二郁夫、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字］

（９）HCV コア蛋白質および hnRNPH1,H2,F の細胞内局在の検討

hnRNPH1,H2,F は HCV コア蛋白質との細胞内局在について検討した。FLAG-core と HA-hnRNPH1,H2,F を Huh7 細胞内で強制発現させ、タグの抗体で染色し細胞内局在を検討した。その結果、hnRNPH1,H2 は核および核周囲に強く局在し、HCV コア蛋白質とは核周囲で共局在していた。一方、hnRNPF は単独で発現させた場合、細胞質内と核内の両方に局在しているが、コア蛋白質と共発現させた場合には細胞質内の hnRNPF の染色は弱くなり､核内に強く局在した。HCV JFH-1 感染細胞を用いた実験でも同様の結果が得られた。

［村上恭子、勝二郁夫、阿部克俊、高橋由利絵、高宮智史、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字］

（１０）HCV コア蛋白質および hnRNPH1,H2,F の安定性および細胞内分画の検討

hnRNP F の細胞内局在が HCV コア蛋白質の有無により変化した｡この原因として細胞質内の hnRNPF の分解および核内への輸送促進の両方の可能性が考えられた。そこで、細胞をプロテアソーム阻害剤で 4-8 時間処理したのち、細胞質、膜成分、核、細胞骨格に分画し、各分画に含まれる hnRNPF および core 蛋白質の安定性について検討した。その結果、hnRNPF を単独で発現させた場合、プロテアソーム阻害剤処理を行うと細胞骨格分画中の hnRNPF が安定化するが、HCV コア蛋白質と共発現した場合安定性の変化はほとんどみられなかった。現在、詳細な機構について解析している。

［村上恭子、勝二郁夫、阿部克俊、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字］

（１１）血球系細胞への HCV JFH-1 株感染性の検討

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、特に血球系細胞への感染および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 HCVJFH-1 の感染の可能性を検討した｡Huh7 細胞で産生した HCV JFH-1 感染性粒子を Raji 細胞等様々な血球系株化細胞に加え、0-8 日間培養後、細胞内 HCV コア蛋白質量を定量した｡その結果、コントロールとして用いた Huh7 細胞では細胞内 HCV コア蛋白質が有意に増加し、感染および HCV 複製が確認できたのに対し、血球系株化細胞で

はいずれの細胞株でもHCVコア蛋白質の増加はみられなかった。
［村上恭子、勝二郁夫、鈴木哲朗、脇田隆字］

（１２）HCV JFH-1RNAを維持した血球系細胞樹立の検討
HCV JFH-1の感染実験により、血球系株化細胞ではHCV JFH-1の感染に必要なreceptorの発現またはHCV複製が不十分である可能性が示された。後者の可能性を検討するため、GFPとネオマイシン耐性遺伝子をレポーターとしてもつsubgenomic replicon RNAを導入し、G418選択とGFP蛍光の両者でreplicon維持細胞が樹立できるか否か検討を行った。Huh7細胞ではday3から50%程度の細胞でGFPの蛍光が観察され、G418耐性の細胞がえられたのに対して、血球系株化細胞ではday3で1%以下の細胞にごく弱いGFP蛍光がみられたものの、G418耐性細胞は得られなかった。
［村上恭子、勝二郁夫、石井孝司、脇田隆字］

（１３）血球系細胞でのHCV JFH-1RNA複製の検討
HCV JFH-1株のsubgenomic replicon RNAを各種血球系株化細胞に導入し、day0-day3のFirefly Luciferase(F-Luci)活性を測定し、HCV-RNAの複製効率について検討した。その結果、Huh7細胞ではday1-３でF-Luci活性がday0と比較し100-1000倍まで増加するのに対して、血球系株化細胞ではいずれの細胞も増加が観察されなかった。これらの結果より、血球系細胞ではHCV RNA複製できないことが示唆された。
［村上恭子、勝二郁夫、脇田隆字］

（１４）血球系細胞でのHCV JFH-1翻訳活性の検討
血球系株化細胞でHCV RNAが複製しない原因を解析した。HCV IRES依存的翻訳効率が不十分である、またはHCV polyproteinのprocessingに問題のある可能性が考えられたため、前者の可能性を検討するため、F-Luciをレポーターとして持つHCV JFH-1株のsubgenomic replicon RNAおよびinternal controlとしてcapを付加したRenilla Luciferase (R-Luci)を各種血球系株化細胞に導入後、4hr後に細胞を回収し、F-LuciおよびR-Luciの活性を測定した。その結果、Bjab細胞ではHuh7細胞とほぼ同様のHCV IRES活性を示した。現在、他の血球株化細胞およびEMCV IRESの活性検討を行っている。
［村上恭子、木村敬郎、勝二郁夫、脇田隆字］

（１５）血球系細胞でのHCV JFH-1polyprotein processingの検討
血球系株化細胞ではHCV RNAは複製しないこと、またHCV IRES依存的翻訳反応は起こっていることが示された。HCV RNAが複製しない原因としてHCVのpolyproteinのprocessingに問題のある可能性が考えられる。そこで，T7プロモーター下流にFirefly Luciferase(F-Luci)をレポーターとして持つHCV JFH-1株のsubgenomic replicon配列を持つplasmidを細胞に導入後、T7polymeraseを発現するワクシニアウイルスを感染させ、24時間後に細胞を回収し、HCV NS3およびNS5Aがprocessingさせているかについて検討を行った。その結果、Bjab細胞ではNS3およびNS5AがHuh7細胞と同様に正常にprocessingされていた。現在、他の細胞株についても同様の実験を行っている。
[村上恭子、木村敬郎、勝二郁夫、石井孝司、脇田隆字]

（１６）HCVコア蛋白質の切断部位の検討
HCVコア蛋白質の切断部位についてはC末側に宿主のsignal peptidaseおよびsignal peptide peptidaseによって二カ所切断されることが既に報告されているが、新規プロセシングの可能性を検討した。HCVコア蛋白質のアミノ酸配列中に既知のprotease切断motifがないか検索したところ、アルブミン成熟過程で重要な酵素であるfurinの切断motifが5カ所存在した。大腸菌で発現精製したGST-HCV coreにfurinを加えたところ、core蛋白が切断された。現在、切断部位の同定、HCV複製および感染過程への影響を解析している。
［村上恭子、勝二郁夫、脇田隆字］

（１７）HCV粒子形成に関与する新規宿主因子の検索
HCV Con-1株のダイシストロニックHCV RNAを維持したHuh7細胞を温度感受性ゲルで三次元培養するとHCV粒子が産生されることから、細胞の三次元化によって発現が変化する宿主因子がHCV粒子形成に関与していることが考えられる。そこで、二次元培養および三次元培養した細胞をプロテオーム解析し、培養形態によって発現の異なる宿主因子を比較検討した。その結果、脂肪酸結合蛋白質(FABP)などいくつかの蛋白の発現が三次元培養細胞で有意に増加していることがわかった。現在、これらの蛋白質がHCV複製および粒子産生効率に及ぼす影響ついて検討を行っている。
［村上恭子、吉崎佐矢香、松田麻未、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男、脇田隆字］

（１８）ラジアルフロー型バイオリアクター(RFB) 三次元培養肝細胞を利用したHCV感染モデルにおけるvirus

quasispecies のダイナミクス

6 種類の C 型肝炎患者血清を同一ウイルス濃度に混合し RFB 培養系に感染させた。2 回の独立した実験から、感染後、第 3～33 日間に 3 回のピークを示す間欠的なウイルスの増減が認められた。各ピーク時の HCV 遺伝子配列を 5’-UTR および HVR について決定した結果、感染時に１０数種類認められたウイルスクローンが、感染後３日目以降、2 種類の株に選択されることがわかった。また、IFN-α 100IU/ml を培地に添加して同様の実験をおこなったところ、HCV-RNA の増加はみられなかった。

[村上恭子、井上寧、Su-Su Hmwe、小俣和彦、石井孝司、相崎英樹、勝二郁夫、鈴木哲朗、宮村達男]

（１９）HCV RNA レプリコン活性に関与する宿主因子の検索

近年、培養細胞における HCV RNA 複製系として報告されているダイシストロニック RNA レプリコンはヒト肝癌由来細胞 Huh7 以外での複製は報告されていない。我々はレプリコン活性に差があるいくつかの Huh7 細胞サブクローンを分離した。これらのサブクローン間における遺伝子発現レベルをマイクロアレイ法により比較検討した。その結果、約 8500 の遺伝子のうち、0.4%にあたる 36 の遺伝子で発現に有意差がみられた。

[井上　寧、村上恭子、Su-Su Hmwe、相崎英樹、勝二郁夫、鈴木哲朗]

（２０）HCV NS3 ヘリカーゼと結合する宿主因子の探索と機能解析

HCV NS3 ヘリカーゼは RNA ヘリカーゼ活性を有し、HCV 複製に重要な役割を果たしている。しかし、その活性制御機構については不明な点が多い。そこで、HCV NS3 ヘリカーゼに結合する宿主因子を分離し、質量分析法で同定した。HCV NS3 ヘリカーゼ結合因子として新規結合因子を８つ同定した。現在、複製に及ぼす影響を解析中である。[浜本いつき、多屋馨子、岡部信彦（感染症情報センター)、勝二郁夫、村上恭子、鈴木哲朗]

（２１）TAP 法による HCV 蛋白結合因子の同定と解析

Tandem affinity purification 法により HCV 蛋白と結合する因子を分離、精製し、質量分析法により同定を行っている。同定された因子について、HCV 蛋白の細胞内での機能、および宿主因子の HCV 複製調節機構を中心に解析を進めている。

［勝二郁夫、市村　徹（首都大学東京)、村上恭子、木村孝郎、大崎一直、高宮智史］

（２２）HCV 感染感受性に関わる宿主因子の解析

HCV 感染感受性に関わる因子を調べるために、JFH-1 由来感染性 HCV に対して感染許容性の低い Huh7 細胞の単一クローニングを試み、得られたクローンの HCV 複製、感染性および細胞表面の HCV 受容体候補分子の発現を調べた。どの要素も細胞クローンによって異なっており、なかでも HCV 受容体候補分子 CD81 が細胞表面に発現していないクローンは感染許容性を示さないことが明らかとなった。

［赤澤大輔、伊達朋子、森川賢一、村山麻子、加賀美奈子、脇田隆字］

（２３）HCV 感染感受性の高い細胞株の樹立

感染性 HCV 粒子を効率よく産生する細胞を作製するために、Huh7 細胞から得られた単一細胞クローンのうち HCV 複製能の高いクローンを選出した。このクローンは細胞表面に HCV 受容体候補分子である CD81 を発現しておらず、HCV に対する感染感受性を示さなかった。そこで、CD81 をこの細胞クローンに導入し細胞表面に発現させたところ、高い HCV 複製能は保ったまま感染感受性を獲得した細胞が得られた。この細胞は HCV に感染させると持続的に感染し、培養上清中に感染性粒子を分泌することが確認された。

［赤澤大輔、伊達朋子、森川賢一、村山麻子、加賀美奈子、脇田隆字］

（２４）ヒト肝由来培養細胞における感染性 HCV 粒子作製の検討

JFH-1 株由来の感染性 HCV 粒子は、現在のところ培養細胞では Huh7 由来に限られている。他の培養細胞での作製を試み、HCV 粒子の特徴に細胞間相違があるか否かを調べている。HepG2 および IMY-N9 細胞に JFH-1 全長レプリコン RNA を導入し、レプリコン細胞を得た。HepG2 および IMY-N9 由来のレプリコン細胞の培養上清は naïve Huh7 細胞に対して感染性を示し、これらの細胞においても感染性 HCV が作製できることが明らかとなった。現在、その性状解析を行っている。

［赤澤大輔、伊達朋子、森川賢一、村山麻子、加賀美奈子、尾見法昭、高橋　仁、白倉雅之、中村紀子・望月英典(東レ医薬研)、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字］

（２５）HCV 粒子の脂質解析

エンベロープウイルスでは粒子形成また感染過程に脂質が重要な役割を果たす例が報告されている。しかし、HCV 粒子に含まれる脂質成分については解析が進んでお

らず、その生理学的役割も不明である。Huh7 細胞で産生させた HCV 粒子を、培養上清から限外濾過法、ショ糖密度勾配超遠心法、親和性クロマトグラフィ法により粗精製し、HCV 粒子に含まれる脂質を生化学的に解析したところ、コレステロール (Chol)／リン脂質モル比が細胞の膜分画に比べ有意に高値を示した。HCV 粒子形成過程において Chol がウイルスエンベロープとアソシエイトし粒子表面に濃縮されることが考えられる。
[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、井上　寧、斎藤恭子・深澤征義・花田賢太郎(細胞化学部)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２６）HCV 粒子の脂質の感染における役割

前述のように、感染性 HCV 粒子では Chol が濃縮されていることがわかったので、次にこのウイルス粒子の膜脂質の役割を解析した。HCV 粒子表面から Chol を除去したところ、感染性が顕著に低下し、Chol を添加したところ感染性が回復した。またスフィンゴミエリン(SM)分解酵素で HCV 粒子を処理すると感染性が減弱した。これらのことは HCV genotype 1 のエンベロープを持つシュウドウイルスでも確認できた。以上から、ウイルス粒子表面の Chol と SM が感染に重要な役割を果たしていることが示された。
[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、井上　寧、谷英樹・松浦善治(大阪大微研)、斎藤恭子・深澤征義・花田賢太郎(細胞化学部)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２７）脂質の HCV 粒子形成における役割

Chol と SM は脂質ラフトの主要構成成分であり、脂質ラフトは細胞内シグナル伝達などを担っている。また、多くのウイルスにおいて粒子形成や感染に重要な役割を果たしていることが報告されている。HCV 感染細胞では、脂質ラフトの特徴である界面活性剤不溶性の膜分画にコア、E1、E2 蛋白が存在した。HCV 構造蛋白の強制発現系から、E1、E2 の膜貫通部位が、脂質ラフトとの結合に重要であることが示唆された。以上から、粒子形成に脂質ラフト構造が関与する可能性が示唆された。
[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、井上　寧、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２８）脂質の HCV 感染初期過程における役割

HCV 粒子膜に含まれる Chol と SM が感染のどのステップに関与するのかを解析した。あらかじめ Chol 除去または SM 分解酵素処理を行った HCV 粒子の宿主細胞との接着性は未処理ウイルスと同等であった。一方、接着したウイルスの細胞内への取り込みを調べた Internalization assay ではこれらの前処理を施したウイルスでは細胞内レベルの顕著な低下が認められた。この結果、ウイルス粒子の膜の Chol や SM は標的細胞の硫酸多糖への結合後、レセプター分子とともに細胞内へ侵入する過程に関与することが示唆された。
[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、井上　寧、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２９）HCV 感染における細胞表面脂質の役割

一般的に、フラビウイルスでは標的細胞の膜の Chol や SM がウイルスの融合におけるエンベロープ蛋白と細胞の膜蛋白の結合に重要なことが知られているが、HCV の融合過程における細胞膜脂質の役割についての報告はない。そこで、HCV 感染における標的細胞の表面の脂質の役割を調べた。あらかじめ細胞表面から Chol や SM を除去しておき HCV を感染させるとその感染性は低下した。HCV と細胞膜との融合過程における脂質の役割を明らかにしていく。
[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、井上　寧、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３０）HCV 粒子の成熟化のメカニズム解析

HCV エンベロープは小胞体滞留シグナルを持つことなどから、HCV 粒子形成は ER で行われているものと推定されてきた。一方、我々は脂質ラフトが HCV 粒子形成に重要な役割を果たしていることを考えており、脂質ラフトがゴルジ以降にしか存在しないことと矛盾している。そこで、HCV 粒子の成熟化のメカニズム解析を目的に、精製 HCV 粒子に含まれる宿主蛋白、脂質の解析を行っている。さらに、感染細胞の各膜分画に存在する HCV 粒子の性状と感染性の解析を行っている。また、細胞内蛋白輸送系を阻害する薬剤やそれに関与する蛋白 Rab の発現をコントロールし、感染性ウイルス粒子産生のメカニズムを解析している。
[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、井上　寧、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３１）JFH-1 株の効率よい RNA 複製に重要な領域の解析

遺伝子型 2a に属する HCV 株のうち、培養細胞で効率よく複製する JFH-1 株と、培養細胞では複製が見られない J6CF 株の間でキメラ RNA を作製し、ルシフェラーゼをレポーターとしたサブゲノミックレプリコンを用いて RNA 複製能を比較した。その結果、JFH-1 株の NS5B から 3’X

にかけての領域がJFH-1株の複製に必須であり、JFH-1株のNS3ヘリカーゼ領域は効率よい複製に重要であることが明らかとなった。
[村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、森川賢一、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３２）JFH-1株配列の挿入によるJ6CF株の複製能獲得の解析

培養細胞での複製が見られないJ6CF株のNS3ヘリカーゼ領域とNS5Bから3'X領域をJFH-1株と交換したキメラを作製し、複製能を獲得できるか検討した。サブゲノミックレプリコンを用いたルシフェラーゼアッセイでは、複製能がJFH-1株と同レベルまで回復していた。次に、全長のキメラ遺伝子を作製し解析したところ、全長キメラ遺伝子は自律的に複製し、その培養上清に含まれるウイルス粒子は感染性を示した。
[村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、森川賢一、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３３）JFH-1株の複製および感染性粒子形成に重要な領域の解析

JFH-1株の複製に重要である領域を、培養細胞では複製できないJ6CF株と置換したキメラウイルスを作製した。NS5B-3'X領域を置換した場合、複製能を完全に失った。NS3ヘリカーゼ領域を置換した場合はJFH-1株と比べて複製能が低くなったが、JFH-1株と同程度のコア蛋白の分泌が観察された。しかし、感染性は100分の1以下であった。以上より、JFH-1株のNS3ヘリカーゼ領域は、複製だけでなく、感染性のウイルス粒子形成にも重要であることが明らかとなった。
[村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、森川賢一、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３４）HCV粒子形成に関わるNS5A領域の解析

HCV NS5AのC末端は遺伝子型間で相同性が低く、同部位へのGFPなどの挿入はHCVの複製に大きな影響を与えないことが知られている。この手法は生細胞におけるウイルス複製の視覚化を可能とするが、一方で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。さらに、リン酸化の可能性が考えられるNS5A C末端領域のセリンクラスターを変異させたところ、RNA複製は変化せずHCVコア蛋白の分泌が低下した。NS5A C末端のセリン残基がHCVの粒子形成過程に重要な役割を担うことが示唆された。
[政木隆博、鈴木亮介、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３５）HCVコア蛋白との結合に重要なNS5A C末端領域の解析

HCV NS5A蛋白は複製複合体の構成蛋白であるだけではなくRNA結合蛋白でもあるため、RNAの複製からコア蛋白へのパッケージング過程において重要なメディエーターになることが推測される。そこで、NS5Aとコア蛋白の相互作用を免疫沈降法で解析したところ、HCVの粒子形成を抑制するNS5A C末端領域の変異がNS5Aとコア蛋白の結合を減弱させることが分かった。この知見はHCV粒子形成過程の解明に有用な情報を与えるものと期待される。
[政木隆博、鈴木亮介、相崎英樹、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３６）Pol Ⅰプロモーター/ターミネーター系を用いて作製した感染性HCVの解析

HCV全長のcDNAをRNA polymerase Ⅰ (pol Ⅰ) プロモーター/ターミネーター間に挿入したプラスミドをヒト肝臓由来細胞に導入することにより、HCV RNAが複製しウイルス粒子が産生されることを見出している。5'及び3' RACE法により、転写されたHCV RNAの末端配列には変異が存在しないことが示された。また、産生された粒子中の全長HCV RNAを解析し、通常のRNA導入系に比べウイルスゲノム変異率が低いことを確認した。
[政木隆博、鈴木亮介、松田麻未、松浦善治(大阪大微研)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３７）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

レプリコンを持つHuh-7細胞にHCVの構造蛋白領域を発現するプラスミドを導入し、このプラスミドが保持する薬剤耐性遺伝子を用いて構造蛋白を恒常的に発現する細胞株を選択した。培養上清を蔗糖密度勾配で分画したところ、構造蛋白、HCVレプリコンRNAは同一の画分に存在し、この画分のHCV蛋白とRNAはヘパリンカラムに結合し、0.5M NaClで溶出された。このことから、HCV構造蛋白とreplicon RNAは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。本構造体が感染性粒子である場合には感染した細胞にはレプリコンが導入されると考えられるため、本画分をHuh-7に感染させネオマイシン含有培地で培養し、コロニー形成能を検討している。
[李　津、石井孝司、張　斌、鈴木亮介、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３８）HCV 1b 型構造蛋白を持つキメラウイルスの作製

遺伝子型 1b の構造領域を 1b 型に置き換えた JFH-1 株キメラウイルス遺伝子を構築した。この遺伝子を導入した Huh-7 細胞からは、感染性ウイルスが産生され培養上清中に放出された。さらにウイルス感染細胞の継代培養を続けた結果、ウイルス産生レベルは 2a 型 HCV(J6/JFH-1)と同程度まで上昇した。そこで、培養上清中のウイルスの遺伝子解析を行ったところ適応変異が認められた。

[白倉雅之、尾見法昭、赤澤大輔、高橋　仁、中村紀子・望月英典(東レ医薬研)、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３９）遺伝子型 2b/2a 間での全長キメラ遺伝子の複製の解析

遺伝子型 2b に属する MA 株の構造蛋白領域と、遺伝子型 2a に属する JFH-1 株の非構造領域を持ったキメラ遺伝子を作製し、複製能、ウイルス分泌能、感染性を解析した。その結果、このキメラ遺伝子は一過性に自律的に複製し、培養上清中にキメラ感染性ウイルス粒子を分泌できることが明らかになった。しかし、感染価は JFH-1 株と比較すると、非常に低い値であった。

[村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、森川賢一、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４０）遺伝子型 2b/2a 間でのキメラウイルスの長期培養の解析

遺伝子型 2b に属する MA 株の構造領域と、遺伝子型 2a に属する JFH-1 株の非構造領域を持ったキメラ遺伝子を培養細胞に導入し、長期培養によりウイルスの産生量、感染性にどの様な変化が生じるかを観察した。ウイルスの分泌は RNA 導入後 1 週間程続いた後、徐々に低下し、3 週間後にはほとんど検出できなくなったが、継代を続けた結果、急激に増加した。培養上清の感染性も、RNA 導入 72 時間後の培養上清と比べて大幅に上昇していた。現在ウイルスゲノムのシークエンスを解析中である。

[村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、森川賢一、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４１）HCV 遺伝子型に特徴的な RNA 複製メカニズムの解析

genotype 1b の HCV では、脂質ラフトが存在する生体膜上で複製複合体を作製し、ウイルス RNA の複製が行われていることを既に見出している。しかしながら、脂質ラフトを阻害する SM 合成阻害剤で genotype 1b の HCV replicon 細胞を処理すると複製効率が低下したものの、genotype 2a（JFH-1 株） replicon では RNA 複製の低下は認められなかった。遺伝子型に特徴的な HCV RNA 複製メカニズムが存在するのか、genotype 1b と 2a を比較しながら解析を進めている。

[相崎英樹、原　弘道、浜本いつき(感染症情報センター)、斎藤恭子・深澤征義・花田賢太郎(細胞化学部)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４２）HCV NIHJ1 株を用いた RNA レプリコンの作製

NIHJ1 株は、輸血後肝炎発症の原因となった供血者検体から単離された HCV 分子クローンであり、その供血者血清はチンパンジーにも感染性を有することが示されている。NIHJ1 株の複製細胞系を構築するため、サブジェノミックレプリコンの作製を試みた。持続的な HCV RNA 複製を認め、10^4～10^7 copies/ug total RNA の HCV RNA を保持する種々の Huh-7 細胞クローンを得た。最も HCV RNA レベルの高い細胞株では、HCV NS5A 及び NS5B 領域にアミノ酸変異を伴う多数の変異が観察された。

[Su-Su Hmwe、鈴木哲朗、相崎英樹、脇田隆字、宮村達男]

（４３）HCV 粒子形成におけるコア蛋白塩基性アミノ酸クラスターの役割

試験管内ヌクレオキャプシド産生系などから、コア蛋白のセルフアセンブリー、RNA パッケージングには N 末端側に 3 カ所存在する塩基性アミノ酸クラスター（aa 6-14, 39-44, 59-72）が重要であることを見出した。各塩基性アミノ酸クラスターを変異させた JFH-1 全長遺伝子を作製し Huh-7 細胞へ導入してウイルス発現を調べたところ、aa 39-44 または 59-72 領域の塩基性アミノ酸をアラニンへ置換することにより粒子産生能が消失することが明らかとなった。

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

（４４）HCV 複製複合体含有膜画分を用いたプロテオーム解析による HCV 複製調節因子の検索

HCV RNA 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。複製複合体画分で顕著に増加していた蛋白を選択し、それらの 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 等で 50%以下まで複製低下が観察された。これらの蛋白について HCV 複製における役割を解析中である。

[相崎英樹、松田麻未、原　弘道、井上　寧、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４５）分子シャペロン TRiC による HCV RNA 複製調節機構

HCV replicon 細胞における高複製期と低複製期の比較プロテオーム解析から、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 を同定した。免疫沈降法により、CCT5 は NS5B 蛋白の AA 71-591 領域を介して結合することを見出した。TRiC は８サブユニット（CCT1～8）から構成されるが、全サブユニットの強制発現により HCV 複製は亢進し、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。TRiC は NS5B のフォールディング介助などに働くことによって HCV 複製調節に関与する可能性が考えられる。

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

（４６）creatine kinase B による HCV 複製調節機構の解析

比較プロテオーム解析により HCV 複製複合体を構成する宿主因子として creatine kinase B（CKB）を同定した。CKB は細胞内の ATP 輸送に働き、ATP/ADP 濃度を一定に保つ役割を担っている。HCV 複製細胞において、CKB 遺伝子のノックダウン、dominant negative CKB の強制発現あるいは CKB 阻害剤 cyclocreatine 処理により HCV RNA 複製の有意な抑制が観察された。CKB は HCV RNA 複製調節に関与する可能性が示された。

[原　弘道、相崎英樹、松田麻未、井上　寧、勝二郁夫、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４７）creatine kinase B と HCV 非構造蛋白との相互作用

CKB は主に細胞質に存在するが HCV 複製複合体（RC）分画からも検出される。そこで、RC を構成する HCV 非構造蛋白が CKB と相互作用するかどうかを検討した。エピトープタグを付加した NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B をそれぞれ発現させた細胞を用いて免疫沈降／ウエスタンブロット解析を行った結果、CKB は NS4A 蛋白と相互作用する可能性が示された。

[原　弘道、相崎英樹、松田麻未、井上　寧、勝二郁夫、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４８）HCV RNA 複製に関与する Huh-7 細胞因子の探索

Huh-7 細胞のサブクローン群には HCV RNA 複製効率のよいクローン（HuhTe6、HuhTe7）とそうでないクローン（HuhTe3、HuhTe4）が存在する。HuhTe6 と HuhTe4 について比較トランスクリプトーム解析を行い、２クローン間で２倍以上発現レベルに差のある遺伝子を 36 種類同定した。HCV 複製調節に関与しうる候補因子として thioredoxin-interacting protein、Rab6B、sorting nexin、UDP-galactose:ceramide glycosyltransferase などが見出された。

[井上寧、村上恭子、Su-Su Hmwe、相崎英樹、宮村達男、鈴木哲朗]

（４９）ユビキチン非依存的な HCV コア蛋白分解機構

コア蛋白のユビキチン化に必要なリジン残基をアルギニンへ置換した変異体を用いた解析から、コア蛋白の半減期は E6AP によるユビキチン化依存的分解経路とともにユビキチン非依存的な分解機構によっても調節される可能性を示してきた。今回、Huh-7 細胞におけるプロテアソーム活性化因子 PA28γのノックダウン、強制発現実験から全長コア蛋白のユビキチン非依存的蛋白分解に PA28γが重要な役割を果たすことが示された。

[鈴木亮介、福田浩一郎、森石恆司・松浦喜治(大阪大微研)、石井孝司、白倉雅之、村上恭子、勝二郁夫、鈴木哲朗、脇田隆字]

（５０）HCV エンベロープ蛋白と糖鎖の相互作用の解析

HCV 感染の初期過程において細胞表面の多糖類とウイルスとの結合が重要であることが知られているが、エンベロープ蛋白と各糖鎖との相互作用についてはほとんど明らかにされていない。E1、E2 がどの糖鎖を認識するかを調べるため、Flag タグを付加した E1、E2 をそれぞれ発現する細胞株を取得した。得られた細胞株を大量培養し、E1、E2 のアフィニティ精製を行っている。糖鎖アレイ等を利用して精製エンベロープ蛋白質と糖鎖との相互作用を解析する予定である。

［松田麻未、石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男、脇田隆字］

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

我々はこれまでにコア、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）。しかしながら、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はウイルス蛋白の発現レベルが低く病態解析が困難であった。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の作製を試みた。現在、マウス組織中における HCV 蛋白の発現を解析中である。
[相崎英樹、小池和彦(東京大)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（５２）HCV 感染に伴う経時的な遺伝子発現の解析

JFH1 HCV を感染させ細胞内の遺伝子発現の経時的な変化をマイクロアレイで解析したところ、CD19、IL11 遺伝子発現に大きな変化が認められた。これらの遺伝子が HCV 感染に与える影響を調べるため、siRNA で発現を抑制した細胞で感染効率の変化を解析中である。
［相崎英樹、各務伸一(愛知医大)、脇田隆字］

（５３）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

ヒト B 細胞由来 Bjab 細胞のコア蛋白発現系を用いて、コア蛋白発現に伴う 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。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り、また CD48 プロモーター部分欠損変異体を使った解析により、コア蛋白による CD48 遺伝子発現調節には転写開始点の上流-871～-591 領域が重要であることが示された。
［町田早苗、鈴木亮介、村上恭子、小俣和彦、石井孝司、勝二郁夫、宮村達男、鈴木哲朗］

（５４）培養細胞で作製した感染性 HCV 粒子のワクチン開発への応用：HCV RNA 複製及びウイルス粒子形成効率の検討

HCV RNA 複製やウイルス粒子形成効率に関して、実験に使用するウイルスゲノム構築および培養細胞を検討した。また、培養上清からウイルス粒子を効率よく精製するために血清濃度等の培養条件を検討した。この検討により現時点での高効率にウイルス粒子を産生するウイルスゲノム、培養細胞株、培養条件を確立することが出来た。
［森川賢一、伊達朋子、赤澤大輔、村山麻子、脇田隆字］

（５５）培養細胞で作製した感染性 HCV 粒子のワクチン開発への応用：感染性 HCV 粒子の精製法の検討

培養細胞上清中に分泌されるウイルス粒子より夾雑物を除去し精製度を高める為、限外濾過、イオン交換クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィー、分子篩クロマトグラフィー、しょ糖密度勾配超遠心等の方法を用いて、ウイルス粒子精製法を検討した。精製法の確立により、感染性 HCV 粒子を含んだ培養上清より約 2000～9000 倍の精製度を有したウイルス粒子の精製標品を得た。
［森川賢一、伊達朋子、赤澤大輔、村山麻子、脇田隆字］

（５６）培養細胞で作製した感染性 HCV 粒子のワクチン開発への応用：ウイルス粒子の性状解析

電子顕微鏡、SDS-PAGE、Western-blotting 法、蛋白質量解析、脂質解析を行い、ウイルス粒子の性状を物理学的、生化学的に解析した。HCV 粒子は粒子単独ではなく、培養液中の添加物や培養細胞より分泌される蛋白質や脂質等の様々な物質と共在している可能性が示された。
［森川賢一、伊達朋子、赤澤大輔、村山麻子、松田麻未、鈴木哲朗、田中恵子・佐多徹太郎(感染病理部)、深澤征義(細胞化学部)、脇田隆字］

（５７）HCV J6/JFH1 株によるワクチン開発：抗体誘導能の検討

HCV J6/JFH1 株ゲノム RNA を Huh-7 細胞に導入して産生した HCV を培養上清より精製した。抗体誘導能を検討するため、初回は精製ウイルスを FCA と懸濁したもの、2 週後に同量の HCV を FIA と懸濁したものをそれぞれ 6 週齢雌・BALB/c マウスに腹腔内投与した。免疫マウスの血清と HCV E1、E2 ペプチドとの反応性を EIA で解析した結果、精製 HCV 粒子をマウスに免疫することにより HCV 表面タンパク質に対する抗体が誘導されることが明らかとなった。
[尾見法昭、森川賢一、赤澤大輔、高橋　仁、白倉雅之、中村紀子・望月英典(東レ医薬研)、鈴木哲朗、石井孝司、脇田隆字]

（５８）HCV J6/JFH1 株によるワクチン開発：感染阻害能の検討

Huh-7 細胞にて産生した HCV JJ6/JFH1 株を免疫したマウス血清が HCV 感染阻害能を有するかを検討した。20 倍に希釈した同血清は、HCV J6/JFH1 株の Huh-7 細胞への感染評価系において特異的な感染抑制効果を示した。HCV 粒子の投与により惹起された免疫は、HCV の感染を阻害しうることが示唆された。HCV 粒子のワクチンとして開発の可能性を追求していくため、さらなる検討を行う予定である。

[尾見法昭、森川賢一、赤澤大輔、高橋　仁、白倉雅之、中村紀子・望月英典(東レ医薬研)、鈴木哲朗、石井孝司、脇田隆字]

（５９）エピトープタグを付加した組換えHCV粒子の作製

効率のよいウイルス精製法を樹立するため、J6/JFH-1遺伝子のE2 HVR1領域にFLAGタグ配列を挿入した組換えHCV粒子の作製を試みた。このJ6/JFH-1 (3×FLAG) RNAをHuh7細胞へ導入したところ、培養上清中のHCVコア産生量は一旦減少したが、導入後22日目以降上昇する傾向が認められた。コア産生量が増加した細胞中の組換えウイルスのゲノム配列を解析したところ、E2領域の糖鎖結合部位の一つであるアスパラギンがリジンに置換されていることが示された。

[高橋　仁、尾見法昭、赤澤大輔、白倉雅之、中村紀子・望月英典(東レ医薬研)、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６０）エピトープタグを付加した組換えHCV粒子の精製

エピトープタグが付加された組換えHCV粒子を産生するJ6/JFH-1 (3×FLAG) RNA導入後の培養上清からウイルス精製を試みた。Protein G Sepharoseに抗FLAG抗体(M2)を結合させ、培養上清と共に混合し、洗浄後、3×FLAG peptideを用いて担体に結合しているウイルスの溶出を行った。その結果、最大で約13%のウイルスが回収された。精製したウイルス溶液の純度検定を行うために、精製サンプルおよび未精製の培養上清のSDS-PAGEを行い、銀染色を行ったところ、精製ウイルス検体ではほとんど夾雑蛋白は検出されなかった。

[高橋　仁、尾見法昭、赤澤大輔、白倉雅之、中村紀子・望月英典(東レ医薬研)、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６１）HCV持続産生細胞株を用いた糖鎖修飾阻害剤の評価

ゼオシン耐性遺伝子を持つPol I発現ベクターをHuh7細胞またはHuh7.5.1細胞へ導入し、HCV粒子持続産生細胞株を樹立した。この細胞株を用いて糖鎖修飾阻害剤の抗HCV効果を検討したところ、グルコシダーゼ阻害剤であるn-nonyl-deoxynojirimycinは感染性HCV粒子の産生を低下させたのに対し、マンノシダーゼ阻害剤であるKifunensineは用量依存的に上昇させた。以上より、エンベロープ蛋白の糖鎖修飾がHCV粒子の形成や感染性に重要であることが示唆された。

[政木隆博、鈴木亮介、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６２）HCV持続産生細胞株を用いたp7阻害剤の評価

アマンタジン、リマンタジンはインフルエンザウイルスに対して抗ウイルス作用を有することが知られているが、HCVに対してはp7蛋白のイオンチャンネル活性の抑制を介した抗ウイルス作用が期待されている。アマンタジン、リマンタジンの抗HCV効果をHCV持続産生細胞株を用いて検討したところ、リマンタジンではウイルス産生を用量依存的に低下させることが明らかとなった。

[政木隆博、鈴木亮介、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６３）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粒子産生系で天然物由来化合物の抗HCV効果を評価した。海綿由来新規化合物EUDST-Hが、高濃度（100 ・M）であるが顕著なHCV RNA複製効果を示しウイルス粒子産生も有意に阻害することを見出した。

[鈴木哲朗、村上恭子、Su-Su Hmwe、勝二郁夫、小林淳一(北海道大学)、宮村達男、脇田隆字]

（６４）C型肝炎治療薬リバビリンに対する耐性HCVの解析

遺伝子型2a (JFH-1)のHCVレプリコン細胞にリバビリンを数ヶ月間処理することにより、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。この耐性細胞中のレプリコンRNAではHCV非構造蛋白領域にアミノ酸置換を伴う遺伝子変異が４カ所認められた。これらの変異がリバビリン耐性に関与するかを明らかにするため、各変異を導入したレプリコンを作製し、リバビリンによる複製阻害効果を検討した。NS5B領域N末端側に存在するアミノ酸変異がHCV JFH-1株のリバビリン耐性獲得に寄与する可能性が示された。

[Su-Su Hmwe、村上恭子、小池和彦（東京大学)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６５）HCV RNA ステムループ構造を標的とした抗 HCV ペプチドの探索と創薬化

学芸大の原田らによって確立された、立体構造を持つRNAに結合するペプチドを効率よくスクリーニングする方法を用いて、HCVのRNAに結合するペプチドのスクリーニングを行った。HCVの3’端に存在するステムループ構造に強く結合するペプチドが３種類見出され、これらの配列にはコンセンサスが存在した。これらと類縁のペプチド群からなるライブラリーを設計しより結合活性の

高いペプチドを探索するとともに、HCV 感染細胞系や HCV レプリコン保持細胞を用いてペプチドの HCV 増殖抑制効果の検討を行っている。
[鎌田麻利江、石井孝司、原田和雄(東京学芸大)、石橋正也(進化創薬)、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６６）HCV コア抗原パネルの作製及びコア抗原検出試薬の評価

遺伝子型 1a, 1b, 2a, 2b, 3a の各 HCV クローン由来コア蛋白を FLAG タグとの融合蛋白として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 HCV コア抗原パネルを作製した。このパネルを用いてコア抗原検出試薬の評価を行ったところ、蛍光酵素抗体法の診断薬で遺伝子型 2a (JFH-1)のコア抗原の検出感度が他のコア抗原に比べ顕著に低いことが見出された。診断薬作製に使われたペプチド抗体の抗原配列と各 HCV クローンのアミノ酸配列を比較し検出感度の差異の原因となりうるペプチド抗体を推定した。
[鈴木亮介、Saeed Mohsan、相崎英樹、水落利明（血液・安全性研究部）、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６７）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。肝炎等克服緊急対策研究事業の一環として、研究班で診療ガイドライン「エビデンスに基づく一般歯科診療における院内感染対策」を作成した。関連する病原微生物（HBV、HCV、ヒト免疫不全ウイルス、単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、麻疹ウイルス、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌、結核菌、梅毒トレポネーマ）についての概説を担当した。関連情報を収集し概説作成を行った。
[鈴木哲朗、奈須純一、佐藤田鶴子（日本歯科大）]

（６８）HCV IRES による PKR の自己リン酸化の誘導

HCV IRES は PKR の活性化を誘導した。活性化に重要な領域を同定した。In vitro 翻訳系で HCV IRES により PKR は活性化され cap 依存的翻訳は抑制されたが、HCV IRES 依存的翻訳は抑制されなかった。これは HCV 感染により PKR が活性化され宿主の翻訳が抑制されるが、HCV 自身の翻訳は抑制されず、HCV 感染による PKR の活性化は HCV の増殖に有利に働くことを示唆する。
[下池貴志、 Mckenna, SA.、Lindhout, DA.、Puglisi, JD.(スタンフォード大学)]

４．E 型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究

（１）遺伝子 1 型（Genotype 1, G1）, G3 及び G4 ウイルス様粒子(VLP) の抗原性の比較

組換えバキュロウイルス発現システムを用い、G1, G3 及び G4 HEV の ORF2 の N 末端から 111 アミノ酸を欠失した領域を昆虫細胞で発現させ、VLP の作製に成功した。G1 と G3 の VLP をマウスに免疫し、単クローン抗体を作製し抗原性を評価した。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製中である。
［李　天成、武田直和、宮村達男］

（２）E 型肝炎ウイルス様粒子(HEV VLP)形成に必須な領域の同定

N 末端から 111 アミノ酸を欠失させた HEV 構造蛋白を組換えバキュロウイルスで発現すると、直径約 23-24nm の VLP が産生される。アミノ酸配列解析によって、この粒子蛋白は 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 E 型肝炎ウイルス(HEV)遺伝子型 1(Genotype 1, G1), G3 および G4 ウイルス様粒子(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 2k bp の HEV 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 の大きな粒子の作製を検討している。
［李　天成、恒光　裕（動衛研)、武田直和、宮村達男］

（４）E 型肝炎ウイルス遺伝子型 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、ウイルス様粒子（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(HEV)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(HEV)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 E 型肝炎ウイルス(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）シジミからの E 型肝炎ウイルス(HEV)遺伝子の検出

ブタ、イノシシなどの動物は HEV のリザーバーであることが明らかになっている。HEV の汚染が野生動物から自然環境へ拡散しているか否かを検証する目的で、河川や湖などに生息しているシジミからの HEV RNA 検出を試みた。2005 年 12 月から 2006 年 3 月まで日本西部地域にある A,B,C,D,E,F,G および H の計八ヶ所の河、湖から採れた市販のヤマトシジミを入手した。中腸線を出発材料として RNA を抽出し、RT-PCR 法で HEV RNA の増幅を行い、増幅産物を直接塩基配列解析、あるいはクローニング後塩基配列解析を行った。シジミ二検体から HEV RNA が検出された。塩基配列を解析した結果、シジミから分離した HEV RNA の配列は日本で分離した株の配列ともっとも類似していた。また、陽性シジミの収穫時期はイノシシの猟期の後半であるので、イノシシなど野生動物の排泄物による汚染、あるいは猟期に捕獲されたイノシシなど野性動物の解体処理などが感染源と考えられた。

［李　天成、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（９）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(HEV)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。HEV 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）]

（１０）キメラマウスにおける E 型肝炎ウイルス(HEV)の複製

HEV が増幅できる培養系はいまだ樹立されておらず、サル以外の実験動物モデル確立されていない。したがって、HEV の増殖、感染のメカニズムはいまだに解明されていないといってよい。本研究では人肝臓細胞に置換されたキメラマウス（遺伝子型：uPA$^{+/+}$/SCID）の HEV に対する感受性を検討した。キメラマウスに遺伝子型１および4のHEVを眼窩静脈叢経由で接種した。経時的に採血、採便を行いELISA法、RT-PCRを用いキメラマウスの血液、糞便中からウイルス抗原およびウイルス RNA を検出した。その結果、ウイルス抗原およびウイルス RNA の両方が検出され、キメラマウスの体内で HEV が持続感染していることが確認された。

［李　天成、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（１１)培養細胞における E 型肝炎ウイルス(HEV)の増殖

HEV は増殖のための確実な細胞培養系が未だに樹立されていないウイルスである。細胞培養系はウイルスの複製、増殖、感染のメカニズムの解明にはどうしても欠かせない手法である。我々は遺伝子型の異なる複数の HEV 株をそれぞれPLC/PRF/5, A549,GL37などの細胞に接種し、経時的に培養上清中の HEV RNA, HEV 抗原を RT-PCR, ELISA 法にて測定し、HEV の増殖できる細胞、あるいはこれらの細胞で増殖できるウイルス株を検索した。現在、PLC/PRF/5 に感染したウイルス株の性状を解析している。

［李　天成、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（１２）HEV genotype3 全長 cDNA の構築

ブタ糞便より Genotype 3 の HEV 遺伝子を RT-PCR 法により増幅し、全長 cDNA を T7 promoter の下流に挿入したプラスミドを構築した。T7 polymerase を用いて HEV RNA を合成し、種々の肝臓由来培養細胞に導入して長期間培養を行ったところ、培養開始後６０日後でも 10^6 copies/ml 程度の HEV RNA が培養上清から検出され、クローニングした HEV が感染性を有する可能性が示唆された。

[石井孝司、吉崎佐矢香、李 天成、武田直和、鈴木哲朗、脇田隆字]

（１３）リアルタイム RT-PCR 法を用いた HEV RNA 定量系の構築

TaqMan RT-PCR 法を用いて HEV RNA 量を定量する系の構築を試みた。ORF2 領域を増幅するプライマーを用い、テンプレートには上記のプラスミドから合成した RNA を使用した。その結果、検出限界 45.5 copies/μl 以上で定量可能な測定系を構築できた。

[吉崎佐矢香、石井孝司、李 天成、武田直和、鈴木哲朗、脇田隆字]

（１４）HEV 非構造蛋白のプロセシングの解析

HEV には 3 つの ORF が存在し、ORF1 はウイルスの非構造蛋白をコードしている。前駆体蛋白から個々のウイルス蛋白がどのようにプロセスされるか解析を行うため、ORF1 の全長領域および C 末側を欠損させた変異体を発現するプラスミド、および同領域を増幅した PCR 産物をテンプレートとし、in vitro translation 法により発現を試みた。全長蛋白の発現とプロセスされたと思われる蛋白が確認された。現在、発現の経時的変化、プロテアーゼの活性中心に変異を導入し不活性型にした ORF1 の発現を解析中である。

[吉崎佐矢香、石井孝司、李 天成、武田直和、鈴木哲朗、脇田隆字]

５．GB ウイルス（GBV）に関する研究

（１）GBV-B 慢性感染モデルの確立

チンパンジーに代わる霊長類サロゲートモデルの開発を主題とし、HCV に最も近縁な GBV-B を用いて新世界ザルへの感染実験を進めている。HCV 感染における長期に渡る感染経過を考慮すると、GBV-B 感染においてもウイルスが排除されず潜伏感染経過を辿る可能性は否定できないため、GBV-B 急性感染期を経たタマリン個体について長期経過観察を行い、上記可能性について検討した。GBV-B 接種サル９頭中７頭において血中ウイルス RNA が検出された。これらの個体では、血中ウイルス RNA は低レベル（10^{2-3}GE/ml）ながら複数回観察され、また抗ウイルス抗体価も有意なレベルを２年以上維持していた。これらの結果より、GBV-B は HCV と同様に急性期以降も検出限界以下のウイルスレベルで長期潜伏感染し、何らかの原因でウイルスの再活性化が誘導されることが明らかとなった。

[石井孝司、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、脇田隆字、飯島沙幸・木村展之・明里宏文(霊長類センター)、森　健一・槙　昇(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因子 E6AP の新規標的蛋白の検索

HPV16E6 蛋白と結合する宿主因子 E6AP はユビキチンリガーゼ活性を有し、p53, hDgl, hScrib などをユビキチン化し、分解する。E6AP は単独でもユビキチンリガーゼ活性を有しており、細胞内蛋白の安定性調節に関与している。新規 E6AP 結合蛋白として PRDX1 を同定した。現在、E6AP による PRDX1 の機能の調節機構について解析を進めている。

[奈須純一、勝二郁夫、村上恭子、鈴木哲朗、佐藤多鶴子（日本歯科大学）]

（２）E6AP による annexin A1 の機能調節

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。E6AP は annexin A1 を Ca2+依存性に結合、およびユビキチン化することを明らかにした。E6AP の強制発現により annexin A1 タンパク量は著明に減少し、内在性 E6AP の siRNA による knock-down で annexin A1 タンパク量が増加することから、細胞内の annexin A1 の安定性は E6AP により制御されていることが明らかとなった。［下地徹、村上恭子、勝二郁夫、松田麻未］

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

これまでに我々は、高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs に SARS コロナウイルス(SARS-CoV)の構造蛋白を組み込んだ組換えウイルスを作製し、小動物に接種して免疫誘導能の確認を行ってきた。今回は田口らによって確立された Pasteurella と SARS-CoV の共感染により惹起されるマウス重症肺炎（SARS）モデルを用いて、肺炎発症を阻止できるかどうかを検討した。S 蛋白を発現する組換え DIs を接種された群は全例が生存したのに対し、コントロール接種群では５日で約 80%が死亡した。また、体重減少でも組換え DIs 接種群には明らかなワクチン効果が認められた。本組換え DIs には SARS 発症を抑制する効果があることが示され、この組換えウイルスはワクチンとして有効であることが証明された。

[石井孝司、鈴木哲朗、宮村達男、横田恭子・大西和夫(免疫部)、長谷川秀樹・永田典代(感染病理部)、水谷哲也・福士秀悦・森川茂(ウイルス第一部)、田口文広・田代真人（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-2

昨年に引き続き、厚生労働科学研究の一環として「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」（小倉肇分担研究班）を全国の 31 衛生研究所を対象として実際のウイルス試料を配布して精度管理を行なった。本年度は、インフルエンザウイルス、ワクチニアウイルス、SARS コロナウイルス、ヘルエペスウイルス、陰性の５種類を使用した。各サンプルは一部大阪公衛研から分与を受け、電子顕微鏡観察用標準品としてパラフォルムアルデヒドで不活化を行い、ブラインド番号を付けて各地方衛生研究所へ送付した。各衛研では、この５種類のサンプルを電子顕微鏡で観察し報告する。昨年同様、研究班は結果を集計して各地方衛生研究所の評価を行なった。結果は、ワクチニアウイルス、SARS コロナウイルスの検出率が 50%と低かった。今まで観察したことが無かった経験不足が明らかとなった。

[宇田川悦子、小倉　肇（岡山県環境保健センター所長）]

（２）超遠心器を使用した電顕観察用ウイルスサンプル作成法の検討

昨年に引き続き、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た。Airfuge に使用するアダプターと同じ傾斜角で電顕用グリッドを保持できるように設計したアダプター試作品２号は、高速遠心（100、000 x g、15 分間）中試作品１号と同様にグリッドがアダプターから離れて浮遊することがわかり、現在その弱点をカバーする改良試作品を検討中である。

[宇田川悦子、森田正隆（日立ハイテクノロジーズ）]

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

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

[宇田川悦子、Bannert N（Robert Koch-Institut）]

（４）組換えバキュロウイルス感染によって誘導される

ノダウイルスの解析

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。このノダウイルスを Tn5 cell line virus と命名した。さらに組換えバキュロウイルスの感染により誘導されたウイルス粒子は感染性を有することを明らかにした。

［李　天成、武田直和、宮村達男］

（５）豚サーコウイルス２型（Porcine Circovirus type 2、 PCV2）と E 型肝炎ウイルス(HEV)のキメラウイルス粒子の作製

離乳後多臓器発育不良症候群（PMWS）は、衰弱、呼吸困難、リンパ節腫脹、下痢、黄疸など様々な臨床症状を呈し発育不良となる豚の消耗性症候群である。その主な病原因子の一つとしてPCV2の関与が指摘されている。PCV2は、日本国内に広く浸潤しており、PMWS防止対策としてPCV2ワクチンの開発が重要であると考えられる。PCV2のORF2をHEV-ORF２のN末端に挿入し、組換えバキュロウイルス発現システムを用いて、PCV2-ORF2とHEV-ORF２の融合蛋白を大量に発現し、キメラウイルス粒子作製が進行中である。

[李　天成、劉　蘭軍、恒光　裕（動物衛生研究所)、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（６）バキュロウイルスを用いたブタサーコウイルス２型（Porcine Circovirus type 2、 PCV2）組換え粒子の産生とその応用

日本で分離したPCV2山形株を用い、構造蛋白領域をコードするORF2の全長を組換えバキュロウイルスで発現した。発現産物を塩化セシウムあるいはショ糖密度勾配遠心法で精製し、ウェスタンブロット法、ELISA法、電子顕微鏡等で抗原性、産生量、ウイルス粒子形成等を解析した。PCV2構造蛋白を昆虫細胞Tn5で発現した場合、予想される28 kDaの蛋白が産生され、顕微鏡で直接観察したところ、直径約20 nmのウイルス様粒子(VLPs)が大量に産生されていた。このVLPsを抗原として抗体検出ELISAを開発し血清疫学調査をおこなった。出荷豚のIgG抗体保有率は100%、野生イノシシのそれは50%であり、PCV2は飼育豚のみならず野生イノシシにも広く浸潤していることが明らかになった。

[李　天成、劉　蘭軍、恒光　裕（動物衛生研究所)、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（７）温度感応性高分子 TGP を用いた三次元培養ヒト肝癌細胞における細胞接着因子の発現解析

Huh7 細胞は TGP を用いた三次元培養において、スフェロイドを形成しながら増殖し、微小胆管様構造や細胞間結合を再構築することが確認されている。そこで、極性の再構築された TGP 培養系において細胞接着因子の発現が変化するか、単層培養系と比較することによって検討を行った。接着結合を構成する E-cadherin は単層培養に比べ、遺伝子発現及び蛋白発現が亢進していることが明らかとなった。現在、種々の細胞接着因子の発現、細胞局在の解析を行っている。

[吉崎佐矢香、村上恭子、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（８）TGP 三次元培養ヒト肝癌細胞における脂肪酸の取り込み能の解析

プロテオーム解析により、TGP 三次元培養ヒト肝癌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 の発現上昇が見られた。そこで細胞内への脂肪酸取り込みに影響があるか、Huh7 細胞を用いて検討した。標識パルミチン酸の取り込みの経時的変化を測定したところ、7 日間 TGP 培養を行った細胞では総蛋白量あたりの脂肪酸の取り込み能は単層培養に比べ有意な亢進が見られた。

[吉崎佐矢香、深澤征義（細胞化学部)、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（９）足場付加型 TGP によるカニクイザル初代培養肝細胞の培養

TGP 三次元培養ヒト肝癌細胞は単層培養に比べて肝機能を示すことが示唆されているが、肝細胞の機能解析や肝臓モデルの構築としては、癌化していない、より正常に近い肝細胞の方が望ましい。多くの正常細胞が足場依存性の増殖を示すことから、細胞接着因子を付加した TGP を用いてカニクイザル初代培養肝細胞の三次元培養を試みた。細胞接着因子としてコラーゲンペプチドを用い、含量、付加方法、基材を変えて培養を行った。単層培養では増殖は見られたが、TGP では増殖が見られなかった。現在、培養条件を詳細検討中である。

[吉崎佐矢香、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（１０）Human ICAD の遺伝子発現調節機構の解析

HCV コア蛋白によってアポトーシス抑制因子 Inhibitor of caspase-activated DNase (ICAD)の発現が誘導されることを見出している。human ICAD の転写調節

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、この領域に転写因子 Myc が結合すること、Myc-DNA 結合に重要な E box 配列を変異させると転写活性が低下することが示された。さらに、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から、human ICAD の発現調節には Myc が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

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

＜別＞　検査業務

第１室：

行政検査

E 型肝炎確認検査　　１件、１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 18 年度は１件(計２検体)の行政検査依頼があり、PCR-RFLP 法あるいは中和法による型内株鑑別試験の結果、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：B 型肝炎ウイルスの遺伝子解析検査　１件

依頼試験：C 型肝炎体外診断薬　１件

B 型肝炎体外診断薬　１件

第５室：

検定業務

乾燥組織培養不活化 A 型肝炎ワクチン　１件

組換沈降Ｂ型肝炎ワクチン(酵母由来)　３件

組換沈降Ｂ型肝炎ワクチン(huGK-14 細胞由来)　５件

行政検査

A 型肝炎血清検査　１件、20 検体

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Blanchard E, Belouzard S, Goueslain L, Wakita T, Dubuisson J, Wychowski C, and Rouillé Y: Hepatitis C virus entry depends on Clathrin-Mediated Endocytosis. J Virol 80: 6964-6972, 2006.

2) Kanda T, Basu A, Steele R, Wakita T, Ryerse JS, Ray R, Ray RB: Generation of infectious hepatitis C virus in immortalized human hepatocytes. J Virol 80: 4633-4639, 2006.

3) Ishii N, Watashi K, Hishiki T, Goto K, Inoue D, Hijikata M, Wakita T, Kato N, and Shimotohno K: Characterization of the replication sensitivity to cyclosporin A among strains of hepatitis C virus. J Virol 80: 4510-4520, 2006.

4) Oka T, Katayama K, Hansman GS, Kageyama T, Ogawa S, Wu FT, White PA, and Takeda N: Detection of human sapovirus by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. J Med. Virol 78: 1347-1353, 2006.

5) Oka T, Yamamoto M, Katayama K, Hansman GS, Ogawa S, Miyamura T. and Takeda N: Identification of the cleavage sites of sapovirus open reading frame 1 polyprotein. J Gen Virol 87: 3329-3338, 2006.

6) Mochizuki M, Ouchi A, Kawakami K, Ishida T, Li TC, Takeda N, Ikeda H, and Tsunemitsu H: Epidemiological study of hepatitis E virus infection of dogs and cats in Japan. Vet Rec 159: 853-854, 2006.

7) Nakai I, Kato K, Miyazaki A, Yoshii M, Li TC, Takeda N, Tsunemitsu H, and Ikeda H: Different fecal shedding patterns of two common strains of hepatitis E virus at three Japanese swine farms. Am J Trop Med Hyg 75:1171-1177, 2006.

8) Obara Y, Nagai H, Yoshida H, and 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.

9) Iwai M, Yoshida H, Matsuura K, Fujimoto T, Shimizu H, Takizawa T, and Nagai Y: Molecular epidemiology of Echovirus type 11 and 13 as determined with environmental surveillance in Toyama Prefecture, 2002-2003. Appl Environ Microbiol 72: 6381-6387, 2006.

10) Sugieda M, Adachi S, Inayoshi M, Masuda T, Tsubota M, Mano H, Iwama M, Murakami Y, Yoshida H, and Shimizu H: Intrafamilial transmission of a Sabin 1-related poliovirus in Shizuoka Prefecture, Japan. Jpn J Infect Dis 59: 277-278, 2006.

11) Arita M, Nagata N, Sata T, Miyamura T, and Shimizu H: Quantitative analysis of poliomyelitis-like paralysis in mice induced by a poliovirus replicon. J Gen Virol 87: 3317-3327, 2006.
12) Okamoto T, Nishimura Y, Ichimura T, Suzuki K, Miyamura T, Suzuki T, Moriishi K, and Matsuura Y: Hepatitis C virus RNA replication is regulated by FKBP8 and Hsp90. EMBO J 25: 5015-5025, 2006.
13) Omatsu T, Nishimura Y, Bak EJ, Ishii Y, Tohya Y, Kyuwa S, Akashi H, and Yoshikawa Y: Molecular cloning and sequencing of the cDNA encoding the bat CD4. Vet Immunol Immunopathol 111: 309-313, 2006.
14) Saito M, Matsuura T, Masaki T, Maehashi H, Shimuzu K, Hataba Y, Iwahori T, Suzuki T, and Braet F: Reconstruction of liver organoid using a bioreactor. World J Gastroenterol 12: 1881-1888, 2006.
15) Baek K-H, Park H-Y, Kang C-M, Kim S-J, Jeong S-J, Hong E-K, Park J-W, Sung Y-C, Suzuki T, Kim C-M, and Lee C-W: Overexpression of hepatitis C virus NS5A protein induces chromosome instability via mitotic cell cycle dysregulation. J Mol Biol 359: 22-34, 2006.
16) Fukasawa M, Tanaka Y, Sato S, Ono Y, Nitahara-Kasahara Y, Suzuki T, Miyamura T, Hanada K, and Nishijima M: Enhancement of de novo fatty acid biosynthesis in hepatic cell line Huh7 expressing hepatitis C virus core protein. Biol Pharm Bull 29: 1958-1961, 2006.
17) Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Mizutani T, Morikawa S, Tashiro M, Suzuki T, Taguchi F, Takemori T, Miyamura T and Tsunetsugu-Yokota Y: Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Adv Exp Med Biol 581: 593-596, 2006.
18) Suzuki T and Suzuki R: Maturation and assembly of hepatitis C virus core protein. In: Molecular Biology of the Flavivirus. Horizon bioscience U.K. pp. 295-312, 2006.
19) Nakai K, Okamoto T, Kimura-Someya T, Ishii K, Lim CK, Tani H, Matsuo E, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Miyamura T, Nunberg JH, Moriishi K, and Matsuura Y: Oligomerization of hepatitis C virus core protein is crucial for interaction with cytoplasmic domain of E1 envelope protein. J Virol 80: 11265-11273, 2006.
20) Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Mizutani T, Morikawa S, Tashiro M, Suzuki T, Taguchi F, Takemori T, Miyamura T, and Tsunetsugu-Yokota Y: Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Adv Exp Med Biol 581: 593-596, 2006.
21) Matsuyama S, Ujike M, Ishii K, Fukushi S, Morikawa S, Tashiro M, and Taguchi F: Enhancement of SARS-CoV infection by proteases. Advances in Experimental Medicine and Biology 581: 253-258, 2006.
22) Ishii K: Vaccines for severe acute respiratory syndrome. SARS, Mizutani T. ed.: 107-117, Transworld Research Network, Kerala, India, 2006.
23) Mizutani T, Fukushi S, Ishii K, Sasaki Y, Kenri T, Saijo M, Kanaji Y, Shirota K, Kurane I and Morikawa S: Mechanisms of establishment of persistent SARS-CoV-infected cells. Biochem Biophys Research Commun 347: 261-265, 2006.
24) Kato T, Date T, Murayama A, Morikawa K, Akazawa D, Wakita T: Cell culture and infection system for hepatitis C virus. Nature Protocols. 1: 2334-2339, 2006.
25) Miyamaoto M, Kato T, Date T, Mizokami M, Wakita T: Comparison between subgenomic replicons of hepatitis C virus genotypes 2a(JFH-1) and 1b(Con1 NK5.1). Intervirology 49: 37-43, 2006.
26) Kato T, Date T, Miyamoto M, Wakita T: A novel virus culture system for hepatitis C virus. Future Virology 1: 519-525, 2006.
27) Kato T, Matsumura T, Heller T, Saito S, Sapp RK, Murthy K, Wakita T, and Liang TJ: Production of Infectious Hepatitis C Virus of Various Genotypes in Cell Culture. J Virol (Epub 2007 Feb 14).
28) Larrea E, Riezu-Boj JI, Gil-Guerrero L, Casares N, Aldabe R, Sarobe P, Civeira MP, Heeney JL, Wakita T, Borrás-Cuesta F, Lasarte JJ, and Prieto J: Upregulation of indoleamine 2,3 dioxygenase in hepatitis C virus Infection. J

Virol (Epub 2007 Jan 17).

29) Uprichard SL, Chung J, Chisari FV, and Wakita T: Replication of a hepatitis C virus replicon clone in mouse cells. Virology J 3: 89, 2006.

30) Wagoner J, Austin M, Green J, Imaizumi T, Casola A, Brasier A, Khabar KS, Wakita T, Gale M Jr, and Polyak SJ: Regulation of CXCL-8 (Interleukin 8) induction by dsRNA signaling pathways during hepatitis C virus infection. J Virol 81(1): 309-318, 2007.

31) Hansman GS, Sano D, Ueki Y, Imai T, Oka T, Katayama K, Takeda N, and Omura T: Sapovirus in water, Japan. Emerg Infect Dis 13: 133-135, 2007.

32) Hansman GS, Saito H, Shibata C, Ishizuka S, Oseto M, Oka T, and Takeda N: Outbreak of gastroenteritis due to sapovirus. J Clin Microbiol 45: 1347-1349, 2007.

33) Hansman GS, Oka T, Okamoto R, Nishida T, Toda S, Noda M, Sano D, Ueki Y, Imai T, Omura T, Nishio O, Kimura H, and Takeda N: Human sapovirus in clams, Japan. Emerg Infect Dis 13: 620-622, 2007.

34) Hansman GS, Ishida S, Yoshizumi S, Miyoshi M, Ikeda T, Oka T, and Takeda N: Recombinant sapovirus gastroenteritis, Japan. Emerg Infect Dis 13: 786-788, 2007.

35) Shirato-Horikoshi H, Ogawa S, Wakita T, Takeda N, and Hansman GS: Binding activity of norovirus and sapovirus to histo-blood group antigens. Arch Virol 152: 457-461, 2007.

36) Matsuura Y, Suzuki M, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I, Yokoyama M, Igota H, Yamauchi K, Ishida S, Fukui D, Bando G, Kosuge M, Tsunemitsu H, Koshimoto C, Sakae K, Chikahira M, Ogawa S, Miyamura T, Takeda N, and Li TC: Prevalence of antibody to hepatitis E virus among wild sika deer, Cervus nippon, in Japan. Arch Virol 152: 1375-1381, 2007.

37) Li TC, Miyamura T, and Takeda N: Detection of hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (Corbicula japonica) in Japan. Am J Trop Med Hyg 76: 170-172, 2007.

38) Hansman GS, Oka T, Katayama K, and Takeda N: Human sapoviruses: genetic diversity, recombination, and classification. Rev Med Virol 17(2): 133-141, 2007.

39) Mizutani T, Endoh D, Okamoto M, Shirato K, Shimizu H, Arita M, Fukushi S, Saijo M, Sakai K, Limn CK, Ito M, Nerome R, Takasaki T, Ishii K, Suzuki T, Kurane I, Morikawa S, and Nishimura H: A new system for rapid genome sequencing of emerging RNA viruses. Emerg Infect Dis 13: 322-324, 2007.

40) Nishimura Y, Shimojima M, Tohya Y, and Miyazawa T: Molecular cloning of a cDNA encoding the feline CD62L. J Vet Med Sci 69: 81-84, 2007.

41) Takao S, Wakatsuki K, Yoshida H, Shimizu H, and Wakita T: Neutralization assays for echovirus 18 isolates in 2006. Jpn J Infect Dis 60: 65-66, 2007.

42) Tuul R, Enkhtuya B, Nymadawa P, Kobune F, Suzuki K, Yoshida H, and Hachiya M: Measles outbreak after a post-honeymoon period in Mongolia, 2001. Jpn J Infect Dis 60: 198-199, 2007.

43) Arita M, Nagata N, Iwata N, Ami Y, Suzaki Y, Mizuta K, Iwasaki T, Sata T, Wakita T, and Shimizu H: An attenuated strain of enterovirus 71 belonging to genotype a showed a broad spectrum of antigenicity with attenuated neurovirulence in cynomolgus monkeys. J Virol 81: 9386-9395, 2007.

44) Fujimoto T, Shinohara M, Ito M, Okafuji T, Okafuji T, Nishio O, Yoshida H, Shimizu H, Chikahira M, Phan GT, and Ushijima H: Detection of dual-infected cases of adenoviruses and coxsackieviruses type B by real-time PCR but not by the conventional viral culture technique. Clin Lab (in press).

45) Iwai M, Takizawa T, Nakayama T, Matsuura K, Yoshida H, Hasegawa S, Obara M, Horimoto E, Kurata T, and Horie H: Evaluation of a two-dose administration of live oral poliovirus vaccine for wild and virulent vaccine-derived poliovirus type 1, 2, 3 strains in Japan. Scand J Infect Dis (in press).

46) Tano Y, Shimizu H, Martin J, Nishimura Y, Simizu B, and Miyamura T: Antigenic characterization of a formalin-inactivated poliovirus vaccine

derived from live-attenuated Sabinstrains. Vaccine (in press).

47) Shirakura M, Murakami K, Ichimura T, Suzuki R, Shimoji T, Fukuda K, Abe K, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, Moriishi K, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T, Howley PM, Miyamura T, and Shoji I: E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein. J Virol 81: 1174-1185, 2007.

48) Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, Murata S, Tanaka K, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, and Matsuura Y: Involvement of the PA28gamma-dependent pathway in insulin resistance induced by hepatitis C virus core protein. J Virol 81: 1727-1735, 2007.

49) Moriishi K, Mochizuki R, Moriya K, Miyamoto H, Mori Y, Abe T, Murata S, Tanaka K, Miyamura T, Suzuki T, Koike K, andMatsuura Y: Critical role of PA28gamma in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 104: 1661-1666, 2007.

50) Ishii K, Iijima S, Kimura N, Lee YJ, Ageyama N, Yagi S, Yamaguchi K, Maki N, Mori K, Yoshizaki S, Machida S, Suzuki T, Iwata N, Sata T, Terao K, Miyamura T, and Akari H: GBV-B as a pleiotropic virus: distribution of GBV-B in extrahepatic tissues in vivo. Microbes Infect 9: 515-521, 2007.

51) Suzuki T, Aizaki H, Murakami K, Shoji I, and Wakita T: Molecular biology of hepatitis C virus. J Gastroenterol 42: 411-423, 2007.

52) Akazawa D, Date T, Morikawa K, Murayama A, Miyamoto M, Kaga M, Barth H, Baumert TF, Dubuisson J, and Wakita T. CD81 Expression is Important for Heterogeneous HCV Permissiveness of Huh7 Cell Clones. J Virol 81: 5036-5045, 2007.

53) Date T, Miyamoto M, Kato T, Morikawa K, Murayama A, Akazawa D, Tanabe J, Sone S, Mizokami M, and Wakita T: An infectious and selectable full-length replicon system with hepatitis C virus JFH-1 strain. Hepatol Res 37: 433-443, 2007.

54) Morikawa K, Zhao Z, Date T, Miyamoto M, Murayama A, Akazawa D, Tanabe J, Sone S, and Wakita T: The roles of CD81 and glycosaminoglycans in the adsorption and uptake of infectious HCV particles. J Med Virol 79: 714-723, 2007.

55) Mizutani T, Fukushi S, Kenri T, Sasaki Y, Ishii K, Endoh D, Zamoto A, Saijo M, Kurane I, and Morikawa S: Enhancement of cytotoxicity against Vero E6 cells persistently infected with SARS-CoV by Mycoplasma fermentans. Arch Virol 152: 1019-1025, 2007.

56) Kiyohara T, Sato T, Totsuta A, Miyamura T, Ito T, and Yoneyama T: Shifting seroepidemiology of hepatitis A in Japan, 1973-2003. Microbiol Immunol 51: 185-191, 2007.

57) Yoneyama T, Kiyohara T, Shimasaki N, Kobayashi G, Ota Y, Notomi T, Totsuka A, and Wakita T: Rapid and real-time detection of hepatitis A virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. J Virol Methods 145: 162-168, 2007.

58) McKenna SA, Lindhout DA, Shimoike T, and Puglisi JD: Biophysical and biochemical investigations of dsRNA activated kinase PKR. Methods in Enzymology 430: 373-376, 2007.

2．和文発表

1) 脇田隆字: ウイルス性肝炎増刊号・ICP のためのウイルス学・臨床と微生物. 33(10) 611-615, 2006.

2) 相崎英樹, 鈴木哲朗, 脇田隆字: HCV 増殖機構の解明. 別冊・医学のあゆみ・消化器疾患 Ver.3, II. 肝・胆・膵 143-146, 2006.

3) 脇田隆字: HCV 発現細胞系の確立. 別冊・医学のあゆみ・消化器疾患 Ver.3, II. 肝・胆・膵 147-151, 2006.

4) 脇田隆字: JFH-1 株を用いたＣ型肝炎ウイルス研究の進歩. 医学のあゆみ 218(10): 883-888, 2006.

5) 脇田隆字: Ｃ型肝炎ウイルス. 分子細胞治療 Vol.5, p364-367, 2006.

6) 脇田隆字: ＨＣＶレプリコンシステム. カレントテラピー, 24(8): 67, 2006.

7) 脇田隆字: 培養細胞で効率よく複製するＣ型肝炎ウイルス株. BIO Clinica, 21(4): 366-371, 2006.

8) 岡智一郎： 食中毒検査. 診療のコツと落とし穴「糞便検体からのカリシウイルス RNA 抽出と検出」 中

山書店, 2006.
9) 李　天成： 食中毒検査. 診療のコツと落とし穴「E型肝炎診断のポイント」 中山書店, p113-115, 2006.
10) 宇田川悦子： 新しい臨床検査・未来の臨床検査・各論（５）感染症検査 19『ノロウイルス検査』,『検査と技術』増刊号（第 34 巻 10 号）2006.
11) 宇田川悦子： 水中の健康関連微生物 6 自然災害による被害と感染症（特別編）モダンメディア Vol.52 No.9, p18-26, 2006.
12) 李　天成： E 型肝炎ウイルスの最新知見. 臨床消化器内科 vol21,No.5, 553-560, 2006.
13) 田中智之, 三好龍也, 内野清子, 武田直和： 世界的に見たノロウイルスの現状. 臨床と微生物 33: 385-391, 2006.
14) 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.
15) ウイルス第二部 第二室, 感染症情報センター第三室, ポリオ, 平成 16 年度感染症流行予測調査報告書 8-47, 2006.
16) 清水博之: 経口生ポリオワクチンと薬剤の併用禁忌, 日本医事新報 4311: 98, 2006.
17) 清水博之, 武田直和: ポリオワクチン, 化学療法の領域 22: 1403-1408, 2006.
18) 李　天成, 石井孝司, 武田直和: E型肝炎ウイルス：感染様式と食中毒. 生物の科学 遺伝別冊 19, 2006.
19) 石井孝司, 水谷哲也: SARSコロナウイルス研究の最前線. 医学のあゆみ 218: 839-844, 2006.
20) 石井孝司, 李　天成: 肝炎ウイルスVLPの作成と応用. 感染・炎症・免疫 36: 44-47, 2006.
21) 相崎英樹, 鈴木哲朗, 宮村達男, Michael M. C. Lai: C型肝炎ウイルスゲノムの脂質ラフトにおける複製. 生化学 78: 321-326, 2006.
22) 脇田隆字, 森川賢一, 村山麻子: HCV 粒子形成システム. 肝疾患レビュー 119-123, 2006.
23) 石井孝司, 李　天成, 武田直和: E型肝炎. 感染・炎症・免疫 37: 58-59, 2006.
24) 李　天成: 海外で罹る危険性のある感染症 Updata. 公衆衛生 71(7)569-571, 2007.
25) 染谷雄一： ノロウイルス感染症とその対策　ファルマシア 43: 147-153 日本薬学会 2007.
26) 白土（堀越）東子： 冬の食中毒: ノロウイルス.「保健ニュース」, 第 1356 号,少年写真新聞社 2007.
27) 白土（堀越）東子： 冬の食中毒：ノロウイルス.「小学保健ニュース」, 第 804 号,少年写真新聞社 2007.
28) 宇田川悦子： バイオテロ等健康危機発生時電子顕微鏡的ウイルス検査の精度管理. 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金「健康危機発生時の地方衛生研究所における調査及び検査体制の現状把握と検査等の精度管理体制に関する調査研究-2」小倉班研究報告書, 2007.
29) 李　天成： E 型肝炎ウイルス. 食中毒予防必携(第二版) 日本食品衛生協会 2007 年 8 月.
30) 片山和彦, 岡部信彦： IDWR：感染症の話. ノロウイルス感染症 2004 年第 11 週（3 月 8-14 日）掲載, 2007 年 3 月 16 日改訂.
31) 武田直和： ノロウイルスの腸内感染メカニズム. 日本医事新報 4325: 96-97, 2007.
32) 清水博之: ポリオの疫学, J. Clin.Rehabilitation 16: 114-120, 2007.
33) 清水博之: エンテロウイルス感染症, 感染症 37: 117-126, 2007.
34) 清水博之: 手足口病, 日本臨床 65: 339-342, 2007.
35) 岩井雅恵, 吉田弘, 松浦久美子: 富山県内河川のウイルス汚染に関する定点観測　公衆衛生誌 54: 178-189, 2007.
36) 鈴木哲朗, 松浦善治: 肝炎ウイルス. 戸田細菌学改訂33版 839-851, 2007.
37) 鈴木哲朗: 歯科医院における院内感染対策に関連する病原微生物の概説. エビデンスに基づく一般歯科診療における院内感染対策 19-28, 2007.
38) 清原知子, 米山徹夫: 海外で罹る危険性のある感染症update-A型肝炎. 公衆衛生 71(7): 566-568, 2007.

Ⅱ. 学 会 発 表

１. 国際学会

1) Wakita T: Production of infectious hepatitis particles in vitro. 2nd International Workshop on Clinical Pharmacology of Hepatitis Therapy. Vienna, Austria, 2006.4.25.
2) Wakita T: In vitro cultivation of hepatitis C virus. Current strategy of new drug development for HCV. Biomedical Enginnering Research Laboratories, Industrial Technology Research Institute, Hsinchu, Taiwan, 2006.5.3.

3) Wakita T: Development of an Infectious HCV system JFH-1, a Fulminant Hepatitis. 2006 ASV Medical Virology Club Satellite meeting. Madison WI, USA, 2006.7.1.
4) Wakita T: Production of Infectious Hepatitis C Virus in Cultured Cells. 12th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease. Paris, France, 2006.7.1-5.
5) Li T-C, Tsunemitsu H, Li X, Cheng R.H, Nagata N, Miyamura T, and Takeda N: Characterization of self-assembled virus-like particles of genotype III hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. ibid.
6) Sugitani M, Sheikh A, Tamura A, Shimizu YK, Shimizu K, Moriyama M, Arakawa Y, Komiyama K, Li T-C, Takeda N, Suzuki K, Ishaque SM, Hasan M: Investigation of hepatitis E virus (HEV) RNA and genotype in sera of Bangladesh. ibid.
7) Shoji I, Shirakura M, Murakami K, Ichimura T, Suzuki R, Suzuki T, Fukuda K, Shimoji T, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, and Miyamura M: E6AP-mediated ubiquitylation and degradation of HCV core protein. ibid.
8) Suzuki T, Inoue Y, Aizaki H, Matsuda M, Shirakura M, Murakami K, Shoji I, Matsuura Y, and Miyamura T: Role of chaperonin-containing TCP complex (CCT) and heat shock cognate protein 70 (Hsc70) in the HCV RNA replication. ibid.
9) Miyamura T and Suzuki T: Production of infectious HCV particles in three-dimensional liver cultures. ibid.
10) Shoji I, Shirakura M, Ichimura T, Murakami K, Suzuki R, Shimoji T, Fukuda K, Abe K, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, Moriishi K, Matsuura Y, Suzuki T, and Miyamura T: E6-associated protein mediates ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein. ibid.
11) Aviel S, Ben-Porath J, Mishori E, Stama D, Cohen N, Terkieltaub D, Zauberman A, Miyamura T, Suzuki T, Aizaki H, nagamori S, Safadi R, Galun E, Eren R, and Dagan S: A cell-based assay for evaluating potential antiviral agents against HCV. ibid.
12) T Wakita: HCV and cell culture-progress and problems. 13th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Cairns, Queensland, Australia, 2006.8.27-31.
13) Zeisel MB, Schnober EV, Haberstroh A, Lavilette D, Cosset FL, Wakita T, Jaeck D, Royer C, Schuster C, Stoll-Keller F, Barth H, Baumert TF, and Blum HE: Scavenger receptor class B type I is a co-receptor for infection with cell culture-derived hepatitis C virus. ibid.
14) Machida M, Huang J, Wang CH, Kondo Y, Sung VMH, Wakita T, Lai MMC. Preferential lymphotropism vs. hepatotropism of different HCV isolates established through infectious full-length viral RNA studies. ibid.
15) Miyanari Y, Usuda N, Atsuzawa K, Watashi K, Wakita T, Hijikata M, Shimotohno K. The analysis of HCV proteins around the lipid droplet-associated membrane in HCV-producing cells. ibid.
16) Fukuda K, Shoji I, Shirakura M, Murakami K, Suzuki T, Wakita T, Mizumoto K, and Miyamura T: Molecular determinants of E6AP-dependent degradation of hepatitis C virus core protein. ibid.
17) Ishii K, Zhang B, Li J, Shirakura M, Morikawa K, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, and Suzuki T: Assembly and release of HCV-like particles in which the viral subgenomic replicon RNAs are encapsidated. ibid.
18) Masaki T, Suzuki R, Matsuda M, Miyamura T, Wakita T, and Suzuki T: Production of infectious hepatitis C virus by using RNA polymerase I-mediated transcription. ibid.
19) Aizaki H, Inoue Y, Matsuda M, Shimoji T, Lai MMC, Wakita T, Miyamura T, and Suzuki T: identification of molecular chaperones as regulators for HCV RNA replication through proteomics approaches. ibid.
20) Fukasawa M, Tanaka Y, Ono Y, Sato S, Suzuki T, Miyamura T, Hanada K, and Nishijima M: Enhancement of de novo fatty acid biosynthesis in hepatic cell line Huh7 expressing hepatitis C virus core protein. ibid.
21) Moriishi K, Moriya K, Miyamoto H, Miyamura T, Suzuki T, Koike K, and Matsuura Y: Critical role

of PA28gamma in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis. ibid.

22) Okamoto T, Nishimura Y, Ichimura T, Suzuki K, Miyamura T, Suzuki T, Moriishi K, and Matsuura Y: Hepatitis C virus RNA replication is regulated by FKBP8 and Hsp90. ibid.

23) Tsutsumi T, Tomobe K, Suzuki T, Mizumoto K, Miyamura T, and Koike K: HCV core protein transactivates IL-8 via ATF-6 pathway. ibid.

24) Murayama A, Date T, Morikawa K, Akazawa D, and Wakita T: NS3 helicase and NS5B to 3 ' X regions are important for efficient JFH-1 replication in Huh7 cells. ibid.

25) Morikawa K, Date T, Murayama A, Kaga M, Akazawa D, and Wakita T: Characterizations of highly purified infectious HCV particles produced in cultured cells. ibid.

26) Akazawa D, Date T, Morikawa K, Murayama A, Kaga M, Wakita T: CD81 expression is important for the heterogenous HCV permissiveness of Huh7 cell clones. ibid.

27) Kato T, Heller T, Matsumura T, Saito S, Sapp RK, Murthy K, Wakita T, and Liang JT: Production of infectious hepatitis C virus of various genotypes in cell culture. The 57th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, MA, USA, 2006.10.27-31.

28) Imamura M, Hiraga N, Tsuge M, Noguchi C, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Tateno C, Honda M, Kaneko S, Wakita T, Yoshizato K, and Chayama K: Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon. ibid.

29) Zeisel MB, Schnober EV, Haberstroh A, Lavilette D, Cosset FL, Wakita T, Jaeck D, Royer C, Schuster C, Stoll-Keller F, Blum HE, Barth H, and Baumert TF. Scavenger receptor class B type I is a co-receptor for infection with cell culture-derived hepatitis C virus. ibid.

30) Morikawa K, and Wakita T: Infectious hepatitis C virus particle binding to the HUH7 cell surface is mediated by glycosaminoglycans and its internalization by CD81. ibid.

31) Wakita T: HCV replication Update. 17th Asian Pacific Associationfor the study of the Liver (APASL) Conference. Kyoto, Japan, 2007.3.27.

32) Li T-C, Miyamura T, and Takeda N: Recent topics on HEV: its omnipresence in our environment and vaccine development. APASL 2007 (Asian Pacific Association for the Study of the Liver), Kyoto, 2007.3.

33) Sugitani M, Sheikh A, Tamura A, Shimizu YK, Shimizu K, Moriyama M, Arakawa Y, Komiyama K, Li T-C, Takeda N, Suzuki K, Ishaque SM, Raihan ASMT, Hasan M: Hepatitis E virus genotype in Bangladesh. ibid.

34) Shoji I, Shirakura M, Murakami K, Ichimura T, Shimoji T, Fukuda K, Abe K, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, Moriishi K, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T, and Miyamura T: The E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein. ibid.

35) Suzuki T, Aizaki H, Miyamura T, and Wakita T: Lipids and molecular chaperones: Critical factors for infection and replication of hepatitis C virus. ibid.

36) Goto T, Ogura H, Oseto M, Sakon N, and Utagawa E: Electron microscopic diagnosis in Japan. International Conference on Electron Microscopy, Sapporo, 2006.Aug28-Sep2.

37) Hansman GS, Oka T, Katayama K, Takeda N: Expression and self-assembly of virus-like particles from the full-length sapovirus genome in insect cells. Fortieth Joint Working Conference on Viral Diseases US-Japan Cooperative Medical Science Program, Sendai, 2006.7.

38) Miyoshi T, Tanaka T, Uchino K, Li T-C, Takeda N: Prevalence of hepatitis E virus in Wakayama and Osaka prefecture. China-Japan International Congress of Virology. Shanghai, 2006.6.

39) Kamata K, Katoh D, Mangan K, Gondaira F, Hirano M, Satoh S, Sakae K, Kobayashi S, Oseto M, Seto Y, Kitamoto N, Tanaka T, and Takeda N: Development of a new ELISA for detection of noroviruses in stool specimens. American Sosiety for Microbiology 106th General Meeting. Orlando, FL, 2006.

40) Takeda N: Norovirus and sapovirus activities in Japan. 2006 International symposium for emerging enteric pathogens. Seoul, 2006.11.
41) Takeda N: Genetic and antigenic diversity among noroviruses. 2006 International workshop on foodborne pathogens. Taipei, 2006.8.
42) Takeda N: Risk factors for hepatitis E virus infection. ibid.
43) Shimizu H: Global Polio Eradication-Remaining issues and new challenges- Capturing Opportunities through Biotechnology, Cibining, Indonesia, 2006.11.
44) Nishimura Y, Arita M, Yoshida H, Ling H, Toda K, Kojima K, Ueno K, Miyamura T, Shimizu H, and Wakita T: Characterization of the type 3 vaccine-derived poliovirus in Cambodia. XIV Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses, Inari, Finland, 2006.Nov26-Dec1.
45) Shimizu H: Emergence and Transmission of Vaccine-derived Polioviruses - Genetic Recombination and Prevalence of HEV-C- Emerging Infectious Disease Workshop, Taipei, 2007.8.
46) Fukuda K, Shoji I, Murakami K, Suzuki T, Miyamura T, and Wakita T: E6AP-mediated ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein. Keystone symposia-Ubiquitin and signaling, Montana, USA. 2.4-9.2006.
47) Matsuura T, Masaki T, Ohkawa K, Miyamura T, Okazaki I, Watanabe T, and Suzuki T: All-trans retinoic acid down-regulates human albumin gene expression through the induction of C/EBP beta-LIP. 2006 FASEB Summer Research Conferences RETINOIDS. Indian Wells, California. 2006.6.17-22.
48) Kiyohara T, Satoh T, Totsuka A, Miyamura T, and Yoneyama T: The shifting seroepidemiological pattern of hepatitis A in Japan, as of 2003. Fifth World Congress on Vaccines, Immunization and Immunotherapy, Canada, 2006.11.
49) Shimoike T, McKenna SA, Lindhout DA, Kim-Park I, Liu C, Aitken C, Fonville J, and Puglisi DJ: HCV IRES RNA-mediated PKR auto-phosphorylation. 9th Annual Retreat of Department of Structural Biology, Stanford University. Asilomar, CA/USA, 2006.11.
50) Lindhout DA, McKenna SA, Aitken C, Shimoike T, Kim-Park I, and Puglisi DJ: NMR studies of human double-stranded RNA-dependent Protein Kinase (PKR). ibid.

2. 国内学会

1) 脇田隆字: C 型肝炎ウイルスの感染複製系の樹立とその応用. ランチョンセミナー, 日本ウイルス学会第 54 回学術集会, 名古屋, 2006.11.19-21.
2) 棟方　翼, 脇田隆字, 野本明男: C 型肝炎ウイルス（HCV）による自然免疫受容体 TLR3 の発現制御. 同上.
3) 森田奈央子, 野村知里, 石橋真理子, 楠美嘉晃, 杉谷雅彦, 脇田隆字, 高山忠利, 江角真理子: 類洞内皮Ｃ型レクチン L-SIGN とＣ型肝炎ウイルス. 同上.
4) 石橋真理子, 脇田隆字, 江角真理子: C 型肝炎ウイルス量の多い肝臓で発現増強する遺伝子 *OASL* の機能解析. 同上.
5) Hansman GS, Oka T, Katayama K, Takeda N: Expression and self-assembly of virus-like particles from the full-length sapovirus genome in insect cells. 同上.
6) Hansman GS, Oka T, Katayama K, Takeda N: Enhancement of sapovirus recombinant capsid protein expression in insect cells. 同上.
7) 岡智一郎, 山本真民, 横山　勝, 小川智子, Hansman S. Grant, 片山和彦, 宮下佳奈, 高木弘隆, 遠矢幸伸, 佐藤裕徳, 武田直和:ネコカリシウイルスのプロテアーゼ活性発現に重要なアミノ酸残基の同定. 同上.
8) 岡智一郎, 片山和彦, Hansman S. Grant, 影山努, 小川智子, 武田直和: サポウイルス核酸検出系の構築. 同上.
9) 染谷雄一, 武田直和, 脇田隆字: ノロウイルス 3C 様プロテアーゼ Glu54 残基の役割. 同上.
10) 白土（堀越）東子, 小川智子, 鎌田公仁夫, 脇田隆字, 武田直和: ノロウイルスと血液型抗原との結合の解析. 同上.
11) 李　天成, 宮村達男, 武田直和: 昆虫細胞 Tn5（BTI-TN-5B1-4 ）におけるノダウイルスの潜伏感染. 同上.
12) 松浦友紀子, 李　天成, 吉松組子, 有川二郎, 恒光裕, 高島郁夫, 鈴木正嗣, 宮村達男, 武田直和: 日

本に生息するシカの E 型肝炎ウイルス抗体保有状況．同上．

13) 有田峰太郎，永田典代，佐多徹太郎，脇田隆字，清水博之：ポリオ様麻痺の発症に関する定量的解析．第 54 回日本ウイルス学会，名古屋市，2006.11.

14) 有田峰太郎，網　康至，脇田隆字，清水博之：エンテロウイルス 71 のマウス感染モデルに関する解析．同上．

15) 西村順裕，有田峰太郎，吉田　弘，小島和暢，宮村達男，清水博之，脇田隆字： カンボジア AFP 症例より分離された 3 型ワクチン由来ポリオウイルス．同上．

16) 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 型肝炎ウイルスの複製における FKBP8 の役割．同上．

17) 岩井雅恵，滝澤剛則，吉田　弘，松浦久美子，長谷川澄代，小原真弓，堀元栄詞，倉田　毅，白木公康：富山県における 2002 年のエコーウイルス 13 型検出と浸淫状況．同上．

18) 水谷哲也，福士秀悦，石井孝司，西條政幸，緒方もも子，酒井宏治，遠藤大二，座本　綾：SARS-coronavirusとMycoplasma fermentansの共感染が細胞に及ぼす影響．同上．

19) 明里宏文，石井孝司，飯島沙幸，槇　昇，森　健一，吉崎佐矢香，木村展之，片貝祐子，揚山直英，岩崎優紀，鈴木哲朗，宮村達男：C型肝炎のサロゲート霊長類モデル：GBV-B長期持続感染マーモセットの解析．同上．

20) 村山麻子，伊達朋子，森川賢一，赤澤大輔，加賀美奈子，脇田隆字：HCV JFH-1 株の RNA 複製に必要な領域の同定．同上．

21) 赤澤大輔，伊達朋子，森川賢一，村山麻子，脇田隆字：HCV感染に関与する宿主因子の探索．同上．

22) 石井孝司，張　斌，李　津，白倉雅之，森川賢一，鈴木亮介，宮村達男，脇田隆字，鈴木哲朗：HCVのsubgenomic repliconを持つウイルス様粒子の形成と放出．同上．

23) 福田浩一郎，勝二郁夫，白倉雅之，村上恭子，下地徹，阿部克俊，奈須純一，高橋由利絵，鈴木哲朗，脇田隆字，水本清久，宮村達男：E6AP依存性HCV core蛋白分解の分子認識機構の解析．同上．

24) 笠原優子，大内史子，深澤征義，佐藤慈子，花田賢太郎，鈴木哲朗，宮村達男，西島正広：C型肝炎ウイルス（HCV）コア発現細胞におけるvimentinの減少．同上．

25) 森石恆司，森屋恭爾，宮本大伸，鈴木哲朗，宮村達男，小池和彦，松浦善治：HCVコア蛋白質による脂肪酸合成促進と肝細胞癌発症におけるPA28gammaの役割．同上．

26) 木ノ本正信，阿部賢治，鈴木哲朗，倉田　毅，佐多徹太郎，徳永研三：G型肝炎ウイルス（GBV-C/HGV）産生系の樹立．同上．

27) 相崎英樹，原　弘道，井上　寧，松田麻未，松浦善治，宮村達男，脇田隆字，鈴木哲朗：HCV RNA複製を調製する分子シャペロンの同定とその機能．同上．

28) 政木隆博，鈴木亮介，松田麻未，松浦善治，宮村達男，脇田隆字，鈴木哲朗：RNA polymerase I promoter/terminator系を用いた感染性HCV粒子の作成．同上．

29) 米山徹夫，清原知子，下池貴志，戸塚敦子： A型肝炎ウイルス（HAV）のRT-LAMP法による迅速診断．同上．

30) 脇田隆字：C型肝炎ウイルスのウイルス培養系の開発とその応用．第13回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会，東京，2007.1.19.

31) 脇田隆字：新任部長・センター長、研究の抱負を語る，学友会セミナー，感染研，2006.7.19.

32) 脇田隆字，相崎英樹，鈴木哲朗：Ｃ型肝炎ウイルスの感染増殖とそれに関与する宿主因子の解析．第 10 回日本肝臓学会大会，シンポジウム６「ウイルス肝炎進展因子の解明」札幌，2006.10.11-12.

33) 森川賢一，脇田隆字：培養細胞で作製した感染性C型肝炎ウイルス(HCV)粒子の精製法確立および精製ウイルス粒子の性状解析．同上．

34) 関根裕子，坂本直哉，中川美奈，田坂めぐみ，櫻井幸，井津井康浩，陳正新，榎本信幸，脇田隆字，渡辺　守：Ｃ型肝炎ウイルス感染増殖系を用いた薬剤のウイルス増殖抑制効果の検討．第 42 回日本肝臓学会総会，京都，2006.5.25-26.

35) 森川賢一，脇田隆字：C型肝炎ウイルス粒子のHuh7細胞への感染におけるHSPGおよびCD81の関与．同上．

36) 横田隆徳，石井孝司，槙　昇，矢野純一，榎本信幸，明里宏文：siRNAの静脈注射によるＣ型肝炎の遺伝子治療：サルを用いたＣ型肝炎サロゲートモデルによる有効性の検討．同上．

37) 岡智一郎，山本真民，横山　勝，小川智子，Hansman S. Grant，片山和彦，宮下佳奈，高木弘隆，遠矢幸伸，佐藤裕徳，武田直和：カリシウイルスプロテア

ーゼの構造機能解析．日本薬学会第 127 年会，富山，2007.3.30.
38) 岡智一郎: ノロウイルス，サポウイルスに関する新知見．第 18 回ウイルス性下痢症研究会，東京，2006.11.18.
39) 桂川　亮，黒澤　馨，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．水環境研究会，川崎市，2006.10.
40) 桂川　亮，宇田川悦子，黒澤　馨: 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 19 回日本沿岸域学会研究討論会，東京都，2006.7.
41) 武田直和，白土東子，宮村達男: ノロウイルス感染症．第 80 回日本感染症学会学術講演会，東京，2006.4.
42) 李　天成: E 型肝炎ウイルス．平成 18 年度希少感染症診断技術研修会，東京，2007.2.15.
43) 李　天成: わが国における野生シカの HEV 感染状況．宮川庚子記念研究財団肝炎ワークショップ札幌，2006.10.13.
44) 宇田川悦子: ウイルス感染症学．綾瀬市，2006.2.
45) 宇田川悦子: 腸管感染症「ロタウイルス，アデノウイルス，カリシウイルス」．日本臨床検査協会，東京都，2006.10.
46) 宇田川悦子: 下痢症ウイルス感染症．臨床検査技師会東青支部学術懇話会，青森市，2006.10.
47) 宇田川悦子: 腸管系ウイルス感染症（ノロウイルス）に関して．平成 18 年度漁村水環境研修会，東京都，2006.11.
48) 西村順裕，下島昌幸，遠矢幸伸，明石博臣，宮沢孝幸: ネコ末梢血における CD16 分子の発現．第 142 回日本獣医学会，山口，2006.9.
49) 水谷哲也，遠藤大二，白土憲也，岡本道子，渡辺理恵，福士秀悦，西條政幸，倉根一郎，石井孝司，鈴木哲朗，清水博之，高崎智彦，森川茂，西村秀一: 新興・再興感染症に備えた迅速な網羅的ウイルスゲノム検出方法(LAV 法)．日本獣医学会総会，2006.
50) 永田典代，清水博之，武田直和，長谷川秀樹，佐多徹太郎，倉田　毅: ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス(TgPVR21)を用いた Sabin 由来不活化ワクチンの免疫効果に関する研究．日本ワクチン学会，泉佐野市，2006.10.
51) 吉田　弘: シンポジウムⅡ「環境水系の感染症」環境水系の感染症：オーバービュー．第 48 回臨床ウイルス学会，富山市，2007.6.
52) 清水博之： ポリオウイルスとエンテロウイルスにおけるゲノム遺伝子組換え．同上．
53) 松浦善治，森屋恭爾，田中啓二，宮村達男，鈴木哲朗，小池和彦，森石恆司: C型肝炎ウイルスによる脂肪肝および肝癌発症におけるPA28gammaの役割．第65回日本癌学会学術総会，横浜，2006.9.
54) 三好秀征，森屋恭爾，新澤靖子，藤江　肇，堤　武也，新谷良澄，四柳　宏，鈴木哲朗，宮村達男，小池和彦: C型肝炎ウイルスコア蛋白によるミトコンドリア障害とタクロリムスの保護作用．同上．
55) 吉崎佐矢香，松田麻未，村上恭子，相崎英樹，石井孝司，宮村達男，脇田隆字，鈴木哲朗: 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機能的解析とプロテオーム解析．日本分子生物学会2006フォーラム，名古屋，2006.12.
56) 小俣和彦，政木隆博，鈴木亮介，佐藤田鶴子，宮村達男，鈴木哲朗: アポトーシス調節因子ICADの遺伝子発現調節機構の解析．同上．
57) 勝二郁夫，村上恭子，白倉雅之，市村徹，鈴木亮介，鈴木哲朗，福田浩一郎，下地徹，佐藤慈子，深澤征義，山河芳夫，西島正広，宮村達男，脇田隆字: E6AP依存性HCVコア蛋白分解によるウイルス産生調節機構．同上．
58) 赤澤大輔，伊達朋子，森川賢一，村山麻子，加賀美奈子，脇田隆字: HCV感染に関与する宿主因子の探索．第2回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム，広島，2006.6.

3．ウイルス第三部

部長 田代眞人

概　要

当部は村山支所に配置され､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18年4月1日付けで關文緒（第３室研究員)、渡邊理恵（第５室研究員）が採用となり、氏家誠研究員が第５室から第１室に配置となった。また、8月１日付で駒瀬勝啓が第２室長に就任し、平成19年2月16日付で松山州徳が米国留学から帰国して第5室研究員に復職した。また、3月１日付で第４室久保田耐主任研究員が米国留学から帰国した。一方、平成19年3月31日付で、渡邊理恵（第５室研究員）が退職した。

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、ワクチン国家検定のSOP等の改定、標準品の整備等を進め、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に必要な改善を行った。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、対応策を提言した。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る努力を続けている。

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、感染症情報センターと協力して進め、流行ウイルスの抗原・遺伝子解析と流行予測を行い、厚労省の依頼に応じて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､WHOH5N1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、また、WHO、世界銀行、JICA等の依頼に応じて、多くのアジア各国への技術指導、研修を実施した。

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．インフルエンザウイルス遺伝子の大量解析に関するNITEとの共同事業

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拡大に伴い、薬剤耐性ウイルスの出現が問題となっており、薬剤耐性株のモニタリングおよび薬剤耐性マーカー解明に、流行株の継続的な遺伝子解析が非常に重要である。そこで昨年度に引き続き、独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)との共

同事業により、本年度は 2005/06 シーズン（2005 年 10 月～2006 年 9 月）に分離された A /H1 型 234 株、A/H3 型 356 株、B 亜型 163 株および 2006/07 シーズン（2006 年 10 月～2007 年 2 月）に分離された A /H1 型 35 株、A/H3 型 67 株、B 亜型 51 株の HA 遺伝子、NA 遺伝子、M 遺伝子について解析した。これまでに報告されたオセルタミブル耐性に変異した NA 遺伝子を持つウイルス株は、2005/06 シーズンに分離された A /H1 型で 4 株、B 亜型で 1 株見つかったが、2006/07 シーズンに分離された株からは見つからなかった。一方、アマンタジン耐性に変異した M 遺伝子を有している株の割合は、2005/06 シーズンに分離された A /H1 型で約 26%、A/H3 型で約 84%、2006/07 シーズンに分離された A /H1 型で約 86%、A/H3 型で約 70%であり、国内でもアマンタジン耐性株の流行が拡がっている事が明らかになった。一方、オセルタミブル耐性株の流行は 2005/06 シーズンに 5 株見つかっているのみで 2006/07 シーズンは見つかっていない事から、国内のオセルタミブル耐性株の流行は、アマンタジン耐性株ほど拡がっていない事が示唆された。[影山努、小渕正次、田代眞人、堀川博司・細山哲・矢代勲・藤田信之(独立行政法人製品評価技術基盤機構)、小田切孝人]

2． インフルエンザワクチンの臨床評価研究

ワクチン接種により得られる抗体に対する流行株の交叉反応性を調べることは、インフルエンザワクチンの有効性やワクチン株の変更の必要性を検討する上で重要である。ウイルス第 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、流行株に対する交叉反応性を評価した。英国、米国およびオーストラリアから入手した血清についても同様の評価を行い、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、高井弘美、齋藤玲子・鈴木宏(新潟大学医学部公衆衛生学)、柏木征三郎(福岡県赤十字血液センター)、小田切孝人、田代眞人]

3． 我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 年末から東アジアの家禽で発生した A/H5N1 型高病原性鳥インフルエンザの大流行は、中近東、ヨーロッパ、アフリカへと拡大した。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、渡り鳥によって高病原性鳥インフルエンザウイルスが我が国に持ち込まれる可能性がある。本研究では、高病原性鳥インフルエンザウイルスの国内侵入を監視する目的で、渡り鳥における鳥インフルエンザウイルスの生態調査を行った。西日本の湖沼において採取された野生水禽の糞便 973 検体を発育鶏卵または MDCK 細胞に接種したところ、13 株の鳥インフルエンザウイルスが分離された。全ての分離株について抗原性状と遺伝子性状を解析したところ、いずれの分離株も低病原性の鳥インフルエンザウイルスであることが確認された。[今井正樹、二宮愛、氏家誠、千々和勝己(福岡県保健環境研究所)、島津幸枝(広島県立総合技術研究所保健環境センター)、山岡政興(兵庫県立健康環境科学研究センター)、中村雅子(福井県衛生環境研究センター)、石崎徹(京都保健環境研究所)、田代眞人、小田切孝人]

4． 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(H5N1-HPAIV)は、現在も東南アジア、東アジア、中東、アフリカ地域を中心に流行が続いている。H5N1-HPAIV の流行株は、抗原的あるいは HA 遺伝子の違いに基づいて大きく 2 つのクレードに分類されており、2006 年からはクレード 2 はさらに 3 つのサブクレードに細分された。2004 年ベトナムで主に流行したクレード 1、2005 年以降インドネシアで主に流行しているクレード 2 サブクレード 1(クレード 2.1)、中国青海湖、中東、アフリカ、ヨーロッパ等の地域で流行しているクレード 2.2、主に中国南部で流行しているクレード 2.3 である。ヒトでの感染例も家禽での流行と平行して、増加の一途をたどり、新型インフルエンザの発生が懸念されているが、昨年度構築した検出系で新たに出現したクレード 2.3 も含め、全てのクレードに対して H5N1-HPAIV を検出できるのかどうか臨床検体を用いて確認を行った。その結果、全てのクレードの H5N1-HPAIV の HA 及び NA 遺伝子を特異的かつ高感度に捉えることができる検査系の構築ができた。[影山努、今井正樹、二宮愛、氏家誠、田代眞人、小田切孝人]

5． 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 年に分離されたクレード 1 の強毒株に由来するプロトタイプワクチン株 NIBRG-14 が、近年の流行株であり抗原性の異なるクレード 2 のウイルスに対しても有効か否かを検討した。（財）阪大微生物病研究会が NIBRG-14 から作製したアルミニウムアジュバント添加ホルマリン不活化全粒子ワクチンをマウスに皮下接種して免疫し、強毒のクレード 2 ウイルス（A/Indonesia/6/05、A/Turkey/12/06）に対する血中抗体価を測定した。さら

に、免疫したマウスに強毒株を感染させ、防御効果を調べた。その結果、クレード1のワクチン株であるNIBRG-14で免疫したマウスにおいても、ホモと比較すると力価は低いが、クレード2ウイルスに対する中和抗体が誘導された。また、強毒のクレード2ウイルスの攻撃に対して、抗体が検出限界以下だった個体を含め、ワクチン接種した全てのマウスが生残した。以上のことから、クレード1のプロトタイプワクチンNIBRG-14は、抗原性の異なるクレード2ウイルスの流行時にも使用できる可能性が示唆された。[二宮愛、今井正樹、多田善一(（財）阪大微生物病研究会)、田代眞人、小田切孝人]

6. ヒト用新型インフルエンザワクチン製造株作製のための細胞株の有用性に関する研究

人に接種でき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、高度な安全性が確保されたワクチン製造用細胞株が必要である。我々は既に、American Type Culture Collectionから入手したLLC-MK2細胞は安全性が高く、ヒト用ワクチン製造用細胞株として有望であることを報告している。更に我々は、この細胞を用いたRGシステムで、A/H5亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスから弱毒化ワクチン株を作製できることを報告している。今回は、LLC-MK2細胞のRGシステムがヒトシーズナルインフルエンザワクチン株の作製にも応用できるどうかを検討した。その結果、ヒトのA/H3亜型流行株からワクチン製造株を効率良く作製できることが分かった。また、B型ウイルスの作製にも利用できることが分かった。[今井正樹、氏家誠、田代眞人、小田切孝人]

7. 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に起因する新型インフルエンザの出現に備えるために、試作ワクチン株を作製した。2006年にトルコ患者から分離されたA/Turkey/12/2006（H5N1）ウイルスを基にリバースジェネティクス技術を用いて弱毒化組み換えウイルスを作製し、その増殖性および抗原性を調べた。その結果、このウイルスは発育鶏卵で効率良く増殖し、その抗原性は強毒型の野生株と同じであることが分かった。[今井正樹、二宮愛、氏家誠、影山努、望月菊、小田切孝人、田代眞人]

8. 国家備蓄用 H5N1 プロトタイプワクチン候補株の増殖性の検討

高病原性鳥 A/H5N1 型インフルエンザウイルスに起因した新型インフルエンザによる世界的大流行が起こる可能性が高くなった事から、国の新型インフルエンザ対策の一環としてH5N1ワクチンの備蓄が進められている。我が国では、WHOが推奨するH5N1ワクチンとしてNIBRG-14、NIBRG-23及びIndonesia-5の3株を備蓄ワクチン候補株として確保している。ワクチンの製造は孵化鶏卵を用いて行われるため、H5N1備蓄ワクチン株の選定材料の一つとして孵化鶏卵での増殖性が重要となる。我々は、これらの H5N1 ワクチン候補株の孵化鶏卵での増殖性を検討するためウイルス感染価（EID_{50}）の測定及びウイルス蛋白質収量を調べた。この結果、Indonesia-5、NIBRG-14、NIBRG-23 の順に高い増殖性を持つ事が明らかとなった。これらの結果は、国家備蓄ワクチン株選定の判断材料として活用された。[氏家誠、今井正樹、二宮愛、影山努、小渕正次、板村繁之、小田切孝人、田代眞人]

9. 高病原性 A/H5N1 型鳥インフルエンザウイルスの性状解析

2006 年にインドネシアの国立衛生研究所から送付されたH5N1インフルエンザ疑いの24検体から、MDCK細胞を用いてウイルス分離を行い6株のH5N1ウイルスを分離した。この分離株について、抗原解析を行ったところ、抗原性は WHO が推奨するプロトタイプワクチン株(A/Indonesia/5/2005)と類似していることがわかった。このことから、2006 年にインドネシアで流行した H5N1 ウイルスは 2005 年のプロトタイプワクチン株と比べて抗原性に大きな変化がない事が示唆された。[氏家誠、今井正樹、影山努、二宮愛、小渕正次、板村繁之、小田切孝人、田代眞人]

10. 新型インフルエンザ対策ガイドライン策定への参画

高病原性 A/H5N1 型鳥インフルエンザウイルス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、わが国においても新型インフルエンザ対策ガイドラインの策定を急ピッチで行い、今年度はフェーズ４以降のガイドラインの策定が行われた。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、抗インフルエンザ薬および国家備蓄プレパンデミックワクチン、パンデミックワクチンの接種実施時期の設定、接種対象者の優先順位等に関するガイドライン作成に協力した。また、医療機関における診断検査のためのガイドライン作成にも協力した。 [小田切孝人、田代眞人]

11. 孵化鶏卵高増殖タイプワクチン株の開発

インフルエンザウイルス H5N1 ワクチン株は、孵化鶏卵で高増殖する A/PR/8/34 (PR8) 株をバックボーンとするリバースジェネティクス(RG)技術によって作製される。WHO の推奨する H5N1 プロトタイプワクチン株(NIBRG-14)は、孵化鶏卵における増殖効率が悪く、必ずしもワクチン製造に適していない。一方、このワクチン株の増殖能は、そのバックボーンである PR8 株 (NIBSC-PR8) の NS 遺伝子を別の PR8 株 (UW-PR8) の NS 遺伝子に置換することで、改善される可能性が示唆された。そこで、本研究では、H5N1 ワクチン製造に適した PR8 株を確立するために、3 種類の PR8 株 (NIBSC-PR8、UW-PR8、NIID-PR8) から NS 遺伝子をクローニングし、それぞれの NS 遺伝子を持つ PR8 株を作製した。孵化鶏卵における増殖能をウイルス感染価及び蛋白質収量で検討したところ、3 株間に有為な差は見られず、何れのウイルスも孵化鶏卵で良く増えることが分かった。今後は、それぞれの NS 遺伝子を持つPR8株とH5N1株とのリアソータントウイルスを作製し、それらの増殖性を比較する予定である。 [氏家誠、今井正樹、二宮愛、田代眞人、小田切孝人]

12. 新型インフルエンザワクチン接種者の血清抗体の交差反応性の解析

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の開発は緊急の課題であり、早期の認可を目指してワクチン製造所と協力してアラム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。現在世界的な規模で流行して新型インフルエンザの可能性の高い高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 ウイルスには様々な流行ウイルスが認められ、それらの抗原性は多様であり特定のウイルス株によって製造されたワクチンの交差反応性はワクチン開発において重要な課題のひとつである。そこで、第 1 相臨床試験に参加されたワクチン接種者から同意の得られた方の血清についてワクチン株とそれとは遺伝的、抗原的に異なるワクチン候補株 2 株について中和抗体価を測定した。抗原性の異なるウイルス株についても交差反応性は認められたがその抗体価はワクチン株に対する抗体価と比較して低い値であり、ウイルス株によって異なる交差反応性を示した。これらの交差反応性のウイルス感染に対する防御効果については今後の検討が必要である。[板村繁之、河野直子、細菌製剤協会、小田切孝人、田代眞人]

13. 新型インフルエンザワクチン株製造のための GMP 準拠施設の運用に関する調査

平成 19 年度完成予定のワクチン株製造施設の建設に伴い、施設の GMP に準拠した運用のために必要なワクチン株製造のための工程、品質管理方法、設備基準等について文献や海外の同様の施設からの情報を収集し調査した。それらの情報に基づいて、GMP に則した運用を実施するために基準書、標準手順書などの法令等で定められた文書整備を進めている。[板村繁之、今井正樹、二宮愛、氏家誠、篠原克明(バイオセーフティ管理室)、網康至(動物管理室)、小田切孝人、田代眞人]

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イオンチャンネル蛋白質 BM2 は、86 個のアミノ酸残基 (アミノ酸 24-109 番目) から成る細胞質領域を持っている。今回我々は、ウイルス増殖過程における BM2 蛋白質細胞質領域の役割を明らかにするために、細胞質領域のカルボキシル末端に変異を導入したウイルスを作製し、その性状を野生株と比較した。その結果、細胞質領域の 86 番目から 97 番目のアミノ酸がウイルスの感染性粒子形成にとって重要であることが分かった。［今井正樹、二宮愛、小田切孝人］

15. B 型インフルエンザウイルス HA 蛋白質の脂肪酸付加に関する研究

B 型インフルエンザウイルスの HA 蛋白質(BHA)は膜融合活性及び受容体結合能を持ちウイルス感染において重要な働きを持つ。BHA の細胞質内領域には高度に保存された 2 つの脂肪酸付加部位が存在しパルミチン酸が付加する。我々は、BHA の脂肪酸付加が感染性ウイルス粒子形成にどのような影響を与えるかを明らかにするために、脂肪酸付加部位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。この結果、脂肪酸付加部位を欠損した変異体は野生株に比べて MDCK 細胞上で感染価の低下、プラークサイズの減少及び増殖速度の低下が観察された。一方、BHA を恒常的に発現する MDCK 細胞では、これらの変異ウイルスの感染価、プラークサイズ及び増殖速度は大きく改善された。これらの事から、BHA の脂肪酸付加がウイルス増殖に重要な働きを持つ事が示唆された。[氏家誠、今井正樹、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(継続)

診断キットや検査会社の精度を管理するための風疹

標準パネル血清を整備することを目的として、風疹罹患者、ワクチン接種者 88 人からインフォームドコンセントを得て血清を収集し、HI 法、 EIA 法、中和法で風疹抗体価を測定した。HI 抗体価と EIA 法による国際標準単位(IU)抗体価は良く相関し、両抗体価で抗体価の変換が相互に可能であると考えられた。一方、中和抗体価と HI 抗体価、あるいは IU 抗体価間には強い相関はなかったが、相関性は観察された。今後、これらの情報を基に収集した血清からパネル血清の選択を行う。[駒瀬勝啓、大槻紀之、海野幸子、堀内善信(細菌第二部)、門澤和恵]

2． ワクチン製造株の品質管理に関する研究

シードロットシステムはワクチン製造用株と製造承認株の同等性を担保するシステムであるが、ウイルスは複数のクローンの集合体であり、また、容易に変異することから、許容された継代数内でも変異する可能性がある。風疹ワクチンの製造用株の安定性を検証するために、製造各社の製造開始当初のロットと現在のロットでの構造タンパク遺伝子の塩基配列を比較した。TO-336 株は変異が見られず、高橋、松葉株は製造当初の population 比率が変化していると想像される変異が見いだされた。また、松浦株では 3 カ所の変異があった。これらから遺伝子解析はワクチンの品質管理に有用であると考えられた。［大槻紀之、阿保均、門沢和恵、駒瀬勝啓］

3．風しんワクチン株の全塩基配列の解析

風疹ウイルスワクチン株、高橋株と松浦株、および松浦株の親株の全ゲノム塩基配列を決定した。塩基配列の決定は RT-PCR 法で増幅した遺伝子断片をダイレクトシークエンスした。ゲノム全長はそれぞれ 9762 塩基であり、松浦株とその親株との差は塩基配列で 48 塩基、そのうちアミノ酸置換を伴う変異は、構造蛋白質内に 9、非構造蛋白質内に 10 であった。これらの情報はワクチンの品質管理や風疹ウイルスの病原性発現機構の解析に有用である。［大槻紀之、阿保均、門沢和恵、坂田真史・中山哲夫(北里大学)、駒瀬勝啓］

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他の細胞株と比較して Vero/hSLAM 細胞でより良好な成績を得た。また同一検体から Vero/hSLAM および B95a 細胞で得られた麻疹ウイルスの野生株の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、培養条件の簡略化、MR ワクチンの力価試験等への応用、各施設間における手技の標準化なども検討している。［齋藤義弘(慈恵会医科大学)、菅井敏行、關文緒、沼崎啓、田代眞人］

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

有効な麻疹抑制対策の実行のためには安全で有効性の高いワクチン開発の開発・導入が不可欠である。またウイルス学的および遺伝子学的特性に基づいたワクチンの評価および品質管理と安全性に関する科学的監視体制の確立も重要である。現在わが国で市販されている弱毒生麻しんワクチンの最終製品はニワトリ胚培養細胞で増殖したウイルスを含む培養上清から作られている。現状の製造過程ではウシ血清以外にも多くの動物由来成分の含有が認められるが、将来的にはヒト由来細胞の組織培養系による麻しんワクチン製造も必要なものと考えられる。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。Dispase 処理後の無血清培地添加の条件下では通常のウシ胎児血清添加の条件下よりも著しい付着細胞数の減少を認めた。Dispase 処理後の無血清培地添加の条件下では 8 日目で 1.0 log の力価の低下が認められた。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(慈恵会医科大学)、堤裕幸(札幌医科大学)、沼崎啓］

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る。現在我が国で市販されている麻しんワクチンは AIK-C 株、Schwarz-FF8 株、CAM 株由来であり、ニワトリ胚細胞(CEF)で増殖させた麻疹ウイルスを含む培養上清を元に製造さ

れている。麻しんワクチンウイルスのHおよびN遺伝子配列の変化について検討した結果ではN遺伝子に多くの変化が認められたことから、N 遺伝子配列が遺伝子学的診断に有用であるものと判断された。これらの結果からワクチン株品質管理における問題点が明らかとなった。［關文緒、菅井敏行、齋藤義弘(慈恵会医科大学)、沼崎啓］

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6年後に右耳下腺腫脹を訴えたケースである。ムンプスウイルス野生株が分離され、ワクチンによる免疫が低かったために野生株に感染したと判断した。2 例目は、ワクチン接種29日後に左耳下腺腫脹を訴えたケースであり、ムンプスウイルスワクチン株が分離された。ワクチンの副反応と解釈した。3例目はワクチン接種後18日目に右耳下腺腫脹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。[加藤篤、木所稔、名木田章(岡山県倉敷市水島中央病院)、田代眞人]

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

同一の親株から分離されながら中枢神経病原性の異なるムンプスウイルス株Y125とY213の中枢神経病原遺伝子を特定するためには、ウイルスリバースジェネティクス系の確立が必須である。その技術的基盤となるレポーター遺伝子を組み込んだミニレプリコンを構築した。ミニレプリコンプラスミドを、NP、P、L遺伝子を発現するヘルパープラスミドと共に細胞にトランスフェクトしたところ、高いレポーター活性が検出され、ミニレプリコンに由来するミニゲノムが複製、転写、翻訳の各段階を忠実に再現したことが証明された。ヘルパープラスミドの混合モル比は検討した条件内においては NP:P:L＝2:1:1 がベストであり、センダイウイルスの結果と一致した。ミニレプリコンのレポーター活性を指標とした温度感受性試験ではY125株に由来するNP、P、Lのいずれの遺伝子にも温度感受性との明確な関連性は見いだせなかった。Y125株に由来するL遺伝子内open reading flame中の1塩基挿入による274アミノ酸の欠失はLの機能に影響しないことが示唆された。[木所稔、加藤篤、齋加志津子(千葉県衛生研究所)、田代眞人]

3． ムンプスウイルス、おたふくかぜ生ワクチンの神経病原性評価に関する研究

ムンプスウイルスの神経病原性を評価できる系を検討し、無菌性髄膜炎発生頻度の低いワクチンの開発、あるいは既存ワクチンの安全性評価に役立てることを目的とした。今回、新たにReyes-Leyvaらによるヒト神経芽腫由来細胞SH-SY5Yでのムンプスウイルスの増殖性を指標にした培養細胞レベル評価系が有用か否かを検討した。ラットでは高い病原性を示すUrabeM3株と低い病原性を示すUrabeM5株をSH-SY5Y細胞に接種し、ウイルスの増殖性を調べた。ところが、SH-SY5Y 細胞での増殖性に有意な差は認められず、ヒトやラットでの神経病原性の程度とSH-SY5Y細胞での増殖性の間に相関関係は認められなかった。[加藤篤、木所稔、永田典代(感染病理部)、齋加志津子(千葉県衛生研究所)、村木優子(阪大微研会)、田代眞人]

4． 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

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鶏胚由来初代繊維芽細胞にムンプスウイルスワクチン株を接種することによって製造される。工程中の動物由来物質の使用はそれらに由来する感染性因子が製剤に迷入する危険を伴う。今回、生物学的製剤基準で定められている５代の枠内克つ製造条件に近い低感染価でワクチンウイルスを継代した場合に、ウイルスに如何なる変化が現れるかをF、HN遺伝子を含むウイルスゲノムの約1/4にあたる領域の塩基配列で確かめた。その結果、その変化の度合いはワクチン株により異なり、まったく遺伝子変化を起こさない株がある一方で無血清培地でのみアミノ酸変化を伴う塩基置換を起こす株がある事が分かった。特定の条件と株によっては無血清培地が使用可能であることが示された。[加藤篤、木所稔、田代眞人]

5． おたふくかぜ生ワクチン製造株の品質管理に関する研究

おたふくかぜ生ワクチンは鶏胚由来初代繊維芽細胞(CEF)にムンプスウイルスワクチン株を接種することによって製造される。生物学的製剤基準では、5 代の枠内で継代することが許されているが、その間にどれほど株が安定なのかを検討した例は少ない。そこで、製造条件に近い低感染価で国産おたふくかぜワクチン3株を継代し、ウイルスに如何なる変化が現れるかを塩基配列で確かめた。その結果、シークエンス波形に変化は観察され

ず、国産おたふくかぜワクチン3株は遺伝的にもウイルス集団的にも安定していることが判った。しかし、ウイルス感染価や増殖温度をそのままにしてCEFの培養条件を変更するだけで、2株に継代による遺伝子変化が観察されるようになり、株の遺伝的安定性は簡単に崩されることがわかった。[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． 呼吸器系細菌と SARS ウイルス(SCoV)との混合感染によるマウスの重症化肺炎に関する研究

elastase誘導性弱毒細菌 *Pastuerella pneumotropica* (pp)とSCoVの混合感染により、マウスの重症肺炎が引き起こされるか否かについて検討した。SCoV はFrankfurt-1 (Fr-1)とFr-1のマウス継代株（Fr-mo）を6週令BALB/cマウスに経鼻接種した。SCoV単独感染及びpp+Fr-1感染では、マウス体重はSCoV感染後2-3日減少したが、その後回復し、死亡する個体は認められなかった。pp+F-mo 感染ではマウスの体重減少が著しく、感染後 4 日から重症肺炎で 30-100%のマウスが死亡した。pp+F-mo 群の肺でのウイルス増殖は、他の群と比し高かった。また、病理組織学的検索ではpp+F-mo感染群で、肺胞腔内に硝子様物質を含む顕著な肺炎像が認められ、死亡例では SARS 患者と同様の特徴的なび漫性肺胞傷害が見られた。本研究から、SARS の重症化には１）SCoV増殖が増強されるelastase等の産生がある微弱な肺炎、２）変異により動物種に馴化したSCoV、が重要であることが示唆された。本研究でのマウス重症化肺炎はヒトSARS と極めて類似性の高い動物病態モデルと考えられる。[田口文広、永田典代・岩田奈織子(感染病理部)、渡辺理恵、網康至(動物管理室)]

2． ヒトコロナウイルス 229E のスパイク蛋白質をもつVSV シュードタイプウイルスの作製

ヒト鼻風邪の病原体であるヒトコロナウイルス(HCoV) 229Eの細胞侵入機構を解析するため、S蛋白質を持つVSVシュードタイプの作製を試みた。SARS コロナウイルス(SCoV)では、S蛋白質の細胞質ドメインC末端から19個のアミノ酸欠損蛋白質が効率良くVSVシュードタイプに組み込まれることが報告されている(福士ら J Gen Virol(2005))ため、229Eでも19個のアミノ酸が欠損したS（HCoV-S⊿19）を持つVSVシュードタイプの作製を試みた。293T細胞にHCoV-S⊿19を発現し、VSV⊿G*-GFPの感染により、HCoV-S⊿19 を持つ VSV シュードタイプ（VSV-HCoVS-GFP）が得られた。VSV-HCoVS-GFPはウェスタンブロットにより、229EのS蛋白質およびVSVのM蛋白質を持つことが確認された。また、得られたVSV-HCoVS-GFPのHeLa細胞での力価は$10^{4.5}$ infectious unit(IU)/mlであり、VSVのG蛋白質に対する抗体では中和されず、HCoV 229E 抗体で特異的に中和された。以上のことから、HCoV 229Eにおいても、SCoVと同様に細胞質ドメインの末端の19個のアミノ酸欠失により、効率良くシュードタイプウイルスを作製できることが明らかとなった。[白戸憲也、川瀬みゆき、田口文広]

3． ヒトコロナウイルス 229E の細胞内侵入機構に関する研究

ヒトコロナウイルス 229E感染細胞はSARSコロナウイルス（SCoV）同様、トリプシン処理により細胞融合を引き起こすことを見出し、細胞内侵入もSCoV同様の機構であることが示唆されたため、その可能性ついて検討を行った。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が観察された。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、巨細胞により229E感染価を定量することが可能になった。トリプシンによる巨細胞形成は、S 蛋白質の解裂の無いSCoV、MHV-２と酷似している。トリプシン処理後の感染性ウイルスによる巨細胞による定量系及び229E S蛋白質を持つVSVシュードタイプウイルスを利用して、以下のことを明らかにした。1) HeLa への感染は抗アミノペプチダーゼ(APN)抗体によって抑制される、2) 229E 感染はエンドゾーム（ES）内の酸性化阻害剤のbafilomycinによる抑制され、また、3) その感染は、システインプロテアーゼ阻害剤により抑制される。以上のことから、229Eの細胞内侵入機構はSCoVと同様で、APNに結合後、ESに輸送され酸性環境下で活性を持つプロテアーゼによりS蛋白質が解裂、活性化され、細胞内に侵入することが示唆された。[川瀬みゆき、白戸憲也、田口文広]

4． RSウイルスのnon-structural protein (NS) 2を組み込んだHEp-2細胞のクローニング

ヒトRSウイルスは二つの非構造蛋白質NS1とNS2を持つ。これらの蛋白質は、感染細胞内でインターフェロン反応系を阻害して、細胞の抗ウイルス作用を抑えるため、ウイルス複製が促進されることが報告されている。IFN反応系が低い細胞は、ウイルス細胞内増殖機構の研究には極めて有用である。IFN 活性の低い細胞を作成するために、RSウイルスlong株、およびA2株のNS2蛋白質発現プラスミドをHEp-2細胞に形質導入し、G418存在下で

培養し、NS2 発現細胞クローンを樹立した。得られた細胞は、NS2mRNA が発現していることが RT-PCR 法によって確認された。作製した NS2 発現細胞を用いて IFN 反応系や呼吸器ウイルスの感染性について解析中である。[白戸憲也、田代眞人、田口文広]

5. 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、冠動脈病変の合併が大きな問題である。疫学的な特徴から、病原体が川崎病発症の引き金になっている可能性が指摘されているが、本体は明らかではない。我々はヒトコロナウイルス（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 及び NL63)に対する抗体を蛍光抗体法(IFA)で調べた。その結果、急性期血清、健常児対照群と比べ回復期血清では 229E に対する抗体陽性率は有為に高かった。このことは、229E が直接川崎病への関与の可能性と、229E とは異なるが抗原性の類似したウイルスが関与する可能性を示唆している。そこで、229E 特異的抗体を検出できると考えられる中和試験法の確立を試みた。中和試験法として、感染性 229E を用いる系と、229E S 蛋白を発現する VSV シュードタイプウイルスとの系を比較した。その結果、シュードタイプウイルスを用いた場合にも感染性ウイルスとほぼ同様の結果が得られ、今後この系を用いて、川崎病患者血清中の 229E 特異的抗体を中和試験で検討する予定である。 [白戸憲也、川瀬みゆき、田代眞人、田口文広]

6.ヒトアデノウイルスに対する中和抗体測定法の標準化

ヒトアデノウイルス(HAdV)の特殊性から中和(NT)抗体測定法はダブルスタンダードが適当と考える。血清型判別用抗体測定法は 1950 年代から採用されている簡便法が便利で問題はない。一方、血清疫学とかワクチンの効力試験を目的とした測定法は一定していないため、昨年に引き続き再検討し、基本的に統一しておいた方がよいと思われる以下の結果を得た。1.マイクロ NT 試験を 96 穴平底プレート内で行う(50μl システム)。2.感染価測定は Hep2 細胞（細胞数 $1.0x10^{-5}$/ml）を使用し、7〜8 日目判定が適当。3.攻撃ウイルスは 100 $TCID_{50}$/50μl でなく 10 $TCID_{50}$/50μl とする。4.36°C CO_2、1 時間。5.CPE 出現の有無で判定するわけであるが、全視野を隈なく観察し熟練者以外判定困難では実際的で無いから判定基準を明確にする。以上の方法で型別免疫血清及びヒト血清を使用して検討し、ほぼ良好な結果が得られた。[荻野利夫、吉井孝男(客員研究員)]

7. 細胞表面ヘパラン硫酸のマウス肝炎ウイルス感染における役割について

マウス肝炎ウイルス(MHV)は特異的受容体(MHVR)を介して細胞に吸着、侵入するが、MHV-JHM 株 cl-2 およびその変異株 srr７は MHVR 非発現細胞へも吸着することが明らかとなっている。一方、MHV-A59 変異株で MHVR 非依存性に感染する MHV-rec は、ヘパラン硫酸(HS)を新たな受容体として利用することが報告されている。そこで、本研究では JHM の吸着に関与する細胞表面分子として、HS に焦点を当て検討した。real-time PCR 解析により、HS を取り除いた細胞への JHM 吸着量は約 1/2 に減少することが明らかになった。吸着したウイルスの感染価を調べたところ、可溶性 MHVR(soR)存在下で検出可能な MHVR 陰性の BHK 細胞への感染は 1/10 以下に低下したが、MHVR 恒常発現細胞 BHK-R1 では上昇傾向にあった。ウイルスをヘパリン処理することにより、BHK 細胞では感染阻止が観察されたが、BHK-R１細胞では認められなかった。これらの結果は、HS に MHV が結合すること、S 蛋白質の受容体結合領域とヘパリン、HS 結合領域は異なることを示唆している。また、BHK への感染性は soR によって賦与されたが、ヘパリンや可溶性 HS によって感染が促進されることはなかった。以上の結果から、HS は MHV 結合に関与しているが、受容体活性は示さないことが明らかとなった。[渡辺理恵、田口文広]

8. マウス肝炎ウイルスの JHM 変異株 srr7 のマウス大脳分離細胞での受容体非依存性感染拡大に関する研究

神経病原性の高いMHV-JHM（wt）は受容体（MHVR）非依存性感染能力を持つが、変異株のsrr７にはその活性はなく、その違いはスパイク（S）蛋白質の一アミノ酸変異によることが明らかにされた。マウス神経系培養細胞を用いたsrr７感染は、感染後24時間ではMHVR陽性のmicroglia系の細胞に留まるが、72時間後には周囲細胞へ感染拡大が認められ、感染拡大は受容体に対する抗体では阻止できなかった。srr7感染細胞から2- 3日後に分離したウイルスは、spinoculationにより受容体非発現BHK細胞へ感染した。以上のことから、srr７感染microglia系細胞から、受容体非依存性感染能力のあるウイルス出現の可能性が示唆された。srr7由来の受容体非依存性感染能を持つウイルスのS蛋白質は、srr７と比べアミノ酸変異が認められたが、wtへのrevertantは観察されなかった。今後、どの様なメカにズムで新たな受容体非依存性感染能を持つウイルスが出現するのか検討したい。[中垣慶子(国立精神神経センター)、田口文広]

9. 異なる受容体を持つマウスのマウス肝炎ウイルス感受性に関する研究

マウス肝炎ウイルス(MHV)感受性 C57BL/6 は CEACAM1a を、抵抗性 SJL は CEACAM1b を MHV 受容体として発現している。両系統の MHV 感受性が受容体に依存するかを検討するため、1a を 1b で置き換えた C57BL/6（b/b）置換マウスを作成し、C57BL/6 (a/a)及び(b/b)マウスに MHV-A59 を感染させ、生存率および組織中のウイルス力価を検討した。その結果、b/b マウスは a/a マウスと比べ MHV に対する生存率が顕著に高く、肝、脾、脳および血液中のウイルス力価は著しく低かった。即ち、b/b マウスは a/a マウスと比べ高い MHV 抵抗性を示した。以上の結果から、MHV 感受性はその受容体により決定されることが強く示唆された。[平井明香・網康至・山田靖子(動物管理室)、田口文広]

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

RS ウイルス臨床分離株 25 株（サブクラス A:18 株, サブクラス B:7 株)の抗 RS ウイルスヒト化モノクローナル抗体に対する難中和株の有無を検討した。その結果、いずれの株も同抗体により強く中和された。[野田雅博、田代眞人、水田克巳(山形県衛生研究所)]

11. パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子の機能

パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子である V や C 蛋白質について、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、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 能がウイルスの病原性発揮とってどの程度重要なのか調べるために C 蛋白質にアミノ酸置換を導入して作成した抗 IFN の無い SeV をマウスに実験感染させた。その結果、ウイルスは感染早期に排除され、非病原性株になっ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、近年ウシ血清へのウイルスの混入の低減を目的としγ線照射が広く実施されている。そこで本処理が BPyV 遺伝子の断片化に有効であるか検討した。その結果、一般的に実施されている 25kGy のγ線照射により BPyV 遺伝子は検出限界以下となった。このことよりγ線照射はウシ血清中への BPyV 遺伝子の混入リスクの低減化に有効であることが認められた。[大槻紀之、駒瀬勝啓、門澤和恵、伊藤治(農林水産省動物医薬品検査所)]

2. 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。妊婦の膣擦過材料を用いて 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。CMV 陽性妊婦では周産期障害の発生頻度が高いことが明らかになった。[堤裕幸(札幌医科大学)、沼崎啓]

3. ウイルスによる院内・実験室内感染の予防対策に関する研究

院内感染対策に関しては、手洗いの励行や指定消毒薬使用の推奨などが繰り返し報告されてきた。医療従事者にとっては消毒薬自体の異臭、頻回の手洗いと消毒薬使用による皮膚への悪影響なども問題となっている。ウイルス、耐性菌などの院内感染の事例は現在でも後を絶たず、微生物学領域で感染性因子を取り扱う研究者、検査担当者も同様の問題を抱えている。感染症対策の実践に関しては各施設の状況に応じて必ずしも統一性が保たれているとは言えず、対策効果の評価も不統一である。現在使用可能な抗ウイルス効果を有する市販製品の有効性ならびに使用者側に立った易使用性を検討し、実践性の高い院内感染対策法の確立を標榜している。[沼崎啓、市村宏(金沢大学医学部)]

4. 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

パラミクソウイルスはゲノムの転写複製に宿主細胞の酵素を利用しないため宿主の細胞分裂速度、細胞周期の影響を受けにくい特性を持ち、ウイルスをベクター化してもこの利点が保持される。パラミクソウイルス科のセ

ンダイウイルス(SeV)、麻疹ウイルス(MeV)、ジステンパーウイルス(CDV)についてcDNAを作成し、ウイルスベクター開発をめざした。SeVとMeVでは外来遺伝子を発現できるようになり、CDVはMeVで得た知見を基にウイルス回収系の作成を行った。その結果、SeVでは各種の発現系が作出でき、ベクターを構成するP遺伝子の機能の一部が明らかになった。MeVでは高効率回収系の作出並びにそれを利用した弱毒化機構の解析、分節型ゲノムベクターの作成が可能になった。CDVでは新しい遺伝子型の野外株を基にして新型ワクチンのデザインが可能になった。[加藤篤、森本金次郎(ウイルス第一部)、竹田誠(九州大学大学院・医学研究院)、山口良治(宮崎大学・農学部獣医学科)]

5. 改良型痘そうワクチン株m8Δによるカニクイザルにおけるサル痘発症予防の成立

m8Δ株は弱毒痘瘡ワクチン株LC16m8からB5R遺伝子を完全に欠失させることにより遺伝的安定性を向上させた改良型痘そうワクチン株である。我々はマウスの感染防御実験においてm8Δ株が米国の現行ワクチンDryvaxと遜色ない感染防御免疫誘導能をもつことを示し、B5R遺伝子がpoxvirusの感染防御に必ずしも必須ではないことを証明した。今回我々はよりヒトに近いカニクイザルを用いたサル痘ウイルス(MPXV)感染実験によってm8Δ株の有効性を評価した。その結果、Lister株接種群と同様にm8Δ株接種群においてもMPXVの発症は完全に阻止された。これらの結果は、カニクイザルの感染モデルにおいてもB5R遺伝子が感染防御に必ずしも必須ではないことを示しており、m8Δ株が痘そうワクチンとして有効であることを示唆している。

[木所稔、西條政幸・緒方もも子・福士秀悦・水谷哲也・倉根一郎・森川茂(ウイルス第一部)、網康至・須崎百合子(動物管理室)、永田典代・岩田奈織子・長谷川秀樹・佐多徹太郎(感染病理部)、志田壽利(北海道大学遺伝子病制御研究所)、田代眞人、倉田毅(富山県衛生研究所)]

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。本年度も地方衛生研究所の協力の下、新たに4株のインフルエンザウイルス(H4N1、H4N6、H9N1、H11N2)が野鳥から分離された。これらの分離株は、抗原性状と遺伝子性状が解析された後、感染研の動物インフルエンザウイルスバンクに保管された。[今井正樹、二宮愛、氏家誠、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. インフルエンザHAワクチンの国家検定のための標準抗原・参照抗血清の作製

平成18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/Hiroshima/52/2005(IVR-142)(H3N2)、B/Malaysia/2506/2004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、豪州の生物製剤に関する国立試験研究機関であるNIBSC、TGA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]

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。2006/2007シーズンは流行の始まりが例年より1ヶ月以上遅く、ウイルス分離数から見た規模も例年より小さかった。A/H1、A/H3、B型の分離比はそれぞれ12%、47%、41%であった。A/H1分離株の多くはワクチン株A/New Caledonia/20/99類似株であったが、抗原変異株も3割以上占めた。それら変異株は抗原的にA/Solomon Islands/3/2006と類似で、HAにはK140Eの特徴的なアミノ酸置換が見られた。A/H3分離株の4割はワクチン株A/広島/52/2005類似株であったが、6割は抗原変異株であった。HA遺伝子の解析では、流行株はA/広島/52/2005とは異なるグループを形成した。B型は昨シーズンに引き続き、分離株のほとんどはVictoria系統であり、抗原的にも遺伝的にもワクチン株B/Malaysia/2506/2004類似株であった。これら、解析結果は定期的にNESID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、高井弘美、野崎智子、影山努、望月菊、板村繁之、今井正樹、二宮愛、氏家誠、河野直子、小田切孝人、田代眞人]

2. 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。全国の地方衛生研究所および関連施設の協力のもとに、2006/07 シーズンの分離株より、A/H1 型 51 株、A/H3 型 74 株、B 型 47 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/ Solomon Islands/3/2006/類似株に特徴的な 140E アミノ酸を有しており、R188M/A189T、R188S/A189T あるいは R188K アミノ酸置換を持つ変異株も分離された。A/H3 型では、分離株の大半がワクチン株 A/広島/52/2005 類似株に特徴的な 193F アミノ酸置換を有しており、142G あるいは 140I アミノ酸置換を持つ変異株も分離された。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、高井弘美、小田切孝人、田代眞人]

3. 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して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を監視するために、17 地区の地方衛生研究所に依頼して、ブタにおけるウイルス分離調査を行った。ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種したところ、744 検体中 3 検体からインフルエンザウイルスが分離された。HI 試験を用いて分離ウイルスの亜型を同定した結果、いずれの株もブタの間で常在している H3 亜型ウイルスであることが判明した。したがって、現時点では鳥インフルエンザウイルスは確認されておらず、我が国のブタには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、氏家誠、小田切孝人、田代眞人]

4. 風疹の流行予測調査

風疹は感染症流行予測調査の対象疾患であるため、風疹感受性調査のための標準血清（HI 抗体陽性血清並びに陰性血清）を 用意し感染症情報センターを通じて 16 都県に配布した。また、地方衛生研究所からの抗体調査結果を解析し、報告書にまとめた。[大槻紀之、海野幸子、感染症情報センター、駒瀬勝啓]

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、田中明子・布施晃(血液・安全性研究部)、落合雅樹・堀内善信(細菌第二部)、小田切孝人、田代眞人]

国際協力関係業務

1. 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスの実験室内診断と国際協力

2003 年末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、ユーラシア全域、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 200 名近い死者を出すまでに至り、これに起因した新型インフルエンザウイルスの出現とそれによる世界的な汎流行が危惧されている。当室は、WHO-H5 レファレンス診断ラボに指定されていることから、ラオス、ミャンマー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、培養細胞および発育鶏卵を使ったウイルス分離、リアルタイム RT-PCR 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の資料として活用された。［今井正樹、影山努、二宮愛、氏家誠、望月菊、板村繁之、河野直子、小渕正次、斉藤利憲、高井弘美、小田切孝人、田代眞人］

2. 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザの診断における技

術支援

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、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鳥インフルエンザ、新型インフルエンザ対策が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。今年度感染研は JICA の支援のもとベトナム国立公衆衛生疫学研究所（NIHE）へモバイル BSL-3 ラボを寄贈し、高病原性鳥インフルエンザウイルスの分離、培養ができるようにバイオセーフティー面およびウイルス学的面からの技術支援を行った。本プロジェクトは H19 年度に本格的な BSL3 施設が稼動するまで引き継がれ、継続的な技術支援が行われる。 [小田切孝人、杉山和良(バイオセーフティー管理室)、中嶋健介(国際協力室)、渡邉治雄(副所長)]

3. 中国における高病原性 H5N1 鳥インフルエンザの流行状況防疫対策に関する FAO/OIE/WHO 合同調査

中国では 2003 年から高病原性鳥インフルエンザの流行があり、東南アジア諸国での流行株とは異なった H5N1 ウイルスが家禽や人での感染例を出している。しかし、それらの詳細情報は必ずしも適時に WHO に報告されず、当該国における高病原性鳥インフルエンザの流行状況は不明のところが多い。高病原性鳥インフルエンザは一国のみならず近隣諸国や全世界に重大な影響を及ぼすことから、中国における流行の実態を正確に把握し、家禽へのワクチン接種の実態や効果などの情報を諸外国と共有することが重要である。このため、FAO/OIE/WHO 合同チームが結成され、中国農務省、中国保健省関係機関に対して緊急調査と協議が行われた。感染研からは WHO インフルエンザ協力センターとして 1 名が調査に参加し、実態調査にあたった。その結果、中国では北部と南部ではそれぞれ異なった高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスが蔓延しており、WHO へ報告されていない別の H5N1 ウイルスによる家禽での流行があることが判明した。それらの情報は今後 WHO へ適時に報告することで合意された。[小田切孝人]

4. 台湾国家衛生研究院に対するインフルエンザワクチン品質管理に関する技術支援

平成 18 年 12 月 3 日から 7 日まで台湾国家衛生研究院を訪問して、インフルエンザワクチンの力価試験などの試験方法や品質管理に関する問題点について講演を実施し、具体的な問題点や課題などについて討論を行い、インフルエンザワクチンの品質管理に関する技術的な支援を実施した。[板村繁之、堀内善信(細菌第二部)]

5. WHO による鳥インフルエンザウイルスに対する中和抗体測定法の標準化への協力

新型インフルエンザワクチン開発の重要性が認識されるに随って、その効果判定のひとつの指標として中和抗体価が注目されているが、その手技はあまり標準化されておらず測定値の一致度についても充分に検証されていない。そこで WHO ではワクチン効果判定や血清学的診断を標準化するために国際共同研究を計画している。その事前準備として平成 18 年 10 月 3 日に「インフルエンザウイルスに対する中和抗体測定法の標準化に関するワークショップ」が開催された。中和抗体測定法の標準化への国際協力として本ワークショップに参加し、中和抗体測定法の問題点と今後の共同研究の方法について議論した。[板村繁之]

6. 海外からの招聘研究員への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東南アジア諸国から感染診断担当者を感染研に招聘し、研修を行ってきた。今年度はベトナム NIHE、カンボジアパスツール研究所からそれぞれ 1 名、ミャンマー国立衛生研究所から 2 名を招聘し、実験室診断技術について約一ヶ月の研修を行った。また、ウイルス 1 部、免疫部、獣医科学部、感染病理部、エイズセンターからの協力を得て、インフルエンザウイルス以外についても研修を行った。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ができるようになることを目標とした。また、感染研と招聘国との今後の協力関係の構築も目標とした。 [小田切孝人、今井正樹、影山努、二宮愛、小渕正次、氏家誠、板村繁之、河野直子、望月菊、高井弘美、田口文広、白戸憲也、田代眞人、篠原克明・杉山和良(バイオセーフティー管理室)、奥谷晶子・井上智(獣医科学部)、駒野淳・村上努(エイズ研究センター)、徳永研三(感染病理部)、高崎智彦・岸本寿男(ウイルス第一部)、大島正道(免疫部)]

7. 検疫所職員への高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修

国内における新型インフルエンザ対策の一環として、

主要検疫所 13 ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、PCR 検査を中心にした高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修を行った。また、研修後はそれぞれの検疫所からの検査対応相談にも個別に対応し、研修成果が現場で発揮されるように連携の強化が図られた。[小田切孝人、今井正樹、影山努、二宮愛、小渕正次、氏家誠、板村繁之、河野直子、望月菊、高井弘美、田代眞人]

8. 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

ベトナム国立ワクチン生物製剤品質管理研究所(NICVB)から 2 名､国立衛生疫学研究所(NIHE)のワクチン製造所 Vabiotech より 1 名の研修員を受け入れて平成 18 年 9 月 19 日から 10 月 20 日までインフルエンザワクチンの品質管理に係わる力価試験について研修を実施した。[板村繁之、河野直子、小田切孝人]

9. 地方衛生研究所職員を対象とした特別課程ウイルスコース（国立保健医療科学院主催）において、分離培養法、RS ウイルス感染症、インフルエンザウイルス、ムンプスウイルス、麻疹、風疹の各講義、インフルエンザウイルスの実習を担当した。[小田切孝人、小渕正次、沼崎啓、駒瀬勝啓、加藤篤、木所稔、野田雅博]

10. ベトナム、National Institute of Control on Vaccines and Biologicals の研修生 2 名に風疹ワクチン品質管理に関する研修を実施した。[大槻紀之、駒瀬勝啓]

11. JICA、中国国別研修「中国予防接種行政」の一環として、「麻疹、風疹ワクチン」の講義を行った。[駒瀬勝啓]

12. 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ならびに国内の主要研究施設に分与した。[關文緒、菅井敏行、田代眞人、沼崎啓]

13. 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た。[染谷健二、關文緒、宮沢貴麿呂(三菱化学 BCL)、菅井敏行、田代眞人、沼崎啓]

14. ベトナムからワクチン品質管理技術研修の目的で来日した２名の研究者に対して臨床ウイルス材料の取り扱い, 実験室診断の方法等について研修を行った。[野田雅博]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Imai, M., Ninomiya, A., Minekawa, H., Notomi, T., Ishizaki, T., Tashiro, M., Odagiri, T. Development of H5-RT-LAMP (loop-mediated isothermal amplification) system for rapid diagnosis of H5 avian influenza virus infection. Vaccine 24: 6679-82 (2006)
2) Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Ozaki, Y. A., 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 sever acute respiratory syndrome-associated coronavirus infections in experimental animals. Adv. Exp. Med. Biol. 581: 515-518 (2006)
3) Ninomiya, A., Imai, M., Tashiro, M., Odagiri, T., Inactivated influenza H5N1 whole-virus vaccine with aluminum adjuvant induces homologous and heterologous protective immunities against lethal challenge with highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses in a mouse model. Vaccine 25, 3557-3560 (2007)
4) Imai, M., Ninomiya, A., Minekawa, H., Notomi, T., Ishizaki, T., Tu, P. V., Tien N. T. K., Tashiro, M., Odagiri, T. Rapid diagnosis of H5N1 avian influenza virus infection by newly developed influenza H5 hemagglutinin gene-specific Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) method. J Virol. Methods 141: 173-80 (2007)
5) Horimoto, T, Takada, A, Fujii, K, Goto, H, Hatta, M, Watanabe, S, Iwatsuki-Horimoto, K, Ito, M, Tagawa-Sakai, Y, Yamada, S, Ito, H, Ito,T, Imai, M, Itamura, S, Odagiri, T, Tashiro, M, Lim, W, Guan, Y, Peiris,M, Kawaoka, Y. The development and characterization of H5 influenza virus vaccines derived from a 2003 human isolate. Vaccine 24: 3669-3676 (2006)

6) Asahi-Ozaki, Y, Itamura, S, Ichinohe, T, Strong, P, Tamura, S, Takahashi, H, Sawa, H, Moriyama, M, Tashiro, M, Sata, T, Kurata, T,Hasegawa, H. Intranasal administration of adjuvant-combined recombinant influenza virus HA vaccine protects mice from the lethal H5N1 virus infection. Microbes Infect 8: 2706-2714 (2006)

7) Dinh, P. N., Long, H.T., Tien, N.T.K., Hien, N.T., Mai, L.T. Q., Phong, L.H., Tan, H.V., Nguyen, N.B., Tu, P.V., Phuong, Nguyen T.M., and the World Health Organization/Global Outbreak Alert and Response Network Avian Influenza Investigation Team in Vietnam (Anh, B.H., Barboza, P., Bhat, N., Curns, A., Doan, N.C., Katz, J., Fukuda, K., Funk, A., Maines, T., Simmerman, M., Tumpey, T., Uyeki, T., Bosman, A., Holle, Mirna D.R.B., Boqvist, S., Brown, R., Hasabe, F., Brudon, P., Calain, P., Dietz, R., Doran, R., Grein, T., Horby, P., Oshitani, H., Delpech, V., Gautier, P., Itamura, S., Saito, T., Mak, D., Miranda, N., Saito, R., Francart, J.,). Risk Factors for Human Infection with Avian Influenza A H5N1, Vietnam, 2004. Emerg. Infect. Dis.12:1841-1847 (2006)

8) Tanaka K, Yamada H, Minami M, Kataoka S, Numazaki K, Minakami H, Tsutsumi H.Screening for vaginal shedding of cytomegalovirus in healthy pregnant women using real-time PCR: Correlation of CMV in the vagina and adverse outcome of pregnancy. J Med Virol 78:757-759 (2006)

9) Koizumi Y, Ndembi N, Miyashita M, Lwembe R, Kageyama S, Mbanya D, Kapture L, Numazaki K, Fujiyama Y, Ichimura H. Emergence of ART resistance-associated primary mutations among drug-naïve HIV-1-individuals in rural western Cameroon. J Acquir Immune Defic Syndr 43: 15-22 (2006)

10) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. Vaccine 25: 3101-3104 (2007)

11) Homma K, Numazaki K. The steam humidifier hand burn in infants. Int Med J 6: 1 (2007)

12) Fujita S, Eguchi A, Okabe J, Harada A, Sasaki K, Ogiwara N, Inoue Y, Ito T, Matsuda H, Kataoka K, Kato A, Hasegawa M, and Nakanishi M. Sendai virus-mediated gene delivery into hepatocytes via isolated hepatic perfusion. Biol Pharm Bull. 29(8):1728-1734 (2006)

13) Goto, T., M. Morishita, K. Nishimura, M. Nakanishi, A. Kato, J. Ehara, and K. Takayama. Novel mucosal insulin delivery systems based on fusogenic liposomes Pharmaceutical Research 23:384-391 (2006)

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

15) Nakatsu Y, Takeda M, Kidokoro M, Kohara M, Yanagi Y. Rescue system for measles virus from cloned cDNA driven by vaccinia virus Lister vaccine strain. J Virol Methods137:152-155 (2006)

16) Sone S, Izawa A, Narumi H, Kajita A, Tanabe J, and Taguchi F. The combination of type I interferon and ribavirin has an inhibitory effect on mouse hepatitis virus infection. Hepatol Res. 37: 121-126 (2007)

17) Shirato K, Nishimura H, SaijoM, Okamoto M, Noda M, Tashiro M, and Taguchi F. Diagnosis of human respiratory syncytial virus infection using reverse transcription loop-mediated isotherrnal amplification. J. Virol. Methods 139: 78-84 (2007)

18) Matsuyama S, Ujike M, Ishii I, Fukushi S, Morikawa S, Tashiro M, and Taguchi F. Enhancement of SARS-CoV infection by proteases. Adv. Exp. Med. Biol. 581: 253-258 (2006)

19) Watanabe R, Suzuki K, Taguchi F. Receptor independent infection of mouse hepatitis virus : analysis by spinoculation Adv. Exp. Med. Biol. 581: 331-334 (2006)

20) Nakagaki K, Nakagaki K, Taguchi F. Receptor-independent spread of a neurotropic murine coronavirus MHV-JHMV in mixed neural culture. Adv. Exp. Med. Biol. 581: 327-330 (2006)

21) Ishii K, Yokota Y, Takemori T, Hasegawa H, Mizutani T, Morikawa S, Taguchi F, Miyamura T. Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Adv. Exp. Med. Biol. 581: 593-596 (2006)

22) Zamoto A, Taguchi F, Fukushi S, Morikawa S, Yamada YK. Identification of ferret ACE2 and its recertor function for SARS-coronavirus. Adv. Exp. Med. Biol., 581: 519-522 (2006)

23) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Matsuyama S, Taguchi F, Kurane I, Morikawa S. Pseudotype vesicular stomatitis virus for functional analysis of SARS coronavirus spike protein Adv. Exp. Med. Biol., 581: 293-296 (2006)

24) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Kanaji Y, Kurane I,

Taguchi F, Tashiro M, Morikawa S. Evaluation of a novel vesicular stomatitis virus pseudotype-based assay for detection of neutralizing antibody responses to SARS-CoV. J Med Virol. 78: 1509-1512 (2006)

25) 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)

26) Watanabe R, Matsuyama S, Taguchi F. Receptor-independent infection of murine coronavirus:analysis by spinoculation. J. Virol. 80: 4901-4908 (2006)

27) Mizutani, T, Endoh D, Okamoto M, Shirato K, Shimizu, Arita M, Fukushi M, Saijo M, Sakai K, Limn CK, Ito M, Nerome R, Takasaki T, Ishii K, Suzuki T, Kurane I, Morikawa S, Nishimura H. Rapid genome sequencing of RNA viruses. Emerg. Infect. Dis. 13:322-324 (2007)

28) Shirato, K., Ujike, M., Watanabe, R., Mizutani, T. Mizutani, T. (ed.), SARS, Transworld Research Network, Kerala, India. SARS as an emerging diseases. 17-27 (2006)

2．和文発表

1) 小田切孝人：インフルエンザウイルス流行の予測は毎年どのようにして行うのか 日医雑誌 134: 1907-1910.2006

2) 小田切孝人：高病原性 H5N1 鳥インフルエンザと新型インフルエンザに備えた事前準備と国際協力 ウイルス 56: 77-84.2006

3) 小田切孝人、今井正樹、二宮愛、峰川晴美、納富継宣、田代眞人：ランプ法による H5N1 高病原性鳥インフルエンザの診断 インフルエンザ 7,201-209.2006

4) 小田切孝人:リバースジェネティクスによる弱毒化 H5N1 鳥インフルエンザワクチンの開発と応用 日本臨床 64: 1855-1864.2006

5) 小田切孝人：H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスの最近の動向と国家備蓄ワクチン カレントテラピー24: 27-33. 2006

6) 田中政弘、板村繁之、小田切孝人、中嶋健介：インドシナ諸国における鳥インフルエンザ流行とその対策の現状、インフルエンザ 8：70-77.2007

7) 板村繁之：インフルエンザのウイルス学、内科 98: 779-786. 2006

8) 板村繁之：インフルエンザワクチンは鳥インフルエンザや新型インフルエンザにも効くのか？ インフルエンザ診療ガイドブック 中外医学社：101-103. 2006

9) 駒瀬勝啓：インフルエンザワクチン、アレルギー・免疫 13(11): 1580-1586.2006

10) 沼崎啓：サイトメガロウイルス感染症. 小児科診療増刊号 小児の治療指針 69: 209-212.2006

11) 沼崎啓：診断・治療のポイント マイコプラズマ感染症. Infectious Diseases Report No.37.2006

12) 福村忍、黒岩由紀、木下和子、沼崎啓、中田修二、堤裕幸、遠藤高夫、秦史壮：小腸血管腫より出血を来たした Blue Rubber Bleb Nevus syndrome の 1 例. 臨床小児医学 54:45-47.2006

13) 沼崎啓：先天性感染と HCMV. 日本臨床増刊号 ヘルペスウイルス学 - 基礎・臨床研究の進歩 - 64: 496-499.2006

14) 沼崎啓：突発性発疹.小児内科小児外科編集委員会共編. 小児内科増刊号 小児疾患の診断治療基準.東京, 東京医学社 38: 318-319.2006

15) 加藤篤：おたふくかぜワクチン、臨床とウイルス 34(4):261-270.2006

16) 加藤篤：センダイウイルスアクセサリー蛋白質による自然免疫からの回避 獣医畜産新報 59(7):562-564.2006

17) 永井美之、加藤篤、井上誠 ：センダイウイルス工学の展開、蛋白質核酸酵素 51(1):27-37.2006

18) 加藤篤、木所稔 ：乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン、日本薬局方解説書編集委員会編、第十五改正日本薬局方解説書、廣川書店、G44-46.2006

19) 加藤篤：パラミクソウイルス、東 匡伸、小熊惠二編 改訂第 4 版シンプル微生物学､南江堂､:269-276.2006

20) 田口文広：川崎病と病原ウイルス 感染、炎症、免疫 36: 79-81.2006

21) 田口文広：コロナウイルスの細胞侵入機構：病原性発現との関連 ウイルス 56(2): 165-172.2006

22) 田口文広：SARS コロナウイルスの特徴とワクチン開発 化学療法の領域 22(12): 33-38.2006

23) 田口文広：重症急性呼吸器症候群（SARS） 分子呼吸器病 11(1): 42-47.2007

24) 田口文広：SARS コロナウイルス感染症 臨床とウイルス 43(5): 423-428.2006

25) 木村博一、野田雅博、塚越博之、加藤政彦：ウイル

スの顕微鏡検査法と培養検査法　臨床と微生物 33：569-574．2006
26)小渕正次：今年のインフルエンザ対策は？　心とからだの健康　10：14-19.2006

Ⅱ．学　会　発　表

1．　国際学会

1) Takato Odagiri, Masaki Imai, Tsutomu Kageyama, Ai Ninomiya, Makoto Ujike, Harumi Minekawa, Tsugunori Notomi, Masato Tashiro Generation and update of laboratory diagnosis systems for H5N1 highly pathogenic avian influenza. US-Japan CMSP Singapore Conference, November 17-18, 2006.
2) Hasegawa H, Ichinohe T, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Ami Y, Suzaki Y, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T. Intranasal immunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist,PolyI:PolyC12U protects cynomolgus monkey against HPIV challenge. Keystone Symposia. Singapore, December 10-15, 2006.
3) Ichinohe T, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasalimmunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist, PolyI:PolyC12U protects mice against homologous and hetelorogous challenge. Keystone Symposia. Singapore, December 10-15, 2006.
4) Tashiro M, Odagiri T, Itamura S. Development of influenza H5N1 vaccines in Japan. 3rd China-Japan Scientific Symposium on Avian and Human Pandemic Influenza, Harbin, January 9-10, 2007.
5) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and WPR. The Fourth WHO Global Measles and Rubella Laboratory Network Meeting. Expanded Programme on Immunization. Geneva, August 28-30, 2006.
6) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan. In: AIDS Seminar Series, Salle Bernard M. Bloomfield Lady Davis Institute for Medical Research: Montreal, Canada. November 7, 2006
7) Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. *Symposium 1* ,Progress in Infectious Pathogens Vaccines and Immunization, Fifth World Congress on Vaccines, Immunization & Immunotherapy. Montreal, Quebec, November 6-9, 2006.
8) Kubota T, Kubota M, Bray M, Jones S M, Tashiro M, and Ozato K. Effect of Ebola virus VP24 and VP35 proteins on dendritic cell antiviral responses. XIII International Conference on Negative Strand Viruses, Spain, June 17-22, 2006
9) Taguchi F., Nagata N., Iwata N., Ami Y. Severe respiratory disease developed in mice co-infected with SARS-CoV and non-pathogenic respiratory bacterium: Animal model for SARS. Respiratory viruses of animals causing diseases in humans.　Keystone symposia. Singapore December 10-15, 2006
10) Watanabe R., Maejima M, Fukushi S, Matsuyama S, Morikawa S, Taguchi F. Cleavage of spike protein defines the entry pathway of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV). Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Keystone symposia. Singapore December 10-15, 2006

2．　国内学会

1) 氏家誠、西川祐輝、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：SARS-CoV スパイク(S)蛋白質の Heptad Repeat 由来ペプチド(HRP)は細胞表面からのウイルス侵入を効果的に抑制する　第 54 回日本ウイルス学会・総会、名古屋、2006 年 11 月
2) 氏家誠、福士秀悦、森川茂、田口文広：SARS-CoV スパイク(S)蛋白質の Cys-rich 領域は細胞間融合及びウイルス細胞侵入活性に重要な働きを持つ　第 54 回日本ウイルス学会・総会、名古屋、2006 年 11 月
3) 今井正樹、二宮愛、川崎一則、小田切孝人:B 型インフルエンザウイルスの感染性粒子形成過程における BM2 蛋白質の役割　第 54 回日本ウイルス学会･総会、名古屋、2006 年 11 月
4) 今井正樹：高病原性鳥インフルエンザの実験室内診断法　平成 18 年度希少感染症診断技術研修会、国立感染症研究所、2007 年 2 月
5) 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 18 年度鹿児島県職員臨床検査技師技術研修会、鹿児島、2006 年 6 月
6) 一戸猛志、田村慎一、板村繁之、小田切孝人、田代眞人、千葉丈、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：アジュバント併用経鼻 H5N1 高病原性鳥インフルエンザワクチンの交叉防御効果の検討　日本ワクチン学会、大阪、2006 年 10 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、氏家誠、田代眞人：2005/06 シーズンの

インフルエンザ流行株と平成 18 年度のワクチン株 第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
8) 長谷川秀樹、一戸猛志、網康至、永田典子、川口晶、岩田奈緒子、須崎百合子、田村慎一、二宮愛、今井正樹、小田切孝人、田代眞人、倉田毅、佐多徹太郎：カニクイザルを用いた高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)経鼻ワクチンによる感染防御、第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
9) 一戸猛志、伊藤智史、田村慎一、二宮愛、今井正樹、小田切孝人、田代眞人、千葉丈、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：自然免疫による高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)の感染防御効果、第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
10) 影山努、今井正樹、二宮愛、氏家誠、板村繁之、小渕正次、小田切孝人、田代眞人：高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス拡散検出検査系の構築　第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
11) 一戸猛志、田村慎一、二宮愛、今井正樹、板村繁之、小田切孝人、田代眞人、千葉丈、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：アジュバント併用経鼻 H5N1 高病原性鳥インフルエンザワクチンの交叉防御効果の検討 第 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
12) 二宮愛、今井正樹、多田善一、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 54 回日本ウイルス学会、名古屋、2006 年 11 月
13) 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 18 年度稀少感染症診断技術研修会、東京、2007 年 2 月
14) 影山努：H5N1 鳥インフルエンザウイルスの核酸検出法について　平成 18 年度稀少感染症診断技術研修会、東京、2007 年 2 月
15) 海野幸子、堀内善信、庵原俊昭、浅野喜造、岡田賢司、大槻紀之、田代眞人、竹森利忠：風疹抗体国内標準品及び風疹パネル血清の整備、第 47 回日本臨床ウイルス学会、東京、2006 年 5 月
16) 多屋馨子、佐藤弘、海野幸子、田代眞人、岡部信彦、感染症流行予測調査事業担当チーム：我が国における麻疹及び風疹の対する抗体保有率の推移（2004 年度感染症流行予測調査事業より）、第 47 回日本臨床ウイルス学会、東京、2006 年 5 月
17) 大槻紀之、海野幸子、田代眞人：細胞培養用ウシ血清からのウシポリオーマウイルス遺伝子の検出及びγ線照射による影響、第 10 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2006 年 10 月
18) 佐藤弘、多屋馨子、海野幸子、田代眞人、岡部信彦、感染症流行予測調査事業担当チーム：わが国における麻疹及び風疹の対する抗体保有状況（2005 年度感染症流行予測調査事業より）、第 10 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2006 年 10 月
19) 沼崎啓、岡野素彦：シンポジウム「ウイルスの分子疫学」衛生微生物技術協議会　第 27 回研究会、札幌 2006．6 月
20) 沼崎啓：マイコプラズマ・クラミジア小児呼吸器感染症の新しい概念　平成 18 年江戸川区小児科医会学術講演会特別講演、東京、2006 年 7 月
21) 岡田宏美、竹内薫、伊藤正恵、沼崎啓、永田恭介：麻疹ウイルスの Vero 細胞継代に伴う遺伝的変異および性質の変遷　第 54 回日本ウイルス学会学術集会、名古屋、2006 年 11 月
22) 木所稔、西條政幸、網康至、須崎百合子、永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、志田壽利、田代眞人、佐多徹太郎、倉根一郎、倉田毅、森川茂：改良型痘そうワクチン株 m8Δのカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果、第54回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006年11月
23) 田口文広、永田典代、岩田奈織子、網康至：呼吸器系細菌とSARSウイルスとの混合感染によるマウスの重症化肺炎に関する研究　第54回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006年 11月
24) 渡辺理恵、前島雅美、福士州悦、松山州徳、森川茂、田口文広：SARS コロナウイルス解裂性スパイク蛋白を持つ pseudotype ウイルスの細胞内侵入機構に関する研究　第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月
25) 中垣慶子、田口文広：マウス肝炎ウイルスのJHM変異株srr7のマウス大脳分離細胞での受容体非依存性感染拡大のメカニズムに関する研究　第54回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006年11月
26) 田口文広、川瀬みゆき：ヒトコロナウイルス 229E の細胞内侵入機構に関する研究　第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋 2006 年 11 月
27) 渡辺理恵、田口文広：細胞表面ヘパラン硫酸のマウス肝炎ウイルス感染における役割について　第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月
28) 座本綾、福士秀悦、田口文広、森川茂、山田靖子：フェレット ACE2 と SARS-CoV S 蛋白質の親和性の解析　第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006 年 11 月

4．細 菌 第 一 部

部長　渡 邉 治 雄

概　要

食中毒の主たる原因菌であるサルモネラ、カンピロバクターの多剤耐性化が世界的に拡大してきている。耐性菌による感染症を治療するに当たり、患者の治療に困難を示す例が報告されてきている。「食用動物に対して抗菌薬を使用することがどの程度耐性菌を選択し、かつ食物連鎖を介してヒトに耐性菌がどれほど伝播しているのか。更に、ヒトへの細菌感染症の治療を困難にする潜在的危険性を孕んでいるのか。それをどの程度予測できるのか」が国際的大命題になっている。WHO を中心として、上記の薬剤耐性菌のヒトの健康に及ぼす影響についての評価、およびヒトへの抗菌薬の重要度に関してのランク付けが行われた。わが国においても、細菌第一部が中心となり、食品媒介性病原細菌としてサルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌をそれぞれ調査対象としての耐性菌の現状把握を行うための厚生労働科学研究費による研究班を組織した。1）薬剤耐性菌の現状と薬剤耐性因子の分布状況の調査、及び、2）ヒト、食品および動物等から分離された薬剤耐性菌について、分子遺伝学的手法を用い、お互いの関連性を解明するための解析を行った。特に治療薬として臨床的に重要なフルオロキノロン系薬、第 3，4 世代セファロスポリン系薬に対する耐性状況に注目している。また、当該研究班は、厚生、農林関係の組織の共同で行うことを特徴としており、農林水産省関連研究組織から、農林水産省動物医薬品検査所、（独法）農技研動物衛生研究所、厚生労働省関係からは国立感染症研究所、国立医薬品食品衛生研究所および地方衛生研究所が参加して横の連携を図っている。特に *Salmonella* Typhimurium においてフルオロキノロン高度耐性菌が乳幼児等から分離され、治療に困難を示す事例が報告されてきており、今後の動向に注目が必要である。この研究班の成果が、食品安全委員会で行われている「動物等に使用する抗菌薬の評価」に活かされることを期待している。

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、文部科学省科学研究費，および広域食中毒対策事業費等を得た。

部の人事としては、平成 18 年 7 月 1 日付で、石原朋子が研究職員（任期付き）として採用された。

研究業績

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) 腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2006 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 2053 株および O26，O111 等を含むその他の血清型 788 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。2006 年分離の O157 については、*Xba*I 消化により 929 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、2005 年に観察されたパターンと同じと思われるパターンが 39 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 37 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 5 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、今泉綾子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡邉治雄]

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

26 都府県に及ぶ広域の散発事例から分離された Type No.

a259 を示す 131 株の O157 のうち 67 株、及び集団発生由来株も含む Type No. b330, b701 のパターンを示す株 68 株について MLVA による解析を行った。a259 については、同一 MLVA タイプが 17 株、1 locus で 1 repeat 数の異なる variant が 37 株、1 locus で 2 repeat 数が異なる variant が 5 株、2 loci での variant が 7 株あった。*Xba*I 及び *Bln*I による PFGE で同一パターンである株に MLVA で異なる株も含まれるものの、MLVA 及び PFGE で同一パターンとなる株が存在することから、これらの広域分布株においても感染源の関連性を示唆する結果となった。b330 の株では MLVA で a259 の主要なパターンと同一となった。集発由来株での解析では、variation が見られる b701 のタイプにおいて *Bln*I で同一パターンとなったものの、MLVA では 29 株中 4 株が一致したが、大部分は locus 10 での 1 repeat 数の変異株であった。[寺嶋　淳、斉藤康憲、鈴木玲子、今泉綾子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡邉治雄]

(3) 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。また、全国の地方衛生研究所等の担当者に対してユーザー名とパスワードを配布し、感染症研究所のホームページ利用による解析結果公開を開始した。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った。そして、解析結果の一部は、PDF の書類として、 感染症研究所のサーバーを利用して「Pulse Net Japan」(http: // www0. nih.go.jp /~terajima / opn/ index.html) で公開し、ほぼ 1 ヶ月おきにデータを更新した。[寺嶋　淳、斉藤康憲、鈴木玲子、今泉綾子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡邉治雄]

(4) 腸管出血性大腸菌 O157 のファージ型別による解析

2006 年に送付された腸管出血性大腸菌 O157 のうち、91 株についてファージ型別を実施した。主なファージ型(PT)は、PT14 が 45%、PT33 が 16%、PT21 が 10%、PT2 が 7%であった。昨年と比較して PT14 が大幅に増加した。[泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邉治雄]

(5) 志賀毒素産生性大腸菌の血清型に関する研究

平成 18 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 2,856 株であり、上位を占めた O 血清群は O157（約 74%: H7 または H-），O26（約 17.5%: H11 または H-），O111（約 3.2%: H-, H21 または HUT），O103（約 0.98%: H2, H-または HUT），O91（約 0.95%: H14, H21 または H-），O121（約 0.6%: H14 または H19）で、その他の菌株（約 2.5%）は少なくとも 27 の O 血清群、42 の血清型に分類された。[伊豫田淳、高井信子、泉谷秀昌、小泉信夫、森田昌知、佐藤人美、陸彦(流動研究員)、寺嶋淳、石原朋子、渡邉治雄]

(6) LEE 遺伝子群の発現制御に関する研究

腸管出血性大腸菌の多くは、病原性に必須な locus of enterocyte effacement（LEE）と呼ばれる遺伝子領域を保有する。LEE は 3 型蛋白質輸送装置（T3SS）や、こ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おり、これらの遺伝子発現は LEE にコードされるセントラル・レギュレータ、Ler によって正に制御されている。Ler の発現は同じく LEE にコードされる GrlR および GrlA によって、負および正にそれぞれ制御されている。GrlA は運動器官である鞭毛の発現を抑制する負の制御因子としても機能している。

(ア) GrlR-GrlA 制御システムによるエンテロヘモリシンの発現調節機構

LEE 遺伝子発現の負の制御因子である GrlR の欠失株では、腸管出血性大腸菌の多くが低レベルで産生する溶血素、エンテロヘモリシン（Ehx）の活性が著しく上昇し、αヘモリシン様の強い活性を示すことを見出した。この現象は GrlR と GrlA の二重欠失株では見られないが、プラスミドを用いて GrlA だけを過剰に産生させた株では Ehx の活性および発現レベルの上昇が観察されることから、GrlA は Ehx 発現の正の制御因子として機能すると考えられる。[伊豫田淳、齊籐剛仁(感染症情報センター)、佐藤人美、陸彦、志牟田健、大西真、寺嶋淳、渡邉治雄]

(イ) GrlA によるエンテロヘモリシン発現の活性化機構

GrlA による LEE の発現制御は Ler の発現制御を介して行われ、一方、鞭毛遺伝子群の発現制御には Ler の機能を必要としない。(ア)で見出されたエンテロヘモリシンの活性上昇は Ler と GrlR の二重欠失株、または Ler 欠失株における GrlA の構成的発現でも見られることから、Ler の機能とは非依存的に GrlA によって活性化されることが示唆された。すなわち、GrlA は LEE, 鞭毛およびエンテロヘモリシンの発現を制御するグローバル・レギュレーターであると考えられる。[伊豫田淳、齊藤剛仁、佐藤人美、寺嶋淳、渡邉治雄]

(7) 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

血清群 O91 に属する LN-STEC の一群は、免疫グロブリン結合活性を持つ EibG によって宿主細胞へ強固かつ特徴的に接着する（chain-like adhesion: CLA）ことが明らかとなっている。

(ｱ) LN-STEC 株の免疫グロブリン結合活性の解析

これまでの研究から明らかとなった 166 株の様々な O 血清群に属する LN-STEC 株について、免疫グロブリン結合活性を解析したところ、76 株（47 株の O91 を含む）においてヒト由来の IgG（Fc）への結合活性が確認され、このうち 41 株が *eibG* 陽性であった。既知の *eib* に共通な塩基配列からプライマーを設計して PCR を行ったところ、IgG Fc への結合能を示した *eibG* 陰性の 35 株のうち 7 株は既知の *eib* 遺伝子と共通部分を持つ新規の遺伝子であることが示された。［陸彦、伊豫田淳、佐藤人美、伊藤健一郎（感染症情報センター）、大西真、寺嶋淳、渡邉治雄］

(ｲ) 新規免疫グロブリン結合蛋白質の同定

(ｱ)で明らかとなった *eib* 陽性の 7 株のうち、3 株について *eib* 遺伝子をクローニングして塩基配列を決定したところ、既知の Eib とは異なる新規免疫グロブリン結合蛋白質をコードしていることが明らかとなった。これらの遺伝子を導入した大腸菌実験室株は CLA パターンで培養細胞へ強固に接着することから、EibG と同様に宿主細胞への接着因子として機能していることが明らかとなった。［陸彦、伊豫田淳、佐藤人美、寺嶋淳、渡邉治雄］

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

2006 年に当研究所に送付された Salmonella Enteritidis 496 株（うち、2006 年分離株は 196 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 2006 年の集団事例 28 件のファージ型（PT）の内訳としては、PT1 が 7 件（25%）、PT4 が 5 件（18%）、PT6a が 4 件（14%）、その他 12 件であった。PT1 および PT4 以外の PT 株の割合が増加傾向にあり、PT6a、14b、47 はある程度の頻度で同定されるようになってきている。［泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邉治雄］

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

2006 年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株 76 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 29 株であった。［泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邉治雄］

(3) *Salmonella* Enteritidis 薬剤感受性試験

上記ファージ型別に供した 2006 年に発生した集団事例のうち 27 件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 23 件と大勢を占めた。これ以外に SM 単剤耐性および NA 単剤耐性のものが各 2 件検出された。［泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邉治雄］

(4) 鶏肉由来 *S.* Enteritidis 株の解析

1994 年から 2006 年に分離された主として鶏肉由来の *S.* Enteirtidis 株について薬剤感受性試験を行った。近年問題となりつつある NA 耐性株が輸入鶏肉においてのみ同定された。このうち 2004 年に分離された輸入鶏肉由来株 1 株は CTX に対しても耐性を示し、blaCTX-M-14 を有すことが明らかとなった。また、2005 年に分離された 1 株も CTX 耐性を示し、blaCTX-M-2 を有すことが明らかとなった。［泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邉治雄、松本裕子（横浜市衛研）］

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

2006 年に送付されたフルオロキノロン高度耐性 *Salmonella* Typhimurium 株（n=15）について、解析を行った。ファージ型別に関しては、DT12 が 9 株、DT193 が 6 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、3 株を除き、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）。残り 3 株に関しては、上記 3 箇所の変異のうち、GyrA87 番目のアスパラギン酸がグリシンに置換されており、なおかつ ParE の 458 番目のセリンがプロリンに置換される変異が見出され、これらはフルオロキノロンに対してより高い MIC を示した。また、2 株は Toho-1 型βラクタマーゼをコードする遺伝子も保有していた。［泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邉治雄］

(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

2006 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 56 株、

パラチフス A 菌 17 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増加した。ファージ型別試験で主に検出されたファージ型はチフス菌では、E1、B1 であった。パラチフス A 菌では 1、2、6 であった。［森田昌知、泉谷秀昌、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

2006 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 3 薬剤、第 3 世代セフェム系薬剤 2 剤、その他に従来の治療薬等合計 15 剤を検討した。感受性試験の結果、チフス菌で約 57.1%、パラチフス A 菌で約 82.4%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、泉谷秀昌、高井信子、渡邉治雄］

(8) ニューキノロン高度耐性チフス菌の解析

2006 年に国内で分離されたチフス菌の中でニューキノロン剤に耐性を示す菌が 2 株存在した。これら 2 株は共にファージ型 UVS4 に分類され、パルスフィールドゲル電気泳動による分子疫学的解析の結果では、極めて類似した特有の泳動パターンを示した。キノロン耐性決定領域の遺伝子配列を決定したところ、DNA ジャイレース GyrA サブユニット遺伝子及びトポイソメラーゼ IV ParC サブユニット遺伝子に共通の変異が確認された。ニューキノロン剤に対して高度耐性を示すチフス菌の分離は本邦初である。［森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、渡邉治雄］

(9) *Salmonella enterica* serovar Typhimurium の細胞侵入に関与する SPI-1 遺伝子群の 1,2-propanediol 及び Propionate による発現抑制について

引き続き、*Salmonella enterica* serovar Typhimurium の細胞侵入に関与する SPI-1 遺伝子群の 1,2-propanediol 及び Propionate による発現抑制について、その詳細なメカニズムの解明を目指して解析を続行している。その際、SPI-1 遺伝子群発現をその統括的 activator 遺伝子、*hilA* の発現レベルを指標としている。現在まで、1,2-propanediol による抑制効果は一部、その代謝産物である Propionate によるものであるが、それに依存しない抑制経路もあること、1,2-propanediol による抑制効果には *hilE* 遺伝子が必須であること、Propionate による効果には *yieP* 遺伝子が関与するものの必須ではないこと等を報告してきた。

(ｱ) *hilE* による効果の Propionate 非依存性の確認：

hilE 変異株においては 1,2-propanediol による *hilA* 発現抑制がほぼなくなるが、5～10%程度の発現レベル減少が依然見られる。この変異株では 1,2-propanediol から Propionate を産生する代謝経路は正常であるため、この僅かな残存抑制は Propionate 産生による可能性が考えられた。*hilE* 変異株に当該代謝経路遺伝子（*pdu* 遺伝子群）の変異を導入したところ、残存抑制が完全に消失した。従って、Propionate 非依存的な 1,2-propanediol による抑制効果は、*hilE* 遺伝子の機能のみで説明可能であることが結論できた。

(ｲ) *hilE* による 1,2-propanediol 依存的な *hilA* 発現抑制効果への *hilD* の関与の検討：

hilD は *hilA* 発現に必須な転写因子である。Micro array を用いた予備的な検討で、*hilA* の他に *hilD* の発現レベルも 1,2-propanediol によって抑制されることがわかった。そこで、*hilE* による 1,2-propanediol 依存的 *hiLA* 発現抑制は *hilD* 発現抑制を通して行われている可能性が考えられたので、*hilD* 発現レベルを *hilE*+、-の background、1,2-propanediol の有無の組み合わせでモニターした。*hilD* 発現は *hilE* の有無、1,2-propanediol の有無のどちらによっても変化したが、それらの効果は互いに独立であった。従って、1,2-propanediol 依存的な *hilE* の効果は *hilD* 以外の経路を通じている。

(ｳ) Propionate 依存的抑制に関与する *yieP* 以外の遺伝的ファクターの探索：

yieP 変異株では Propionate 依存的な *hilA* 発現抑制が loose になるが完全には release されない。*yieP* 以外でこの抑制に関与する遺伝的ファクターの存在が予想されるので、*yieP* 変異株を出発材料とした 2ndary mutagenesis で、この抑制が完全に release する変異株のスクリーニングを試みた。Tn*10* 系の transposon を用いた mutagenesis で，*fliT* 変異株をスクリーニングできたが、詳細な解析の結果この変異単独では効果が Propionate 依存的ではなく、無条件に *hilA* 発現を上昇させる変異であることが判明した。また、この効果は *hilA* の positive regulator の一つ、*fliZ* の発現が *fliT* 変異株で上昇するためと判明した。現在、Tn*5* 系の transposon を用いた mutagenesis を試行しており、Propionate による抑制が完全に release する変異株の候補を数株得た。現在、これら変異のマッピング等を急いでいる。［中山周一、渡邉治雄］

Ⅲ. ビブリオに関する研究

(1) コレラ毒素の多型検出系の構築

古典型及びエルトール型コレラ毒素の検出のため、コレラ毒素Bサブユニット遺伝子の203番目における1塩基変異多型を利用した mismatch amplification mutation assay 法を試みた。コレラ毒素Bサブユニット遺伝子の塩基配列の分かっている古典型およびエルトール型コレラ菌を用いて検証したところ、各々のプライマーによる特異的増幅が確認された。[森田昌知、大西　真、荒川英二、泉谷秀昌、渡邉治雄]

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

Vibrio parahaemolyticus 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)、India(National Institute of Cholerae and Enteric Diseases, NICED), Thailand(National Institute of Health)及び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の作成を試みた。泳動条件としては、*Sfi*I, *Not*I による消化後、Switch time; 10 – 35.03 秒、電圧; 6V/cm, 泳動角度; 120°、泳動時間；18h、温度；14℃を用いることを決定した。CDC, ICDDR,B, PHLC、NICED Thailand NIH 及び細菌第一部から供出された *Vibrio parahaemolyticus* 計 36 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。[寺嶋　淳、斉藤康憲、荒川英二、泉谷秀昌、渡邉治雄]

(3) 平成 18 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 18 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 67 株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus*、*V. vulnificus*、*V. parahaemplyticus*、*Photobacterium*(*Vibrio*) *damsela* および *Aeromonas* spp. が含まれ、62.7%(42)は国外（イスラエル-25、米国-17）から依頼された。国内株25株は7株が *V. cholerae* non-01, non-0139 で、*V. vulnificus* が 11 株、*V. parahaemolyticus* が 4 株、*Aeromonas* spp.が 2 株、*Photobacterium*(*Vibrio*) *damsela* が 1 株であった。国内株は 6 株の *V. cholerae* non-01, non-0139 が環境由来株であり、昨年度創傷感染のあった受傷河川で分離されたものであった。血清型は患者由来株(08)とは異なっていた(06-3 株、07、014、0164-各 1 株)。残る 1 株は患者由来株であり、コレラ毒素(CT)産生性の 0141 であった。米国の 17 株は 0141 血清に凝集の見られる株で、一部は過去に 0141 と型別されたが、精査の結果 075 であることがわかった。いずれも CT 産生性で、III 型分泌装置関連遺伝子陽性であった。米国を始め国内でも *V. cholerae* 0141 によるコレラ様下痢症が散発的に発生しており、今後 075 も含めて注視していく必要がある。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

(4) *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。現行の検査法では成績が出るまでに 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。近年、酵素基質培地が開発され、培地上での発育および集落の色調で菌種を特定できるものと期待された。市販の冷蔵アサリとハマグリを無菌的にアルカリペプトン水中で振盪し、表面ぬぐい、あるいは貝浸出液を抽出し、一夜培養後その一部を酵素基質培地あるいは TCBS 寒天培地に塗抹した。約 5%が色調の一致しない菌であり、酵素基質培地だけでは不十分である事がわかった。[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)]

(5) *V. fluvialis* を特異的に検出する系の開発

V. fluvialis は開発途上国の下痢症では比較的頻繁に分離される菌株である。該菌は白糖分解性であるため、選択分離培地である TCBS 寒天上ではコレラの原因菌である *V. cholerae* と色調からは区別がつかない。したがって、両菌を迅速簡便に区別するため、*V. fluvialis* は *toxR* 遺伝子を *V. cholerae* は *ompW* 遺伝子を標的として multiplex PCR の開発を行った。*toxR* 遺伝子はすべての *Vibrio* 属菌が持っており、*V. fluvialis* 特異的な領域を新たに選択し、反応条件についても検討した。参照株および類縁の *Vibrio* 属菌などで検討したところ、*toxR* 遺伝子、*ompW* 遺伝子ともにそれぞれの菌にのみ増幅産物が認められ、特異的検出が可能であった。臨床検体でさらに検討を行う予定である。[荒川英二、泉谷秀昌、T. Ramamurthy(NICED, India)]

Ⅳ. 赤痢菌

(1) 赤痢菌感染による細胞破壊抑制機構に関わる病原因

子の機能解析

赤痢菌は、腸管上皮細胞に侵入・拡散し上皮細胞を破壊することによって出血性下痢を引き起こす。赤痢菌は約220kbからなる大プラスミドを持ち、感染において重要な役割を果たす病原因子の遺伝子をコードする。このうち細胞侵入に必須の領域(約 30 kb)がすでに決定されている。この領域のみを保持する赤痢菌に感染した上皮細胞においては、核の損傷が認められた。このことから、大プラスミド上には、核の損傷に対して抑制的に作用する遺伝子も存在すると推測される。現在、この遺伝子を探索するとともに、赤痢菌感染細胞の核の損傷に対する抑制機構を解析している。[石原朋子、三浦雅史（協力研究員)、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡邉治雄]

(2) 赤痢菌の Type III 分泌装置発現の転写後調節機構の解析

赤痢菌の細胞侵入に必須な Type III 分泌装置は、温度と塩濃度によって発現が厳密に制御されるがその分子機構は長らく不明であった。本研究は温度と塩濃度が、アクチベーターである InvE 蛋白の発現を転写後に調節する機構を初めて見い出した。細菌の主要な RNA 結合蛋白である Hfq の欠損変異体を赤痢菌で作製したところ、翻訳レベルで InvE 発現が増加し、温度や浸透圧による制御が消失していることが示され、mRNA の分解を比較したところ、*hfq* 変異体では *invE*-mRNA が安定化していることが示された。また Hfq 蛋白と *invE*-mRNA の結合が、温度や塩濃度依存的に減少することをゲルシフトアッセイで証明した。[三戸部治郎、石原朋子、渡邉治雄]

(3) 赤痢菌の病原性に関与する因子 OspE2 の解析

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形態が著しく変化し、感染細胞が rounding する形態変化が観察される。また、*ospE2* 変異株は、宿主細胞への侵入能および宿主細胞内での増殖能は、野生株と同程度であるが、隣接細胞への伝播能の低下が生じる。さらに、赤痢菌は細胞侵入後に III 型分泌装置により種々のタンパク質を宿主細胞質内に分泌することが知られているが、OspE2-HA 融合タンパク質を用いて調べたところ、この融合タンパク質も宿主細胞質内に分泌され、細胞接着斑に局在していることが免疫蛍光染色法により明らかになった。これらの結果から OspE2 タンパク質は感染宿主細胞の伸展形態の維持に働いていることがわかった。OspE2 タンパク質と相互作用する宿主細胞の因子を同定するために、大腸菌のツーハイブリッドシステムおよび GST プルダウンアッセイにより探索したところ、ダイニン軽鎖(DYNLT1)が同定された。今後これらの結果を手がかりにメカニズムを解明して行く予定である。[三浦雅史（協力研究員)、寺嶋　淳、泉谷秀昌、大西真、三戸部治郎、石原朋子、渡邉治雄]

Ⅴ．レンサ球菌に関する研究

(1) 日本における 2005 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2005 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、1868 株であり、1860 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 (580/1868, 31.0%)、T4 (262/1868, 14.0%)、T1 (248/1868, 13.3%)、T28 (156/1868, 8.4%)、T3 (130/1868, 7.0%)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。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%; 2005, 8.4%)。T3 型は、昨年と比較して増加した(2004, 3.8%; 2005, 7.0%)。[池辺忠義、渡邉治雄、平澤恭子（福島衛研)、岡崎則男（神奈川衛研)、遠藤美代子（東京都健康安全研究センター)、嶋智子（富山衛研)、河原隆二（大阪公衛研)、冨田正章（山口環境保健センター)、緒方喜久代（大分衛生環境研究センター)、The Working Group for β-hemolytic 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

2005 年、25 症例報告があり、そのうち 23 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 11 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, T4, T28, TB3264 型が各 2 例で分離され、T3 型はすべて *emm3* (M3)、T28 型はすべて *emm28* (M 型別不能)であったが、T4 型は *emm4* (M4) が 1 例、*emm60* (M 型別不能)が 1 例、TB3264 型は *emm1* (M1)が 1 例、*emm89* 型 (M 型別不能) が 1 例であった。T12, T14/49, T-imp.19 分離株の *emm* の塩基配列は、それぞれ、*emm12* (M 型別不能), *emm58* (M 型別不能), *st2147* (M 型別不能)であった。[池辺忠義、渡邉治雄、平澤恭子（福島衛研)、岡崎則男（神奈川衛研)、遠藤美代子（東京都健康安全研究センター)、嶋智子（富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、冨田正章(山口環境保健センター)、緒方喜久代（大分衛生環境研究センター)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

(3) 日本における劇症型 B 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の血清型別

2005 年、劇症型 B 群レンサ球菌感染症は 2 例の報告があった。これらの株の血清型は、それぞれ、7271 型(NIH306)、III 型(NIH308)であった。[池辺忠義、常　彬、渡邉治雄、平澤恭子（福島衛研)、岡崎則男（神奈川衛研)、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター)、嶋　智子(富山衛研)、河原隆二（大阪公衛研)、冨田正章（山口環境保健センター)、緒方喜久代（大分衛生環境研究センター)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

(4) ブタレンサ球菌の virulence markers の保有状況に関する調査

日本国内で患者から分離されたブタレンサ球菌 8 株について、本菌の virulence markers といわれている遺伝子 *mrp* (encode for muramidase-released protein); *epf* (encode for extracellular factor EF); *sly* (encode for hemolysin) の保有状況の調査を行った。その結果、8 株中の 5 株は *mrp*+/*epf*+/*sly*+、1 株は *mrp*-/*epf*+/*sly*+、残りの 2 株は *mrp*+/*epf*-/*sly*- 遺伝子型を示した。[常　彬、渡邉治雄]

(5) ブタレンサ球菌の培養細胞への細胞毒性の調査

日本国内で患者から分離されたブタレンサ球菌 8 株の Human brain microvascular endothelial cells (HBMEC) およびマウスマクロファージ J774 への細胞毒性を調べた。*sly* を有する 6 株は HBMEC および J774 へ強い細胞毒性を示したが、*sly* を有しない 2 株の細胞毒性は低かった。この結果から、*sly* 遺伝子によってコードされるブタレンサ球菌の溶血毒素は培養細胞への細胞毒性に関与することが示唆された。[常　彬、渡邉治雄]

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* の *flaA* 遺伝子による型別

日本国内の冷却塔からの分離株 128 株、浴場施設からの分離株 167 株、計 295 株について *flaA* 遺伝子の一部領域を PCR で増幅し、塩基配列を決定した。冷却塔水分離株の *flaA* 型は 10 種類に分かれたものの *flaA1* と *flaA11* の 2 種類で 88%を占めたのに対し、浴槽水分離株は *flaA6*が 34%、*flaA3*が 20%、 *flaA7*が 18%、*flaA2*が 13%で、その他合わせて 9 種類に分かれ、冷却塔水分離株に比べ浴槽水分離株は多様性に富むことがわかった。[前川純子、倉　文明、常　彬、鈴木敦子・市瀬正之（東京都予防医学協会)、遠藤卓郎（寄生動物部)、渡邉治雄]

(2) 日本で分離された *Legionella pneumophila* のモノクローナル抗体を用いたドレスデンパネルによる分類

(ア) 遺伝子型別法との併用

L. pneumophila 血清群 1 の臨床分離株 38 株、環境由来株 27 株（浴槽水分離株 13 株、冷却塔水分離株 14 株)、計 65 株について、6 種類のモノクローナル抗体でサブグループを決定するドレスデンパネルを用いた分類を我が国において初めて試みた。その結果、モノクローナル抗体型は 9 種類あり、欧米にはない日本独自の型も認められた。遺伝子型別法では 65 株は 34 種類に分かれ、両者の型別法を併用すると 41 種類（臨床分離株 29 種類、環境分離株 14 種類）に細分化された。臨床分離株と浴槽水分離株は多様性に富んでいたのに対し、冷却塔水分離株は 2 種類のみに型別された。

(イ) モノクローナル抗体 MAb1/3 陽性株の分布について

ドレスデンパネルのモノクローナル抗体の 1 つである MAb1/3 は *L. pneumophila* 血清群 1 の LPS の O 鎖 8-O-アセチル基を認識することがわかっているが、環境分離株に比べ臨床分離株の方が MAb1/3 陽性株が多いことが知られていた。今回調べた日本の分離株 65 株についても、臨床分離株の 74%が陽性であったのに対し、環境分離株の陽性率は 22%で、すべて浴槽水分離株であった。

[前川純子、倉　文明、常　彬、渡邉治雄、Jürgen H. Helbig（ドレスデン工科大学)]

(3) 掛け流し式温泉の温泉成分検査、微生物実態調査および施設の衛生管理状況についての調査

(ア) 泉質とレジオネラ陽性率の関係

日本全国の多様な泉質をもつ 8 自治体、48 の温泉入浴施設について泉質、微生物検査および設備調査を行った。46%の施設からレジオネラが検出された。陽性検体の平均菌数は 29 CFU/100mL で、最高が 500 CFU/100mL であった。分離されたレジオネラは、9 割が *L. pneumophila* で、血清群 1、6、untypable が多かった。泉質別では酸性泉と硫黄泉のレジオネラ検出率が低かった。検査した温泉成分との関係では、レジオネラの陽性率が有意に低かったのは、単変量解析の結果から、pH6 未満、酸消費量（炭酸水素イオン濃度）400 mg/L 未満、電気伝導率 225mS/m 未満、全硬度 650 mg/L 未満の温泉水であったが、多重ロジスティック回帰解析では、pH6 未満のみが有意となった。

(イ) 微生物汚染とレジオネラ陽性率の関係

レジオネラ陽性率と他の微生物量との関係については、多重ロジスティック回帰解析により、従属栄養細菌 200CFU/mL 以上、一般細菌 30CFU/mL 以上、アメーバ

20PFU/100mL 以上で有意に高く、特に連続量として見ると、一般細菌数が重要なリスク因子で、一般細菌が 10 倍になると、レジオネラ汚染のリスク（オッズ比）は 2.2 倍になった。各種泉質は、一般細菌数に影響してレジオネラ汚染のリスクに関与すると示唆された。[前川純子、山崎利雄、遠藤卓郎（寄生動物部）、岩渕香織（岩手県環保研センター）、緒方喜久代（大分県衛環研センター）、黒木俊郎（神奈川衛研）、杉山寛治（静岡環衛研）、藤田雅弘・星野利得（群馬県衛環研）、森本　洋・池田徹也・清水俊一（北海道衛研）、最首信和・井田正己（鳥取県衛環研）、熊田裕子（福島衛研）、新川晶子（石川県保環センター）、原　信行（岐阜県保環研）、宮坂次郎（熊本県保環研）、倉　文明]

(4) 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の診断検査

2002 年 7 月の宮崎県の事例において、入院患者を中心に 95 名について検査した。その結果、発症者 24 名のうち３名の喀痰から、*Legionella pneumophila* 血清群（SG）1 が分離され、75 名のうち 23 名が尿中抗原陽性と判定された。また、マイクロプレート凝集法および間接蛍光抗体法を用いた血清抗体価測定により、66 名のうち、SG 1 および *Legionella dumoffii* による感染がそれぞれ 5 名（1 名は混合感染で合計 9 名）と判定され、計 32 名がレジオネラ症と診断された。[河野喜美子・岡田美香（宮崎県衛環研）、倉　文明、前川純子、渡邉治雄]

(5) 尿中抗原測定キット、PCR による臨床検体からのレジオネラの検出

宮崎の集団感染事例において、尿中抗原測定キットのうち Binax イムノクロマト法による陽性率 31%は、Biotest EIA の 16%より高かった。2 種のキットともに、通常の方法では、尿中抗原は発症後 4 週以内の患者にしか検出されなかった。喀痰の PCR により、17 名中 5 名（29%）が *L. pneumophila* による感染と判定された。尿中抗原検出や PCR は、培養や血清抗体価測定よりも陽性率が高く検査法として有用であった。しかし、培養法は感染源の特定のために公衆衛生上重要である。[河野喜美子・岡田美香（宮崎県衛環研 ）、倉　文明、前川純子、渡邉治雄]

(6) 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、鹿児島、長崎、愛媛、神奈川、山形、静岡の地研で同定困難とされた 15 施設由来の合計 38 株のレジオネラ属菌の内 36 株の菌種を同定し、残り 2 株は既存の種にはあてはまらなかった。内訳は温泉水由来 34 株（湯口 13 株、浴槽水 13 株、貯湯槽 5 株、配管 2 株、吐出湯 1 株）、冷却塔水由来 4 株であった。16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定により 15 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。 16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定及び DNA-DNA ハイブリダイゼーションにより 10 株が *Legionella oakridgensis* であった。*Legionella anisa* 8 株（冷却塔由来株 4 株を含む）、*Legionella sainthelensi* 2 株、*Legionella jordanis* 1 株が同定された。*L.sainthelensi* はすべて酸性泉由来であった。[前川純子、倉　文明、井上博雄（愛媛県衛環研）]

(7) 市販されていないレジオネラ免疫血清の作成と特異性

支部レジオネラレファレンスセンターに配布済みのボゼマニ 2 群、ロングビーチ 1 群、及び新たに作成し未配布のロングビーチ 2 群とフィレイ 1 群の免疫血清の特異性検査を、レジオネラ属菌 71 株（種の基準株及び血清群参照株）の加熱死菌を用いてスライド凝集テストにより検査した。ロングビーチ 2 群血清は交差反応が認められなかった。一方、ロングビーチ 1 群血清は *Legionella sainthelensi* 血清群 2、*Legionella tucsonensis* と交差反応し、*L. sainthelensi* との交差反応性は有効に除去できなかった。フィレイ 1 群血清は *Legionlla donaldsonii* と交差反応したが、その反応性は吸収可能であった。ボゼマニ 2 群血清は *Legionella anisa* と交差反応した。[倉　文明、渡邉治雄]

(8) 市販レジオネラ免疫血清ボゼマニの交差反応性

レジオネラ免疫血清ボゼマニ（デンカ生研）で凝集するが、*Legeionella bozemanii* の特徴である青白色の自発蛍光が認められない温泉水由来レジオネラ属菌 1 株を検査した。16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定及び DNA-DNA ハイブリダイゼーション kit で、*Legionella jordanis* と同定された。また、この免疫血清は *L. jordanis* の基準株と交差反応することが確認されたので、支部レファレンスセンター及び免疫血清の発売元に注意を喚起した。[倉　文明、前川純子、渡邉治雄、蔵元　強（鹿児島県環境保健センター）]

(9) 平成 18 年度浴槽水中のレジオネラ属菌検出状況

平成 18 年度（4 月から 1 月）に主として関東地方から分離された浴槽水由来株 441 株の 94.8%は *Legionella pneumophila* で、群別不能株（25.9%）、血清群 1（25.4%）、血清群 5（15.0%）、血清群 6（12.7%）が多く検出された。

平成 8～12 年度（48.0%）、平成 13 年度（28.6%）、平成 17 年度（10.0%）に比べ検体当りの陽性率は、平成 18 年度は 9.4%に低下した。一方、浴槽水分離株にしめる *L. pneumophila* 血清群 1 の割合は、昨年度（35%）に比べ低くなっているものの、平成 8～12 年度（5.7%）、13 年度（18.8%）に比べ高い。［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）、遠藤卓郎（寄生動物部）］

(10) 平成 18 年度冷却塔水中のレジオネラ属菌検出状況

平成 18 年度に主として関東地方から分離された冷却塔水由来株 276 株の 78.3%は *L. pneumophila* で、血清群 1（50.0%）、*Legionella anisa*（18.5%）、血清群 7（15.7%）が多く検出された。これらの菌種、血清群の分布は、浴槽水分離株とは異なった。検体当りの陽性率は、平成 8～12 年度（46.0%）、平成 13 年度（45.9%）、平成 17 年度（29.3%）に比べ、平成 18 年度は 26.0%に低下した。浴槽水の検出率の低下に比べて、冷却塔水では緩やかな低下となっている。［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）、遠藤卓郎（寄生動物部）］

(11) アメーバを用いての、*Legionella pneumophila* の接合伝達の研究

L. pneumophila は環境中で自由生活するアメーバや繊毛虫など細菌捕食性原虫内で増殖し、ヒトに肺炎を引き起こす細胞内寄生菌である。本菌の染色体遺伝子（病原因子を含む）が接合伝達されることが知られていた。また、弱毒株は病原因子の獲得によって強毒化するが報告された。原虫内でプラスミド接合伝達が高率に起こっているという報告もある。そこで、我々はアメーバ内での *L. pneumophila* の接合伝達の効率を調べた。しかし、アメーバが存在しない場合の遺伝子伝達効率に比べ、アメーバ内での伝達効率の上昇は見られなかった。［常　彬、渡邉治雄］

(12) *Legionella pneumophila* の二成分制御系に関する研究

二成分制御系 CheA-CheY は細菌の走化性、バイオフィルムの形成、鞭毛や線毛の発現を調節し、さらに、病原性に関与することが多く報告されていた。我々は *L. pneumophila* の CheA-CheY と相同性を持つ二つの遺伝子の機能について調べている。これらの遺伝子に薬剤耐性カセットの導入により変異株を作成した。野生株と比べて、変異株のバイオフィルムの形成、宿主細胞への接着や侵入、病原性の違いの有無について調べ、CheA-CheY 二成分制御系の *L. pneumophila* の感染機構における役割を明らかにする予定である。［常　彬、渡邉治雄］

(13) *Legionella pneumophila* 感染が自然免疫系の宿主応答を誘導する作用の解析

自然免疫は脊椎動物や昆虫を含む多くの生物が持つ生体防御機構で、その普遍性と重要性が明らかになってきている。ショウジョウバエは自然免疫研究のモデル動物として優れている。我々はショウジョウバエ S2 細胞およびその small interfering RNA を用いて、*L. pneumophila* 感染による自然免疫系を制御するシグナル系の解析を行った。その結果、*L. pneumophila* 感染は S2 細胞の Imd 経路（Imd→ dYAK1 → dIKK 複合体→ Relish といった因子群から構成され、ヒトの自然免疫系である TNF 経路と共通性を示している）を活性化することにより、抗菌ペプチドの Diptericin の産生を誘導した。一方、JAK/STAT 経路の活性化は見られなかった。また、この自然免疫系を活性化する作用には *L. pneumophila* の病原遺伝子群 Icm/Dot の関与が見られなかった。［常　彬、本田尚子、渡邉治雄］

(14) ミエロペルオキシダーゼ依存酸化系の *Cryptococcus neoformans* に対する生体防御への寄与

ミエロペルオキシダーゼ欠損マウス（MPO-/-）は、対照マウスに比べ、*C. neoformans* の鼻腔内投与、静脈投与後の生存率が低下し、鼻腔内投与後の肺生菌数が多かった。MPO-/-マウスでは、感染 7 日後の肺で IL-4 が多く、IL-2、IL-12、IFN-γが少ないことから、Th1 応答の低下が示唆された。また肺の強い炎症像を示し、肺 IL-1α/βが多かった。さらに MPO-/-マウスでは、鼻腔内投与により脳でも菌が検出され、脳 KC が多かった。以上、MPO の主要な役割が示唆された。［荒谷康昭（横浜市大）、倉　文明、渡邉治雄、赤川久義・高野幸枝・大川原明子・ 鈴木和男（生物活性物質部）、Nobuyo Maeda（ノースカロライナ大）、 小山秀機（横浜市大）］

Ⅶ. 髄膜炎菌に関する研究

(1) 培養細胞を用いた in vitro 感染実験における日本固有株 ST-2032 と ST-2046 の感染能の比較解析

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,HEp-2）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 が優位に高い接着・侵入能を示したのに対して分離株の 90%以上が健常者からである日本固有株である ST-2046 は ST-2032 株とは反対に低い接着・侵入能を示した。髄膜炎菌のヒト細胞への接着に必須の線毛の遺伝子を破壊した ST-2032 株でも ST-2046 株よりも約 10 倍の接着・侵入能を保持しており、今回使用した株はすべて莢膜多糖体や Opc といった既知接着因子を保持していないことから ST-2032 株には未知の病原因子が潜在している可能性が示唆された。[高橋英之、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、渡邉治雄]

(2) ホスホエタノールアミン(PEA)付加酵素による髄膜炎菌のヒト培養細胞への接着効率上昇の解析

日本固有株で in vitro 感染実験において強い感染性を示すある 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。その結果、髄膜炎菌の LPS (LOS) に PEA 基を付加する酵素の遺伝子 (*lptA*) を保持することが明らかとなった。ST-2046 株へ *lptA* 遺伝子をプラスミドで導入した場合には HBMEC への接着が約 10 倍に増加し、ST-2032 株の *lptA* 遺伝子破壊株はその接着能力が約 1/10 に低下していた。またこの *lptA* 遺伝子による接着効率の変化は他のヒト内皮・上皮細胞でも認められた。以上の結果から髄膜炎菌は自身の LOS の PEA 修飾を介して接着効率を調節している可能性が示唆された。[高橋英之、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、David Stephens(Emory University)、渡邉治雄]

(3) 本年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

2005 年度 1 年間に感染研に収集された髄膜炎菌 12 株の疫学的解析を行なった。血清型は B:1 株、Y：6 株、29E：1 株、型別不能：4 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 が 5 株、ST-3015、ST-5583 (ST-32 complex)、ST-5711、ST-2045、ST-2330、ST-6003、ST-6004 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。今年度解析した髄膜炎菌株のうち ST-5583、ST-5711、ST-6003、ST-6004 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昨年同様に示唆された。また、血清型 29E は髄膜炎菌株で非病原性と一般的に考えられているにも関わらず今回 ST-5711 (ST-35 complex) が患者から分離されてきていることは医学的には注目すべきことであると考えられた。また、本年度も日本固有の ST に分類される髄膜炎菌株が分離されていることから日本の髄膜炎菌株は未だ未解析で潜在していると推測された。[高橋英之、渡邉治雄]

Ⅷ. 臨床細菌に関する研究

(1) *Clostridium perfringens* に関する研究

高齢者医療施設入院病棟において発生した腹痛、下痢、嘔吐の集団発生の起炎菌として分離された *C.perfringens* の解析を行った。患者便より分離された *C.perfirngens* 39 株のうち、27 株 (69.2%)がエンテロトキシン遺伝子 *cpe* を保持していた。これら *cpe* 陽性菌は 8 種類のの染色体切断パターンを持っていたが、1 株を除く 26 株は、共通の 75 kb プラスミドを持ち、このプラスミドの上にエンテロトキシン遺伝子 *cpe* が存在していた。異なる菌株間でのプラスミド伝達によるエンテロトキシン産生形質の獲得が示唆されたが、その伝達がどの段階で起こったに関しては不明であった。[和田昭仁、稲松孝思(東京都老人医療センター感染症科)]

Ⅸ. レプトスピラ、ボレリア等に関する研究

(1) マダニ媒介性感染症に関する研究

(ｱ) マダニのヒト刺咬例に対する検査体制の確立

4 類感染症であるライム病、日本紅斑熱に加え、国内でも浸潤が確認されたエーリキア・アナプラズマ感染症の早期診断体制の確立を目的として、媒介マダニ刺咬例の疫学調査を行っている。検査材料であるヒト刺咬マダニより唾液腺を単離、病原体 DNA を検出することによって早期診断が可能か否かを調べている。[川端寛樹、渡邉治雄、安藤秀二・岸本寿男・倉根一郎(ウイルス第一部)]

(ｲ) 海外から持ち込まれる動物寄生のマダニが保有する病原体の検索

わが国では近年のペットブームの影響で、これまでのペットとは異なる種類の野生動物が無検疫で輸入されている現状があり、その危機管理対応の確立が急がれている。一方で、検疫対象とされる動物に関しても、動物に寄生する節足動物に対しては、家畜伝染病予防法第３６条２項以外による規制に該当しない節足動物が無検疫で輸入されている。そこで、まず病原体の侵入実態を明らかにするために、環境研究所、麻布大学などと共同で、輸入動物寄生性のマダニに関して、病原体保有調査を開始した。調査対象は、ボレリア、リケッチア、エーリキア、アナプラズマでいずれもヒトを含む動物のマダニ媒介性感染症病原体

である。これまでに、ボレリア、リケッチアなどの病原菌に類縁な細菌種が分離、検出されており、現在、これら分離株について生物学的・病原性解析を進めている。また、検出対象を拡大するために、感染症研究所内にネットワークを構築した。現在ダニ媒介性ウイルス等についても検査可能な状況を整備しつつある。[川端寛樹、渡邉治雄、安藤秀二・岸本寿男・高崎智彦・倉根一郎(ウイルス第一部)、五箇公一（環境研)、宇根有美（麻布大)]

(2) レプトスピラ抗原 Lig タンパク質のワクチンへの応用に関する研究

レプトスピラの感染防御タンパク質 LigA-m の組換えタンパク質を免疫することで、イヌにおいても LigA-m に対する抗体産生を誘導することができた。今後感染実験を行って、イヌでの感染防御効果を評価する。一方、LigA-m の経口ワクチンへの応用を目指して、LigA-m 発現大腸菌を作製し、マウスに経口投与を行ったが、血中抗体産生は認められなかった。[小泉信夫、渡邉治雄、樋坂光明・川上和夫・鈴木 悟・村上保人・岸 雅彦(共立製薬先端技術開発センター)]

(3) 宮崎県北部におけるレプトスピラ保有動物調査

2006 年 8、9 月に宮崎県北部で 7 例のレプトスピラ症患者が発生したため、同地域のレプトスピラ保菌動物調査を行った。同地域でネズミ 57 匹を捕獲し、そのうちアカネズミ 6 匹からレプトスピラが分離できた。患者の推定感染場所付近で捕獲されたアカネズミからの分離株は、患者血清と特異的に反応をした。また同地域で捕獲されたイノシシ、シカ、タヌキの腎臓中からレプトスピラ遺伝子 *flaB* を検出した。またレプトスピラ症疑いの猟犬からレプトスピラ抗体を検出した。[小泉信夫、武藤麻紀、渡邉治雄、宮崎県衛生環境研究所、宮崎県延岡保健所、宮崎県高千穂保健所、宮崎県日向保健所]

(4) フィリピンにおける野鼠からのレプトスピラの分離・性状解析

フィリピン・マニラ首都圏およびロスバニョス地方で野鼠 66 匹を捕獲し、そのうち 36 匹からレプトスピラを分離した。分離株の *flaB* 塩基配列、*Not* Ⅰ－PFGE の切断パターンおよび標準抗血清との反応性から、分離株は *L. interrogans* serovar Manilae, *L. interrogans* serovar Losbanos, *L. interrogans* serogroup Grippotyphosa および *L. borgpetersenii* serogroup Javanica と同定された。[小泉信夫、武藤麻紀、渡邉治雄、吉田真一 (九大)]

(5) 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、1 道 8 県のシカ腎臓 32 検体、また 11 県のイノシシ腎臓 45 検体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 1 検体およびイノシシ腎臓 7 検体から *flaB* が検出された。またそれらの塩基配列を決定したところ、*L. interrogans* (6 検体) および *L. borgpetersenii* (2 検体)と同定された。東京都の 2 ヶ所で捕獲したドブネズミそれぞれ 4 匹と 1 匹からレプトスピラが分離された。 *flaB* 塩基配列からこれら分離株は *L. interrogans* と同定された。東京都動物愛護相談センターに収容されたイヌの腎臓、尿からレプトスピラの分離および腎臓培養液、尿からレプトスピラ遺伝子の検出を試みたがすべて陰性であった。[小泉信夫、武藤麻紀、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)]

Ⅹ．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。そこで膀胱炎患者由来 58 株、腎盂腎炎患者由来 72 株、前立腺炎患者由来 48 株、計 178 株の ExPEC の系統解析を行い、対照として ECOR コレクション株 72 株および便由来大腸菌 45 株との比較解析を行った。Multi-locus sequence typing (MLST)法により系統解析を行った。膀胱炎由来菌株 58 株は 21 の異なったシークエンス型を示し、腎盂腎炎および前立腺炎由来株（72 株および 48 株）もそれぞれ 21 および 19 型に分けられ、多様であることが示された。糞便由来株（45 株）においても、28 型に分けられ同様に多様であることが示された。しかしながら、便由来大腸菌は 71%が系統 A／B1 に属することとは対照的に、膀胱炎由来、腎盂腎炎由来、前立腺由来菌株のほとんどが系統 B2 に属することが明らかにされ（それぞれ 88%、88%、85%)、系統 B2 に属する菌株が尿路感染症に深く関係していることが示された。[大西　真、渡邉治雄、山本新吾（兵庫医大)、倉園久生（大阪府大)]

(2) *Serratia marcescens* に関する研究

Serratia marcescens は尿路感染症や日和見感染症の原因菌である。抗生物質非依存的な治療の構築を念頭に *S.marcescens* の基礎的な病原性のメカニズムの解明をめ

ざした。溶血活性として、赤血球から遊離するヘモグロビンを指標にしたコンタクトヘモリシス(30℃)と血液寒天培地におけるハロー形成能(37℃)の 2 種類がみられた。*S.marcescens*では現在、溶血素として ShlA が知られている。*shlA* 欠損株を作成したところ、コンタクトヘモリシス活性はほぼ消失していたにも関わらず、ヒト血液寒天培地におけるハロー形成能は失われてなかった。ヒト血液寒天培地(37℃)を用いた系により、新たな溶血素(病原性因子)遺伝子をショットガンクローニング法により検索し、4 株を得た。このうち一株は既知の溶血因子である *shlA* を含む DNA 断片を所持していたが、他の 3 株は溶血素として想定出来るホスホリパーゼ A1(PhlA)が存在していた。*phlA* は 963bp(321aa)をコードしており約 33.4kDa のタンパク質である。そこで、*phlA* が溶血活性の責任遺伝子であるかを確かめるために、pGEM-TEasy vecter(promega)に *plaA* 遺伝子を挿入後、DH5α を形質転換し、得られた株の溶血活性を血液寒天培地で調べた。その結果、先のスクリーニングと同様な溶血環がみられた。このことは、*phlA* が *S.marcescens* の新規溶血素であることを強く示唆するものであった。[志牟田健、伊豫田淳、大西　真、渡邉治雄]

ＸＩ．口腔内細菌に関する研究

(1) *Streptococcus mutans* と他の streptococci との混合培養におけるバイオフィルム形成能の検討

う蝕原因菌である *S. mutans* や *S. sobrinus* と他の streptococci との混合培養におけるバイオフィルム形成能を検討すると、*Streptococcus mitis* や *Streptococcus salivarius* と混合培養した場合に *S. mutans* や *S. sobrinus* の単独培養よりもそのバイオフィルム形成量が低下することが明らかとなった。また、*S. salivarius* によりバイオフィルムが低下するメカニズムに Quorum-sensing system（細胞密度依存的制御機構，QS-System）を制御するオートインデューサーの CSP を不活性化させる *S. salivarius* が産生する蛋白分子が存在することが明らかとなった。この分子は、バイオフィルム形成初期に働き、バイオフィルムの厚みを制御していた。この分子を特定することは、新たなう蝕予防製剤の開発に繋がることが考えられた。[泉福英信、田村昌平、茂木瑞穂、米沢英雄、渡邉治雄]

(2) *Streptococcus mutans* と他の streptococci との混合バイオフィルム形成能における *glrA* の役割の検討

バシトラシンのトランスポーターに関与する遺伝子である *glrA* の発現のない *S. mutans* 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。このミュータント株とワイルド株のそれぞれに *S. salivarius* や *S. mitis* を混合しバイオフィルムを形成させると、ワイルド株ではバイオフィルム形成が低下するのに対してミュータント株で低下しなくなった。よって、*glrA* は *S. salivarius* や *S. mitis* によるバイオフィルム形成抑制にも関与する遺伝子であることが明らかとなった。このミュータント株はワイルド株よりも CSP の分泌量が増加しており、このことが抑制に関わった可能性が考えられた。[泉福英信、茂木瑞穂、米沢英雄、渡邉治雄]

(3) *S. gordonii* SspB ペプチドの唾液アグルチニンへの結合におけるリジン置換の影響

S. gordonii の菌体表層蛋白質（SspB）の SspB(390-T400K-402)ペプチドは、唾液アグルチニン（gp-340/DMBT1）のペプチド（SRCRP2）と強く結合する。この結合には、リジン置換による陽電荷表出が影響していることが考えられている。１７年度の検討により、このペプチドの２か所置換ペプチド SspB(390-A393K-T400K-402)は、1 か所置換の SspB(390-T400K-402)ペプチドよりも 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。これは、ペプチド表層に表出した陽電荷のリジンの追加が、結合に影響していることを示唆していた。そこで、１８年度はペプチドの立体構造を予測して、リジン置換により陽電荷がどのように表出しているか立体構造を描画できるコンピューターソフト MOE を利用してその解析を行った。その結果、アミノ酸残基番号 393 のアラニンと 400 のスレオニンを置換したリジンは、αヘリックス構造上一列に並んで同方向に表出していることが明らかとなった。このようなリジンによる陽電荷の表出が SRCRP2 との結合に関与すると考えられた。[泉福英信、木庭秀彦、中尾龍馬、渡邉治雄]

(4) *Streptococcus mutans* 臨床分離株における Bacteriocin Smb の遺伝子パターンとその抗菌性への関与

S. mutans の産生する抗菌物質であるバクテリオシンの一つに Smb がある。この Smb は、抗菌性の強い Lantibiotic タイプであり、Quorum-sensing によりその発現が制御されている。Smb の保有率が臨床分離株や実験室株の中でどの程度か、また Smb 保有菌株間における抗菌性について検討を行った。その結果、17 臨床分離株の中で 5 株(29%)、7 種の実験室株の中で 2 株(29%)が Smb 保有株であった。これらのすべての Smb 保有株は、Smb 感受性菌である RP66(Group C streptococci)への抗菌活性を示した。これ

らのことから、約 30%の *S. mutans* において、Smb が主要な抗菌性物質であることが示唆された。[泉福英信、米沢英雄、渡邉治雄]

(5) *S. mutans* のバイオフィルム形成中期と後期に発現する遺伝子の検討

S. mutans において Quorum-sensing (QS) system は、細胞密度を感知し、遺伝子発現を制御することでバイオフィルム形成に関与していることが明らかとなっている。*S. mutans* は、オートインデューサーである Competence stimulating peptide (CSP)を介した QS-system が存在している。我々は *S. mutans* の CSP により誘導される 32 遺伝子を明らかにし、その中でバイオフィルム形成中期と後期に発現する遺伝子を検討した。その結果、8 時間培養（中期）では SMU1913、SMU1882、14 時間培養（後期）では、SMU104、SMU482 を含む 5 つの遺伝子がバイオフィルム形成時に強く発現することが明らかとなった。これらの遺伝子は、QS-system を介してバイオフィルム形成の調節に関与していると考えられた。[泉福英信、米田早織、米沢英雄、中尾龍馬、渡邉治雄]

(6) *Enterococcus faecium* による分泌物質による *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成阻害効果

E.faecium は、*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ている。そこで、*E. faecium* がその阻害物質を分泌するか検討するために、BHI 透析外液培地にて培養後、培地中に分泌された物質を硫安沈殿による塩析により濃縮することを試みた。その後、沈殿試料を PBS にて透析後、分子量 10KDa 以上を回収するために限外ろ過を行い、蛋白質濃度測定後 *S. mutans* のバイオフィルム形成実験にこの試料を付与した。その結果、その試料は蛋白質濃度依存的にバイオフィルム形成を阻害した。また、この試料を熱、ブタノール、フェノールで処理しその影響を検討すると、阻害効果が消失した。よって、*E.faecium* は、*S. mutans* のバイオフィルム形成を阻害する蛋白質を分泌することが明らかとなった。 [泉福英信、熊田昌幸、米沢英雄、中尾龍馬、渡邉治雄]

(7) アッサム茶成分による *S. mutans* バイオフィルム形成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アッサム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。*S. mutans* および *S. sobrinus* のバイオフィルム形成において、アッサム茶は中国産緑茶よりもその抑制効果が高いことが示唆された。アッサム茶成分を 10kDa の分子量以下と以上に限外ろ過を用いて分け検討を行うと、10kDa の分子量以下に抑制物質が含まれていることが明らかとなった。その成分は、SDS-PAGE とクマシーブルー染色により、10kDa 前後に染まるスメア層に含まれることも明らかとなった。[泉福英信、米田早織、渡邉治雄]

(8) 酪酸による Streptococci と *Actinomyces neasrundii* バイオフィルムへの効果に関する研究

歯周病の原因菌の中で特に *Porphyromonas gingivalis* は歯周病患者のポケット内に多くみられ、感染部位の嫌気条件下にて、各菌種特有の短鎖脂肪酸(SCFA)を作り分泌している。SCFA は、腸内細菌が水溶性食物繊維等を発酵する際に作られる酪酸・プロピオン酸・酢酸などの最終有機酸を指し、結腸の癌細胞の増殖抑制や粘膜の栄養分となることが知られている。そこで我々は口腔内常在菌である *S. mutans*、*S. sanguinis* などの Streptococci と、*Actinomyces neasrundii* が形成するバイオフィルムに対する SCFA の効果を調べることにより、歯周病原菌の分泌 SCFA が口腔内バイオフィルムに及ぼす影響を明らかにすることを目的とし検討を行った。その結果、SCFA は Streptococci よりも *A.neasrundii* に対してよりスクロース存在下バイオフィル形成を増加させることが明らかとなった。よって SCFA は、う蝕や歯周病に関連する菌によるバイオフィルム形成の調節に関与している可能性が考えられた。[米田早織、落合邦康（日本大学歯学部)、泉福英信]

(9) 口腔ケアと *S. mutans* の歯表面付着阻害抗体との関係

平成１８年度は、唾液 PAc(361-386)ペプチドに対する抗体の口腔への影響と口腔ケアの際の作用について要介護高齢者を対象に検討した。介護施設入居高齢者 60 名を被験者とし、抗体有と無で 2 群に、さらに週１回の歯科衛生士による歯牙表層の清掃群と歯牙表層および粘膜表層の清掃群に分けて、口腔ケアの効果を唾液中の *S. mutans* 菌量にて検討した。その結果、口腔ケアによる抗体価の変動はなかったが、抗体有の群はケア後１か月で有意に *S. mutans* 菌量が減少し、抗体なしの群ではそのような減少効果が認められなかった。また、粘膜ケアを歯牙表層ケアに加えると *S. mutans* 菌量の減少効果が強く認められた。これらの結果から、粘膜ケアや抗体が *S. mutans* の歯牙表層への再付着を抑え、それが結果的に *S. mutans* 菌量を減少させることに繋がったことが考えられた。[泉福英信、稲葉英理佳、植松　宏（東京医科歯科大学)、渡邉治雄]

(10) 歯科医療における院内感染対策の現状について

関東某県歯科医師会所属歯科医師 3873 人にアンケート調査を行い、有効回答のあった 392 人(10.1%)のアンケート結果の分析を行った。年齢、患者来院数によりそれぞれグループに分け、院内感染対策に関連する意識、知識、行動に関するアンケート調査を行い、それぞれの質問項目に対する回答の割合を算出した。それらの結果を検討すると、60 才以上の歯科医師は院内感染に対する意識と行動が他の年代よりも大きく欠けていることが示唆された。また、HIV 患者の受け入れ意識は 39 才以下の歯科医師で高く、院内感染対策の行動にも反映していることが示唆された。グローブの着用、スタッフへの感染防止の教育、感染防止マニュアルの作成など、来院患者数が増加する程有意に高くなる傾向を示した。年齢が若く、患者数の多い歯科医院に勤務する歯科医師ほど感染対策をより行う意欲のあることが考えられた。[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）]

(11) デンタルユニット内循環水における微生物の同定および評価システムの開発

デンタルユニットの歯科用ハンドピース、超音波スケーラー、エアーシリンジからの排水サンプルを採取して、一般細菌、従属細菌、緑膿菌、大腸菌、レジオネラ、黄色ブドウ球菌、非結核性非定型抗酸菌、原虫の測定を行った。平成 18 年度は、一般歯科医院５施設の検討を行った。その結果、従属細菌のみ $1x10^6$CFU/ml 以上スリーウエイシリンジやタービンなどから検出された。このデンタルユニットはいずれも製造および使用を開始してから 15 年以上経過していた。一方、製造および使用を開始してから１年以内のデンタルユニットでは、従属細菌も検出されなかった。長い期間使用したデンタルユニットは、排水の微生物汚染の検査を行い、デンタルユニット内微生物汚染の改善が必要であると考えられた。[泉福英信、小森康雄（東京医科大学)、山崎利雄、八木田健司(寄生動物部)]

(12) *Porphyromonas gingivalis* Omp85 ホモログの糖鎖修飾

グラム陰性菌に保存される外膜タンパク Omp85 は菌の生存に必須の外膜タンパクであり、多くの外膜構成タンパクの集合に寄与する。本研究では *Porphyromonas gingivalis* の Omp85 ホモログにおける糖修飾の有無を脱糖化変異株たる *galE* 変異株を用いて検討した。全長 OMP85 タンパクおよび表層ループ領域ペプチドを免疫源として得られた２種類の Omp85 抗体のウエスタンブロット解析により、*galE* 変異株においては Omp85 の分子量が野生株のそれよりも低下することが明らかとなった。さらに野生株 Omp85 はトリフルオロメタンスルホン酸による脱糖処理によっても分子量が減少した。以上より、Omp85 は数 kDa の糖修飾を受ける外膜タンパクであることが明らかとなった。また、野生株よりも *galE* 変異株で分子量が変化するいくつかの外膜タンパクの存在が確認され、そのうちウエスタンブロットと TOF/MS 解析によりヘマグルチニン HagB/C タンパクの糖修飾も確認された。[中尾龍馬、泉福英信、渡邉治雄]

(13) Opr86 ポリクローナル抗体による緑膿菌バイオフィルムの制御

緑膿菌は日和見感染菌の一つとして知られており、そのバイオフィルム形成は嚢胞性繊維症など感染症の原因として問題視されている。バイオフィルム形成時において、細菌は細胞表層を調節することで環境に適応している。*Neisseria meningitidis* の外膜タンパク Omp85 は生育必須な膜貫通型タンパクであり、全てのグラム陰性菌にホモログが存在する。そのため、様々な病原菌において Omp85 ホモログはワクチンの抗原として研究されてきている。我々はこれまでに、緑膿菌における Omp85 ホモログであり機能未知の因子 Opr86 の機能を解明してきた。その結果、Opr86 は外膜タンパクの集合・輸送に関与する生育に必須な因子であることが示された。本研究では、Opr86 ポリクローナル抗体を用いた緑膿菌バイオフィルムの制御を目的として更なる解析を行った。マイクロタイタープレートによるバイオフィルム形成において、Opr86 抗体による形成抑制が確認された。また、この Opr86 抗体によるバイオフィルム制御は富栄養・貧栄養両培地において観察された。バイオフィルム形成は固体表面の付着及び細胞外マトリクス生成が主な要素となっているが、この Opr86 抗体によるバイオフィルム制御は付着の阻止が要因であった。さらにこの抗体の臨床株における有用性を検討したところ、多くの緑膿菌臨床株においてバイオフィルム形成の抑制が確認された。以上の結果から、Opr86 は緑膿菌バイオフィルム形成に対するワクチン抗原として有用である可能性が示唆された。[田代陽介、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦(筑波大学)]

(14) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* バイオフィルム形成を抑制する *Porphyromonas gingivalis* の培養上清中因子の解析

Aggregatibacter actinomycetemcomitans および *Porphyromonas gingivalis* は、ともに主要な歯周病原菌として知られている。また、歯周病患者の歯周ポケットに

おいてこの二菌種が同時に単離されることは少ないとされるが、両菌種間の相互作用についてはほとんど報告が無い。まず、様々な口腔細菌に対して *Porphyromonas gingivalis* の培養上清を加えた時、プラスチックへの各口腔細菌のバイオフィルム形成量が変化するかを調べた。結果、実験に供した *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の２菌株のバイオフィルム形成がいずれも著しく阻害されたが、その他の口腔細菌のバイオフィルム形成にはほとんど影響を与えなかった。一方、*Porphyromonas gingivalis* の上清による、その他の細菌種バイオフィルム形成への影響はほとんど観察されなかった。この上清中の因子は熱感受性で、既知のジンジパインとは異なる分子量 10,000 以上の分子と推察された。今後このバイオフィルム抑制因子を同定する予定である。［中尾龍馬、泉福英信、渡邉治雄］

(15) 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

口腔細菌はしばしば心内膜炎や粥状動脈硬化症などの原因となるので、口腔細菌の薬剤耐性化はそれらの治療を困難にする恐れがある。本研究では，口腔内環境において検出頻度が高いことが報告されているテトラサイクリン耐性口腔レンサ球菌を、6 名の被験者の歯肉縁上プラークから単離培養し、どのような細菌種が分布しているのかを調査した。テトラサイクリン耐性口腔レンサ球菌種の同定は、各細菌 16s rDNA のシーケンス解析により行った。結果，単離されたテトラサイクリン耐性菌株には，*Streptococcus gordonii*，*S.mitis*，*S.sanguinis*，*S.cristatus* や *S.salivarius* が検出され、特にテトラサイクリン耐性 *S sanguinis* が高頻度に認められた。今後も引き続き、分離株の同定を行う予定である。［瀧川智子、中尾龍馬、米田早織、菅野直之(日本大学)、泉福英信、渡邉治雄］

ＸⅡ．結核菌に関する研究

(1) 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　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ッドをもつ、rBCG(pMV261-SM)のモルモットにおける結核菌噴霧感染後の結核菌防御能を、肺、肝、脾、胸部リンパ節の還元培養成績から検討した。rBCG(pMV261-SM)を 10^6cfu/匹に接種した場合には、PBS 群に比べて各臓器の還元培養の菌数は低く、明らかに結核菌防御効果が見られた。しかし、結核菌防御能は、BCG-Tokyo 株が最もよく rBCG(pMV261-SM)は若干劣っている程度であった。このことは、結核とハンセン病の多目的ワクチンとして利用できる可能性が示唆された。［山崎利雄、宮本友司・牧野正彦（病原微生物部）］

(2) BCG の結核菌防御能の持続性について

あらかじめ BCG 0.5mg または PBS を下腹部皮下に注射後、5 年間または１年半飼育した（それぞれ老年期または壮年期）モルモット及び新たに購入した幼年期モルモットを対照群として用いた。BCG あるいは PBS を接種（幼年期モルモットでは初回接種）6 週間後、結核菌 H37Rv 株を噴霧感染し、5 週後に解剖した。解剖時の肉眼所見では、壮年期群は、BCG の再接種の有無に関係なく結核菌抑制効果が見られた。また、老年期群も BCG 再接種群で効果が認められた。還元培養でも、この傾向は変わらず、老年期に BCG を再接種した場合に幼年期と同程度の結核菌の抑制傾向が見られた。このことは、老年期モルモットであっても、BCG の免疫効果があることを示唆している。[山崎利雄、宮本友司（病原微生物部)、相澤志保子・服部真一朗（エイズ研究センター)、山本三郎（遺伝子・疾患研究所）]

(3) 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

昨年に引き続き、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 感受性試験法の検討を、臨床分離菌 75 株を用いて行った。ATP 法と参照法との一致率は、液体テスト法 93.3%、寒天比率法 82.2%、ピラジナミダーゼ試験 93.3%であった。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用であった。[山崎利雄、山本三郎（遺伝子・疾患研究所)、岡沢　豊（極東製薬工業）]

(4) ATP 測定による BCG 生菌数測定法の検討

BCG ワクチンのアンプル中の生菌数は、通常 1%小川培地に希釈菌液を接種して３週目と４週目に肉眼的にコロニー数を数える。この方法は、煩雑であり時間がかかる。そこで、アンプル中の生菌数を ATP 測定法にて検討した。7H9 broth 希釈系列を用いた場合、BCG の濃度に依存して RLU 測定値は減少し、同一ロットであっても、RLU 測定値は異なり、その大小は固形培地で測定した生菌数に依存していた。また、BCG 同一ロットのアンプルを各３本ずつ切って各３測定を行い、ATP 法の再現性も確認した。希釈係数と RLU 値によりアンプル中のおよその生菌数を知ることができる ATP 法は、アンプル切断後、およそ１時間で終了する迅速簡単な方法である。[山崎利雄、山本三郎（遺伝子・疾患研究所）]

(5) 入浴施設の浴槽水より分離された抗酸菌の分離状況

循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化を検討する上に、浴槽水中にいかなる抗酸菌が存在するかの調査を行った。その結果 55 検体中、2 検体から抗酸菌 5 株が分離された。分離菌は、*Mycobacterium avium* 4 株、*M. fortuitum* 1 株と同定された。また、ろ過槽等のろ過剤からは、*M. gordonae* 1 株、*M. avium* 4 株、*M. goodii* 9 株が分離された。結核菌(*M. tuberculosis*)は、検出されなかった。[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）]

ⅩⅢ. その他

(1) 体外診断薬承認前検査：

厚生労働省より依頼される承認前検査中、輸血に関連するものとして、抗梅毒抗体検出用診断薬及び抗カルジオライピン抗体検出用診断薬の検査を行っている。１８年度は一件の化学発光 EIA 法を用いた抗梅毒抗体検出試薬の検査を実施した。本品目は規格試験に合格した。[中山周一、志牟田健、大西　真]

(2) 研修業務

(ｱ) 平成 18 年度特定研修、新興再興感染症技術研修（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、保健所及び食肉衛生検査所の職員 18 名に対して 2 時間の講義を行った。11 月 13 日、武蔵村山市。[倉文明、前川純子]

(ｲ) レジオネラ属菌の宿主となる自由生活性アメーバ類の検査に関する講習および実習

厚労科研費補助金地域健康危機管理研究事業「温泉の泉質等に対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究」において、8 地研 8 名に対して研修を行った。森本　洋（北海道衛研)、岩渕香織（岩手県環保研セ)、熊田裕子（福島県衛研)、藤田雅弘（群馬県衛環研)、新川晶子（石川県保環センター)、最首信和（鳥取県衛環研)、緒方喜久代（大分県衛環研センター)、宮坂次郎（熊本県保環科研)。6 月 8 日～9 日、感染研。[八木田健司・遠藤卓郎(寄生動物部)、前川純子、常　彬、倉　文明]

(3) 取材協力

(ｱ) 倉　文明、山崎利雄：浴槽内の温水による感染症について知る． Spa & Treatment No. 19 (December):42, 2006.

(ｲ) 倉　文明：園芸で肺炎ご用心…腐葉土にレジオネラ菌、死亡例も、読売新聞平成 18 年 12 月 24 日

(ｳ) 倉　文明：浴室ぬめり取り去って，レジオネラ症どう対策、園芸用腐葉土に注意、日本経済新聞平成 19 年 1 月 13 日

(4) 承認前試験

肺炎球菌ワクチンの製法、規格および試験方法が変更になったことにより、承認前試験を行い、その結果を医薬品第二部会に報告した。新製法肺炎球菌ワクチンは承認され、平成 18 年 9 月 1 日に官報告示された。(第三室)

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文論文

1) 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.

2)Amemura-Maekawa,M.,Kura, F.,Chang, B.,and Watanabe,H.Pulsed-field gel electrophoresis analysis and sequence-based typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from Japan. p. 159-162. In Legionella: state of the art 30 years after its recognition Eds. Cianciotto,N.P. et. al. ASM Press, Washington, D. C.2006.

3) 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.

4) Kura F, Amemura-Maekawa J, Yagita K, Endo T, Ikeno M, Tsuji H, Taguchi M, Kobayashi K, Ishii E, Watanabe H: Outbreak of legionnaires' disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup 5. Epidemiol Infect 134:385-391, 2006.

5) Aratani Y, Kura F, Watanabe H, Akagawa H, Takano Y, Ishida-Okawara A, Suzuki K, Maeda N, Koyama H: Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to host defense against *Cryptococcus neoformans*. J Med Microbiol 55:1291-1299, 2006.

6) Kobayashi S, Kura F, Amemura-maekawa J, Chang B, Yamamoto N, Watanabe H: Locus on chromosome 13 in mice involved in clearance of *Legionella pneumophila* from

the lungs. p.310-312. In Cianciotto NP et al. (ed.) Legionella :State of the Art 30 Years after Its Recognition, ASM Press, Washington, D. C., 2006.

7) Terajima J, Tosaka N, Ueno K, Nakashima K, Kitsutani P, Gaynor MK, Park SY, Watanabe H. *Shigella sonnei* outbreak among Japanese travelers returning from Hawaii. Jpn J Infect Dis. 59:282-283. 2006.

8) Terajima J, Izumiya H, Iyoda S, Mitobe J, Miura M, Watanabe H. Effectiveness of pulsed-field gel electrophoresis for the early detection of diffuse outbreaks due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Japan. Foodborne Pathogens and Disease. 3:68-73.2006.

9) Cooper KL, Luey CK, Bird M, Terajima J, Nair GB, Kam KM, Arakawa E, Safa A, Cheung DT, Law CP, Watanabe H, Kubota K, Swaminathan B, Ribot EM. Development and validation of a PulseNet standardized pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Vibrio cholerae*. Foodborne Pathogens and Disease. 3: 51-58. 2006.

10) Miura M, Terajima J, Izumiya H, Mitobe J, Komano T, Watanabe H. OspE2 of *Shigella sonnei* Is required for the maintenance of cell architecture of bacterium-infected cells. Infection and Immunity. 74: 2587-95. 2006.

11) Iguchi, A., Iyoda, S., Terajima, J., Watanabe, H. and Osawa, R. Spontaneous recombination between homologous prophage regions causes large-scale inversions within the *Escherichia coli* O157:H7 chromosome. Gene. 372:199-207, 2006.

12) 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.

13) Iyoda, S. Koizumi, N., Satou, H., Lu, Y., Saitoh, T., Ohnishi, M. and Watanabe, H. The GrlR-GrlA regulatory system coordinately controls the expression of flagellar and LEE-encoded type III protein secretion systems in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 188: 5682-5692, 2006.

14) Lu, Y., Iyoda, S., Satou, H., Satou, H., Itoh, K., Saitoh, T. and Watanabe, H. A new immunoglobulin-binding protein, EibG, is responsible for the chain-like adhesion phenotype of locus of enterocyte effacement-negative, shiga toxin-producing *Escherichia coli.* Infect Immun. 74: 5747-5755, 2006.

15) Leotta, G., Deza, N., Origlia, J., Toma, C., Chinen, I., Miliwebsky, E., Iyoda, S., Sosa-Estani, S. and Rivas, M. Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in captive non-domestic mammals. Vet Microbiol. 118: 151-157, 2006.

16) Chang, B., Ikebe, T., Wada, A., Ogata, K., Tomita, M., Katsukawa, C., Kawahara, R., Suzuki, R., Endo, M., Isobe, J., Tanaka, D., Hirasawa, K., Watanabe, H., and the Working Group for Streptococci in Japan: Surveillance of Group B streptococcal toxic shock-like syndrome in nonpregnant adults and characterization of the strains in Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 59: 182-185, 2006.

17) Chang, B., Wada, A., Ikebe, T., Ohnishi, M., Mita, K., Endo, M., Matsuo, H., Asatuma, Y., Kuramoto, S., Sekiguchi H., Yamazaki, M., Yoshikawa, H., Watanabe, N., Yamada, H., Kurita, S., Imai, Y., Watanabe, H: Characteristics of *Streptococcus suis* isolated from patients in Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 59: 397-399, 2006.

18) Taguchi, M., Seto, K., Yamazaki, W., Tsukamoto, T., Izumiya, H., and Watanabe, H.: CMY-2 β-lactamase-producing *Salmonella enterica* serovar Infantis isolated from poulrty in Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 59: 135-137, 2006.

19) Masuzawa T, Okamoto Y, Une Y, Takeuchi T, Tsukagoshi K, Koizumi N, Kawabata H, Ohta S, Yoshikawa Y. Leptospirosis in squirrels imported from United States to Japan. Emerg Infect Dis 12(7):1153-1155 2006.

20) Morita, M, K. Ito, K. Hirose, H. Takahashi, K. Shimuta, J. Terajima, M. Ohnishi, M. Harada, M. Matsuzaki, H. Watanabe, and H. Izumiya. Development of a real-time PCR assay for detection of *gyrA* mutations associated with reduced susceptibility to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi A. Microbiolology and Immunology. 50: 707-711.2006.

21) Morita, M, K. Mori, K. Tominaga, J. Terajima, K.

Hirose, H. Watanabe, and H. Izumiya. Characterization of lysine decarboxylase-negative strains of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis disseminated in Japan. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 46: 381-385.2006.

22) Tapinos, N., Ohnishi, M. and Rambukkana, A.: ErbB2 receptor tyrosine kinase signaling mediated early demyelination induced by leprocy bacilli. Nature Medicine.12: 961-966. 2006.

23) 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.

24) Tada A, Senpuku H, Motozawa 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.

25) Motegi M, Takagi Y, Yonezawa H, Hanada N, Terajima J, Watanabe H and Senpuku H. Assessment of genes associated with *Streptococcus mutans* biofilm morphology. Appl Environ Microbiol. 72: 6277-6287. 2006.

26) Nakao R, Senpuku H, and Watanabe H. Porphyromonas gingivalis *galE* involved in lipopolysaccharide O-antigen synthesis and biofilm formation. Infect. Immun. 74: 6145-6153. 2006.

27) Saotome Y, Tada A, Hanada N, Yoshihara A, Uematsu H, Miyazaki H and Senpuku H. Relationships of cariogenic bacteria levels with periodontal status and root surface caries in elderly Japanese. Gerodontology. 23: 219-225. 2006.

28) Maeda T, Kitasako Y, Senpuku H, Burrow MF, and Tagami J. Role of oral streptococci in the pH-dependent carious dentin. J. Med. Dent. Sci. 53: 159-166. 2006.

29) Botkin DJ, Abbott A, Stewart PE, Rosa PA, Kawabata H, Watanabe H, Norris SJ. Identification of potential virulence determinants by Himar1 transposition of infectious *Borrelia burgdorferi* B31. Infection and Immunity. 74: 6690-6699. 2006.

30) Tabara K, Hoshina K, Itagaki A, Katayama T, Fujita H, Kadosaka T, Yano Y, Takada N, Kawabata H: Epidemiological study on Japanese spotted fever and scrub typhus in Shimane Prefectue, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 59 (3), 204-205, 2006.

31) Kawabata H, Sakakibara S, Imai Y, Masuzawa T, Fujita H, Tsurumi M, Sato F, Takano A, Nogami S, Kaneda K, Watanabe H: First record of *Leptospira borgpetersenii* isolation in the Amami Islands, Japan. Microbiology and Immunology. 50: 429-434, 2006.

32) Kawabata H, Ando S, Kishimoto T, Kurane I, Takano A, Nogami S, Fujita H, Tsurumi M, Nakamura N, Sato F, Takahashi M, Ushijima Y, Fukunaga M, Watanabe H: First detection of Rickettsia in soft-bodied ticks associated with seabird, Japan. Microbiology and Immunology. 50: 403-406, 2006.

33) 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.

34) Miyoshi-Akiyama T, Ikebe T, Watanabe H, Uchiyama T, Kirikae T, and Kawamura, Y.. Use of DNA arrays to identify a mutation in the negative regulator, CsrR, responsible for the high virulence of a naturally occurring M3-type group A streptococcus clinical isolate. J Infect Dis 193: 1677-1684. 2006.

35) Ogura Y, Kurokawa K, Ooka T, Tashiro K, Tobe T, Ohnishi M, Nakayama K, Morimoto T, Terajima J, Watanabe H, Kuhara S, and Hayashi T: Complexity of the genomic diversity in entrohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 revealed by the combinational use of the O157 Sakai oligo DNA microarray and the Whole Genome PCR Scanning. DNA Research. 13: 3-14. 2006.

36) Alam,M., Hasan,N-A., Ahsan,S., Pazhani, G.P., Tamura,K., Ramamurthy,T., Gomes,D.J., Rahman,S.R., Islam,A., Akhtar,F., Shinoda,S., Watanabe,H., Faruque,A.M., Nair,G.B. Phenotypyic and molecular characteristics of *Escherichia coli* isolated from aquatic environment of Bangladesh. Microbiol. Immunol. 50: 359-370. 2006.

37) Kaisar Talukder,Bijay Khajanchi,M. Islam, Zhahirul Islam, Dilip Dutta, Mustafizur Rahman, Haruo Watanabe, G. Nair, and David Sack. Fluoroquinolone resistance linked to both *gyrA* and *parC* mutations in quinolone resistance- determining region (QRDR) of *Shigella dysenteriae* type 1. Current Microbiology. 52: 108-111. 2006

38)Iguchi, A., Iyoda S., Watanabe, H. and Osawa, R. O Side chain deficiency enhances sensitivity of *Escherichia coli* to Shiga Toxin 2-converting bacteriophages. Curr Microbiol. 54: 14-19, 2007.
39) Yoneda S, Imai S, Hanada N, Yamazaki T, Senpuku H, Ota Y and Uematsu H. Effects of oral care on development of oral mucositis and microorganisms in esophageal cancer patients. Jpn J Infect Dis. 60:23-8. 2007.
40) Senpuku H, Tada A, Nakao R, Yonezawa H, Yoneda S, Yoshihara A and Miyazaki H. Relationships of anti-PAc (361-386) peptide salivary IgA antibody, eosinophils, and basophils with periodontal status in elderly. FEMS Immunol Med Microbiol. 49:84-90. 2007.
41) Saito-Ito A, Kasahara M, Kasai M, Dantrakool A, Kawai A, Fujita H, Yano Y, Kawabata H, Takada N. Survey of Babesia microti infection in field rodents in Japan: records of the Kobe-type in new foci and findings of a new type related to the Otsu-type. Microbiology and Immunology. 51(1):15-24, 2007.

2．和文発表

1) 山崎利雄、儀同政一、松岡正典：生物発光法による抗らい菌活性測定法の開発、日本ハンセン病学会誌 75：227-237、2006.
2) 山崎利雄、佐々木次雄編著、図説呼吸器系細菌感染症疫学・診断・治療、第 9 章結核菌、p140-p176、株式会社じほう、2006.
3) 倉　文明、常　彬、前川純子：レジオネラ、図説　呼吸器系細菌感染症：疫学、診断、治療（荒川宜親、渡邉治雄監修, 佐々木次雄編集)、105–122, じほう、東京、2006.
4) 倉　文明、登坂直規、渡邉治雄：5 章日本と世界のレジオネラ感染症情報、わが国の感染症法に基づいた届け出の現状、レジオネラ感染症ハンドブック（斉藤　厚編)、254-266、日本医事新報社、東京、2007.
6)河野喜美子、岡田美香、倉　文明、前川純子、渡辺治雄：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 II．診断検査法の比較、感染症誌 81(2):173-182、2007.
7) 寺嶋　淳、渡邉治雄：腸管出血性大腸菌（細菌性）とその対策.臨床と微生物、33, 243-247, 2006.
8) 志牟田健、黒木俊郎、大西　真：新感染症学　下巻　－新時代の基礎・臨床研究－　淋菌感染症．日本臨床、65 巻増刊号 3、423-427、2007.
9) 常　彬、渡邉治雄：レジオネラ感染の分子機構、レジオネラ感染症ハンドブック（斎藤　厚編)、86-95、日本医事新報社、東京、2007.
10) 泉谷秀昌、田村和満、渡邉治雄：サルモネラ.化学療法の領域、第 21 巻第 4 号、509-515、2005.
11) 泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邉治雄：腸管出血性大腸菌感染症.化学療法の領域、第 22 巻第 6 号、922-928、2006.
12) 泉谷秀昌：事例から見たサルモネラ食中毒、食と健康、第 50 巻第 12 号、8-15、2006.
13) 小泉信夫、渡邉治雄：レプトスピラ症. 新感染症学(下) 日本臨床増刊号 220-203、2007.
14) 小泉信夫、渡邉治雄：レプトスピラ症の最新の知見. モダンメディア　52(10)：299-306、 2006.
15) 小泉信夫、渡邉治雄：ワイル病・秋やみ混合ワクチン予防接種のすべて 2006、130-133、 日本小児医事出版社、東京、2006.
16) 小泉信夫、渡邉治雄：レプトスピラ抗体. 検査値のみかた、634－636、中外医学社、東京、2006.
17) 泉福英信、インプラント対応型「清掃空間」とは？アポロニア 8：66-69、2006.
18) 泉福英信：歯科ユニットのバイオフィルム、化学療法の領域、22：26-30、2006.
19) 泉福英信、米田早織：抗ウイルス薬、歯科におけるくすりの使い方、p．78-79、監修佐々木次郎、東理十三雄、デンタルダイヤモンド社、2006.
20) 泉福英信：感染症対策はどこまでやればよいか？日本歯科評論、771：13-15、2007.
21) 泉福英信：歯科医療に関わる全身感染症の最近の動向、日本歯科評論、773：123-128、2007.
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) 川端寛樹：回帰熱（回帰熱ボレリア感染症）relapsing fever、ダニと新興再興感染症、SADI 組織委員会編、全国農村教育協会、pp201-203、2007.
24) 川端寛樹、高崎智彦：警戒すべきウイルス感染症「マダニが関わる出血熱と西ナイル熱」、ダニと新興再興感染症、SADI 組織委員会編、全国農村教育協会、pp229-232、2007.
25) 川端寛樹、高野愛、渡邉治雄：ライム病、新感染症学（下）-新時代の基礎・臨床研究-、日本臨床、62(3) 196-199. 2007.
26) 川端寛樹：ライム病、日常臨床に役立つ小児感染症マニュアル 2007. 日本小児感染症学会編、東京医学社、233-243. 2006.
27) 高橋英之、渡邉治雄：新感染症学（下）-新時代の基

礎・臨床研究-、ペスト、日本臨床 65 増刊号 3、54-59、2007.

28) 池辺忠義、渡邉治雄：劇症型（重症）溶連菌感染症サーベイランス、小児科 金原出版 1885-1861、2006.

29) 池辺忠義:A 群溶血レンサ球菌､呼吸器系細菌感染症、疫学・診断・治療、じほう、133-148、2006.

30) 渡邉治雄：腸内細菌ゲノムの多様性解明と分子疫学的解析への応用（第 41 回小島三郎記念文化賞)、モダンメディア、52:30-35、2006.

31) 渡邉治雄：食中毒検査・診療のコツと落とし穴、編集渡辺治雄、中山書店、2006.

32) 渡邉治雄：腸管出血性大腸菌感染症の特徴と近年の発症傾向、食中毒検査・診療のコツと落とし穴、中山書店、10、2006.

33) 渡邉治雄：細菌性赤痢の特徴と近年の傾向、食中毒検査・診療のコツと落とし穴、中山書店、10、2006.

34) 渡邉治雄：菌株解析ネットワーク「パルスネット」Medical Tribune.39:42、2006.

35) 渡邉治雄：食中毒由来細菌の薬剤耐性、食品衛生、56：17－24、2006.

36) 渡邉治雄：薬剤耐性食中毒菌の現状と対策、臨床病理レビュー、136:19-26.2006.

Ⅱ．学会発表

1．欧文発表

1) Amemura-Maekawa, M., Kura,F.,Chang,B., Suzuki-Hashimoto,A.,Ichinose,M, and Watanabe, H. Typing of *Legionella peumophila* Isolates in Japan by *flaA* Gene. 21st Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections Lisbon, Portugal, May, 2006.

2) Kawano K, Okada M, Kura F, Amemura-Maekawa J, Watanabe H: The largest outbreak of legionellosis in Japan associated with spa baths: Diagnostic tests. 21st Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Lisbon, Portugal. May 2006.

3) Jun Terajima, Yingxin Pei, Hidemasa Izumiya, Sunao Iyoda, Jiro Mitobe, Haruo Watanabe : Molecular epidemiological investigation of enterohemorrhagic *E. coli* Isolates in Japan 2004 – 2005、6th International Symposium on 'Shiga Toxin(Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections, Oct. 2006, Melbourne Australia

4) Yoshitoshi Ogura, Tadasuke Ooka, Ken Kurokawa, Jun Terajima, Keisuke Nakayama, Haruo Watanabe, Toru Tobe, Tetsuya Hayashi: Comparative genome znalysis of O157 and Non-O157 enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains using the whole genome PCR scanning and the O157 OligoDNA microarray, 6th International Symposium on 'Shiga Toxin(Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections, Oct. 2006, Melbourne Australia

5) Tadasuke Ooka, Yoshitoshi Ogura, Keisuke Nakayama, Ken Kurokawa, Makoto Ohnishi, Jun Terajima, Haruo Watanabe, Tetsuya Hayashi: The mechanism of genomic diversification in Enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7, 6th International Symposium on 'Shiga Toxin(Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections, Oct. 2006, Melbourne Australia

6) Iyoda, S., Koizumi, N., Satou, H., Lu, Y., Saitoh, T., Ohnishi, M. and Watanabe, H. The GrlR-GrlA regulatory system coordinately controls the expression of flagellar and LEE-encoded type III protein secretion systems in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. VTEC 2006. October 2006, Melbourne, Australia.

7) Lu, Y., Iyoda, S., Satou, H., Satou, H., Toma, C., Saitoh, T., Ohnishi, M., Terajima, J. and Watanabe, H. Identification and characterization of a new immunoglobulin-binding protein, EibG, that is responsible for the chain-like adherent phenotype of a LEE-negative Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. VTEC 2006. October 2006, Melbourne, Australia.

8) Iguchi, A., Iyoda, S., Watanabe, H. and Osawa R. Defective O side chain enhances sensitivity of Escherichia coli to Shiga toxin 2-converting bacteriophages. VTEC 2006. October 2006, Melbourne, Australia.

9) Iyoda, S., Saitoh,T., Lu, Y., Satou, H., Shimuta, K., Ohnishi, M., Terajima, J. and Watanabe H. Coordinate expression of virulence-related genes under the control of GrlR/GrlA regulatory system in enterohemorrhagic *Escherichia coli.* 41th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Panel. November 2006. Gifu.

10) Lu, Y., Iyoda, S., Satou, H., Satou, H., Toma, C., Saitoh, T., Ohnishi, M., Terajima, J. and Watanabe, H.Identification and characterization of a new adhesion/immunoglobulin-binding protein, EibG, in LEE-negative Shiga-toxin producing *Escherichia coli.* 41th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial

Enteric Infections Panel. November 2006. Gifu.

11) H. Izumiya, S. Iyoda, J. Terajima, M. Ohnishi, S. Yamasaki, and H. Watanabe: Distribution of the subA gene among LEE-negative STEC isolates in Japan. 6th International symposium on Shiga toxin (verocytotoxin) producing *Escherichia coli* infections, Oct. 2006, Melbourne, Australia.

12) H. Izumiya, S. Iyoda, J. Terajima, M. Ohnishi, T. Ishihara, S. Yamasaki, and H. Watanabe: Distribution of the subA gene among the Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates in Japan. 4th Meeting of PulseNet Asia Pacific, Dec. 2006, Nanjing, China.

13) Koizumi N, Watanabe H. Leptospirosis vaccine. The 1st Thailand – Japan Joint Forum on Infectious Diseases, Bangkok, Thailand, 2007.

14) Yoneda S, Nakao R, and Senpuku H, Inhibiting effects of Assam tea to cariogenic bacteria growth. 84th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2006. Brisbane, Australia.

15) Nakao R, Watanabe H, Yoneda S, and Senpuku H, UDP-galactose 4-epimerase of *Porphyromonas gingivalis* effects on the biofilm formation. 84th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2006. Brisbane, Australia.

16) Takeuchi H, Okuda K, Okayama H, Imai S, Senpuku H, and Hanada N, New fluorescence method to detect periodontopathic biofilm. 84th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2006. Brisbane, Australia.

17) Koba T, Tagami J, and Senpuku H, Lysine substitution in *S. gordonii* SspB peptide binding with SRCRP2. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

18) Fujimaru T, Ishizaki T, Hayman R, and Senpuku H, Adsorption of oral pathogenic microbes by small crystal hydroxyapatite. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

19) Tominaga T, Komori Y, Nakajima J, Chiba H, and Senpuku H, Roles of produced hTNF-a in HIV-1 inhibition by lactoferrin. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

20) Naito H, Masuda H, Tachino A, Takagi K, Matsumoto Y, Ishihara Y, Kageyama K, Sasaki T, Sasaki M, Tsuge S, Okayama H, Nomura Y, Hanada N and Senpuku H, A simple and quick detection system for PAc-specific salivary IgA. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

21) Kamoda Y, Uematsu H, Yoshitake Y, H, Miyazaki H and Senpuku H, Relationship among NK cells, Oral bacteria infection, and physical fitness. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. Brisbane, Australia.

22) Nakao R, Watanabe H and Senpuku H, *P. gingivalis* galE mutant released few vesicles with LPS. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

23) Yoneda S, Yonezawa H, Motegi M, Nakao R, Senpuku H. Gene expressions in early and late stages of *Streptococcus mutans* biofilm. ASM conferences Biofilm 2007. Quebec, Canada.

24) Senpuku H, Tamura S, Yonezawa H, Motegi M, Nakao R, Watanabe H. Effects of oral streptococci to biofilm formation of cariogenic bacteria. ASM conferences Biofilm 2007. Quebec, Canada.

25) Nakao R, Senpuku H. A heat-liable substance in the culture supernatant of *Porphylomonas gingivalis* inhibits biofilm formation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. ASM conferences Biofilm 2007. Quebec, Canada.

2．和文学会

1) 前川純子、倉　文明、常　彬、渡邉治雄：新しい分子疫学的手法である sequence-based typing (SBT) による *Legionella pneumophila* 血清群 1 の臨床および環境分離株の型別、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京

2) 前川純子、倉　文明、常　彬、渡邉治雄：*Legionella pneumophila* のモノクローナル抗体を用いたドレスデンパネルによる分類、 第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪

3) 村井美代、前川純子、渡邉治雄：高度な多型を示す黄色ブドウ球菌フィブロネクチン結合タンパク A 領域におけるアミノ酸配列の比較、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪

4) 山崎利雄：入浴施設の浴槽水における抗酸菌の検出、第 81 回日本結核病学会総会、2006 年 4 月、仙台
5) 山崎利雄、山本三郎：ATP 測定による BCG 生菌数測定法の検討、第 76 回実験結核研究会総会、2006 年 4 月、仙台
6) 山崎利雄：東日本地区の温泉浴槽水からの抗酸菌の分離状況、第 35 回　結核・非定型抗酸菌治療研究会、2006 年 6 月、東京
7) 山崎利雄：結核の現状について、衛生微生物協議会第 27 回研究会、2006 年 6 月、札幌
8) 深沢　豊、内山良介、角泰人、原英樹、野村卓正、河村伊久雄、山崎利雄、光山正雄：ストレプトマイシン要求性結核菌 18ｂ株のストレプトマイシン依存的 IFN-r 産生誘導（続報)、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
9) 三戸部治郎、石原朋子、石浜明、渡邉治雄：赤痢菌の Type III secretion system の post-transcriptional な温度制御、第 1 回感染症若手コロッセウム、平成 19 年 1 月、神戸市
10)三戸部治郎、石原朋子、石浜明、渡邉治雄：赤痢菌の Type III secretion system の post-transcriptional な発現制御、第 80 回日本細菌学会総会、平成 19 年 4 月、大阪
11) 荒谷康昭、倉　文明、渡邉治雄、高野幸枝、大川原明子、 鈴木和男、小山秀機：ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのクリプトコッカス感染防御機能の解析、第 17 回日本生体防御学会総会、2006 年 7 月、札幌
12) 倉　文明：レジオネラの検査法、平成 18 年度特定研修、新興再興感染症技術研修、2006 年 11 月、東京
13) 倉　文明：レジオネラ属菌の管理基準、第 5 回全国レジオネラ対策会議、2007 年 3 月、東京
14) 寺嶋　淳、泉谷秀昌、渡邉治雄：細菌性腸管感染症診断の変遷、第 47 回日本熱帯医学会・第 21 回日本国際保健医療学会合同大会、2006 年 10 月、長崎
15) 寺嶋　淳：堺以後の日本における 0157 の発生動向、第 27 回日本食品微生物学会学術総会、2006 年 9 月、大阪
16) 久高　潤、安里龍二、糸数清正、中村正治、平良勝也、国吉秀樹、金城夕子、寺嶋　淳、渡邉治雄、J. Kobayashi、B. Swaminathan、 C. R. Barden、 J. R. Dunn：米軍基地で販売されたハンバーグに関連する腸管出血性大腸菌 0157:H7 による感染事例、第 10 回腸管出血性大腸菌シンポジウム、2006 年 8 月、東京
17) 大岡唯祐、小椋義俊、中山恵介、黒川　顕、大西　真、寺嶋　淳、渡邉治雄、林　哲也：腸管出血性大腸菌 0157 のゲノム多様性メカニズムの解析　第 10 回腸管出血性大腸菌シンポジウム、2006 年 8 月、東京
18) 寺嶋　淳、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡邉治雄：EHEC の疫学－最近の状況 第 10 回腸管出血性大腸菌シンポジウム、2006 年 8 月、東京
19) 寺嶋　淳、伊豫田　淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、田村和満、渡邉治雄：2006 年における 0157:H7 を中心とした EHEC の動向について、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
20) 三浦雅史、伊豫田　淳、大西　真、安部　裕順、戸邉亨、林　哲也、泉谷秀昌、寺嶋　淳、渡邉治雄：感染宿主細胞の形態維持に関与する病原性因子の機能解析、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
21) 井口純、伊豫田淳、寺嶋淳、渡邉治雄、大澤朗：大規模な逆位による腸管出血性大腸菌 0157 ゲノムの多様化、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 4 月、金沢
22) 陸彦、伊豫田淳、伊藤健一郎、齊籐剛仁、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、2006 年 4 月、金沢
23) 伊豫田淳、小泉信夫、陸彦、大西真、渡邉治雄：負の発現制御因子 GrlR の活性制御による III 型蛋白発現制御機構質輸送装置とべん毛の協調発現制御機構、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 4 月、金沢
24) 朝倉宏、石和玲子、荒川英二、牧野壮一、山本茂貴、五十君静信：*Vibrio cholerae* の低温ストレスによる VBNC 移行と網羅的遺伝子解析、 第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、 大阪
25) 荒川英二、泉谷秀昌、森田昌知、T. Ramamurthy、渡辺治雄：*Vibrio fluvialis* の *toxR* を標的とした検出法の検討、第 40 回腸炎ビブリオシンポジウム、2006 年 11 月、東京
26) 志牟田健、伊豫田淳、小川倫洋、後藤直正、渡邉治雄、大西　真：*Serratia marcescens* における新規溶血因子の探索、第 80 会日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
27) 常　彬、和田昭仁、池辺忠義、渡邉治雄：本邦で患者より分離された *Streptococcus suis* の性状、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京
28) 常　彬、和田昭仁、池辺忠義、大西　真、渡邉治雄：日本国内で患者より分離された *Streptococcus suis* の性状、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
29) 泉谷秀昌:多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium 感染症、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京
30) 池ヶ谷諭史、吉尾伸之、林雅之、末吉泰信、泉谷秀昌、渡邉治雄：*Shewanella algae* による壊死性筋膜炎、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京

31）泉谷秀昌：食中毒菌の疫学解析に利用される分子遺伝学的手法について、衛生微生物技術協議会第 27 回研究会、2006 年 6 月、札幌

32）森田昌知、廣瀬健二、泉谷秀昌、渡邉治雄、相楽裕子：日本国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の薬剤感受性動向、 第 45 回感染性腸炎研究会総会、2006 年 3 月、東京

33）森田昌知、泉谷秀昌、寺嶋　淳、廣瀬健二、渡邉治雄：リジンデカルボキシラーゼ陰性 *Salmonella* Enteritidis 株における発現制御遺伝子の変異、 第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 3 月、金沢

34）森田昌知、泉谷秀昌、渡邉治雄、相楽裕子：2006 年に日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌の各種薬剤感受性の検討、 第 46 回感染性腸炎研究会総会、2007 年 3 月、東京

35）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：腸管感染症の薬剤耐性マーカーの利用について、衛生微生物技術協議会第 27 回研究会、2006 年 6 月、札幌

36）泉谷秀昌：微生物ハザード I、お茶の水女子大学、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 2、2006 年 10 月、東京

37）泉谷秀昌：MLVA（総論）、平成 18 年度「地域保健総合推進事業」地・域ブロック研修会、2007 年 1 月、埼玉

38）泉谷秀昌、大西真、伊豫田淳、寺嶋淳、山崎伸二、石原朋子、渡邉治雄：サチラーゼ様プロテアーゼをコードする subA 遺伝子の志賀毒素産生性大腸菌株における分布状況、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪

39）小泉信夫、武藤麻紀、渡邉治雄、馬場義孝、工藤桃利、玉得吉信、下村高司、山本正悟、高取一郎、岩切章：宮崎県北部におけるレプトスピラ保菌動物調査、第 44 回レプトスピラシンポジウム、2007 年 3 月、大阪

40）泉福英信、黒田亘一朗、松井光、米沢英雄：糖尿病と唾液分泌に関連する分子、E2F-1 について（#46）、第 48 回歯科基礎医学会、2006 年 9 月、鶴見

41）茂木瑞穂、米沢英雄、高木裕三、泉福英信：Streptococcus mutans 臨床分離株における QS システム関連遺伝子（#194）、第 48 回歯科基礎医学会、2006 年 9 月、鶴見

42）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意識向上と行動について、第 55 回口腔衛生学会、2006 年 10 月、大阪

43）武内博朗、奥田健太郎、野村義明、岡山秀仁、的場一成、河村勝美、田中和也、泉福英信、花田信弘：歯周病関連バイオフィルムの光学的手法による臨床検出法の検討、第 55 回口腔衛生学会、2006 年 10 月、大阪

44）米沢英雄、渡邉治雄、泉福英信：*Streptococcus mutans* 臨床分離株における Bacteriocin Smb の遺伝子パターンとその抗菌性への関与、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪

45）中尾龍馬、泉福英信、渡邉治雄：UDP-galactose 4-epimerase of *Porphyromonas gingivalis* effects on the biofilm formation、第 6 回 cell cell communication & biofilm セミナー、2006 年 5 月、東京

46）中尾龍馬、泉福英信、渡邉治雄：The role of the *Porphyromonas gingivalis* UDP-galactose 4-epimerase in the formation of the outer membrane structure and biofilms. 第 3 回口腔バイオフィルム研究会、2006 年 7 月、東京

47）田代陽介、野村暢彦、中尾龍馬、泉福英信：古園さおり、渡邉治雄、中島敏明、内山裕夫：外膜タンパク Omp85 制御による緑膿菌バイオフィルムの形成阻害、2007 年度日本農芸化学会総会、2007 年 3 月、東京

48）石橋哲也、千々和勝己、山本正悟、藤田博己、片山丘、古屋由美子、田原研司、御供田睦代、大瀬戸光明、荻野和正、川端寛樹：福岡県の紅斑熱患者発生地における媒介マダニの調査、 リケッチア・クラミジア研究会、2006 年 10 月、北九州市

49）近藤玲子、大瀬戸光明、稲荷公一、豊嶋千俊、市川高子、井上博雄、田原研司、山本正悟、御供田睦代、古屋由美子、藤田博己、川端寛樹、高野愛：愛媛県の日本紅斑熱発生地域におけるマダニ類の *Rickettsia japonica* 保有状況、 リケッチア・クラミジア研究会、2006 年 10 月、北九州市

50）井上快、丸山総一、壁谷英則、山田直樹、佐藤雪太、湯川真嘉、大橋典男、増沢俊幸、川森文彦、角坂照貴、高田伸弘、藤田博己、小泉信夫、川端寛樹：わが国の野生齧歯類における *Bartonella* 属菌の分布、第 14 回 SADI（ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー）、2006 年 6 月、青森

51）川端寛樹、齋藤幹、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 14 回 SADI（ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー）、2006 年 6 月、青森

52）高野愛、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、渡邉治雄、川端寛樹：南西諸島における *Borrelia valaisiana* 近縁種の浸潤、第 14 回 SADI（ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー）、2006 年 6 月、青森

53）田原研司、保科 健、新井 智、辻 正義、川端寛樹、

角坂照貴、藤田博己、矢野泰弘、高田伸弘：島根県下に生息する野ネズミからの *Babesia microti* SSU rRNA 遺伝子の検出、日本衛生動物学会大会、2006 年 4 月、長崎

54）田原研司、板垣朝夫、藤田博己、角坂照貴、矢野泰弘、高田伸弘、川端寛樹：島根県産アカネズミ寄生個体に基づくタヌキマダニ幼虫期確定、日本衛生動物学会大会、2006 年 4 月、長崎

55）角坂照貴、 藤田博己、後藤郁夫、川端寛樹：石垣島におけるカメキララマダニ幼虫の人体寄生例、日本衛生動物学会大会、2006 年 4 月、長崎

56）高橋英之：病原性ナイセリア属菌に関して、平成 18 年度希少感染症・細菌・中級コース（国立保健医療科学院主催）、2006 年 11 月、東京

57）高橋英之：バイオセーフティの観点から見た病原細菌・ペスト、第 6 回日本バイオセーフティ学会総会、2006 年 11 月、東京

58）高橋英之、渡邉治雄：髄膜炎菌 LOS の phosphoethanolamine 修飾酵素の病原性因子としての機能解析、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪

59）池辺忠義、平澤恭子、磯部順子、田中大祐、鈴木理恵子、勝川千尋、河原隆二、冨田正章、緒方喜久代、遠藤美代子、奥野ルミ、渡邉治雄：劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来株のサーベイランス、第 15 回 Lancefield レンサ球菌研究会および第 39 回レンサ球菌感染症研究会合同学会、2006 年 6 月、神奈川

60）田中大祐、綿引正則、遠藤美代子、奥野ルミ、熊谷奈々子、池辺忠義、渡邉治雄：国内で分離された A 群 *S. dysgalactiae* subsp. equisimilis の遺伝子型の解析、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 3 月、石川

61）渡邉治雄：特別講演「腸管感染症の最近の話題」、日本臨床腸内微生物学会、2006 年 9 月、東京

5．細 菌 第 二 部

部 長　荒 川 宜 親

概　要

当部は、第一室から第五室の５つの室で構成され、主に呼吸器系の細菌感染症を引き起こす細菌とともに全身感染症、日和見感染症、持続性慢性感染症などの起因菌、毒素産生偏性嫌気性菌などについて、細菌学、細菌感染症学の観点から細菌の病原性（薬剤耐性を含む）、細菌感染症の病態などについて分子、遺伝子レベルで研究を進めている。同時に、細菌による医療施設関連感染症の発生要因に関し、実験的解析、疫学的解析の両面からの研究、調査を行なっている。さらに、ワクチンなどの生物学的製剤の品質管理に不可欠な標準品の製造を行なうとともに部の基盤的研究として、品質管理技術の向上を目指し、試験・検査法法の改良等種々の検討や研究を行なった。

第一室は、抗生物質製剤の品質管理に必要な日本薬局方標準品の製造、厚労省の一斉監視指導収去検査として抗生物質製剤の検査などに従事するとともに、薬剤耐性菌やそれによる感染症に関する調査研究を担当している。第二室は、生物学的製剤の無菌試験に関する事項を担当し、さらにマイコプラズマ、インフルエンザ菌など呼吸器系疾患の起因菌に関する病原体に関する研究を担当している。第三室では、ジフテリア、破傷風の予防の為のトキソイドワクチン、それらの治療のための抗毒素製剤などを担当している。第四室では抗酸菌などの慢性持続性感染症の起因細菌の研究とともに、BCG 製剤、精製ツベルクリンなどの力価試験などを担当している。第五室は、百日咳および百日咳菌に関する調査研究を担当し、同時に、エンドトキシン試験、特殊毒性試験、さらに、生物統計などについて、全所的な支援を行なっている。

外部公的機関への支援などとして、WHO(WPRO)、JICA、国立国際医療センターなどの各種海外支援プロジェクト、国際協力事業等に協力し、同時に国内外からの研修生等の受入れや技術研修などを行った。さらにWHOの “Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products”としての活動を行った。

品質管理業務及び研究実績の詳細については各担当室毎に後述するが、部として取り組んだ主要な業務や代表的な研究課題などを以下に示す。

1．厚生労働省による「院内感染対策サーベイランス事業」の改善に関して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、技術支援、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、調査協力
5．国内の医療施設で分離された新型薬剤耐性菌の耐性機序の解明と遺伝子型別などに関する技術支援

その他、ジフテリア菌、百日咳菌、破傷風菌、*Clostridium botulinum*、*Helicobacter pylori*、*Haemophilus influenzae*、*Clostridium difficile* などの病原細菌の分離・同定、病原性や病原因子、検査法、分子疫学などに関す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。

平成 18 年度には常勤職員の採用、退官などはなかったが、業務の継承や業務量の調整の為、7 月に常勤職員の室間の配置換えを行なった。客員研究員として石田説而、協力研究員として黒川博史、川村久美子、長野則之、小島 禎、土井洋平、八木哲也、瀬戸幸路、坂本 崇、流動研究員として木村幸司、和知野純一、朴貞玉、韓賢子、上野山敦子らが在籍した。研究生として、本間　操、山田友紀、畑中公基、長野由起子らが在籍し病原細菌に関する様々な研究を行った。臨時職員（事務補助、研究補助）として、瀬川晶子、甲斐久美子、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、本郷有美子、鯵坂裕美、片岡紀代（業務管理課）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 55 施設の医療機関等から依頼を受けた菌株･検体について、薬剤耐性遺伝子検査（190 件）、毒素遺伝子検査（157 件）、菌株タイピング解析（409 件）、菌種同定（2 件）、*Clostridium difficile* 分離同定（112 件）、*C. difficile* 毒素検出（112 件）、その他（45 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.（32 株）、*Staphylococcus* spp.（26 株）、*Streptococcus* spp.（52 株）、2）*Clostridium* spp.（181 株）、その他のグラム陽性桿菌（25 株）、3）*Pseudomonas* spp.（228 株）、*Escherichia coli*（46 株）、*Proteus* spp.（47 株）、*Klebsiella* spp.（6 株）、*Helicobacter pylori*（2 株）、*Serratia* spp.（3 株）、*Enterobacter* spp.（2 株）、*Providencia* spp.（16 株）、*Achromobacter* sp.（1 株）、4）その他（9 株）であった。なお、菌株等は感染研細菌第二部の管理番号（MRY 番号）を付与して保存した。［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、瀧世志江、木村幸司、和知野純一、近田俊文、荒川宜親］

2. 新型 CTX-M-3 型β-ラクタマーゼと IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼの同時産生菌の遺伝子解析

世界的にメタロ-β-ラクタマーゼや ESBL を産生する耐性菌が多く分離されているが、最近我が国におけるメタロ-β-ラクタマーゼや ESBL 産生菌の分離状況を PCR 法によってこれまでも報告してきた。今回、メタロ-β-ラクタマーゼと ESBL を同時に産生する *Enterobacter aerogenes* を分離し、そのβ-ラクタマーゼ遺伝子と周辺構造の解析を試みた。2004 年に静岡の病院で、血液検体から臨床分離された *E. aerogenes*（MRY03-465 株）は、第三世代セファロスポリンに高度耐性を示した。ディスク拡散法にて、メタロ-β-ラクタマーゼと ESBL の両方の産生が推定された。PCR 法によるβ-ラクタマーゼ遺伝子解析とダイレクトシークエンス解析を行い、さらに塩基配列の決定、遺伝子のタイピングを行った。β-ラクタマーゼのシークエンス解析では、我が国に独自の CTX-M-3 型β-ラクタマーゼ遺伝子と IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子を同時に保有していることが明らかとなった。IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子は、クラス 3 型インテグロン構造に、遺伝子カセットとして担われ、アミノグリコシドに耐性を付与する *aacA4* 遺伝子も同時に保有していた。さらに、CTX-M-3 型β-ラクタマーゼ遺伝子は、IS*Ecp1* 構造に担われていることが明らかとなった、今回の解析結果は、メタロ-β-ラクタマーゼと CTX-M-3 型β-ラクタマーゼを同時に産生する菌の初めての報告であり、こうした多剤耐性菌の動向の監視に寄与するものと考えられた。［柴田尚宏、荒川宜親］

3. CTX-M-3 型β-ラクタマーゼ遺伝子保有腸内細菌のβ-ラクタマーゼ解析とプラスミド解析

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腸内細菌において、CTX-M-3 型が多く検出されることは報告してきた。今回さらに、これらの株の詳細なβ-ラクタマーゼ解析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-3 型遺伝子保有株は、日本独自のヌクレオチド配列を持つものが圧倒的に多いことが明らかとなった。これらの株は、プラスミドパターンは異なるが、大半が IS*Ecp1* 構造に担われることが明らかとなった。このような耐性機序によって、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］

4. 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 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、IMP-1 型および VIM-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の検出を報告してきた。今回は、さらに近縁の IMP-1 型と IMP-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子の鑑別を試みた。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］

5. PCR 法によるプラスミド性ニューキノロン耐性遺伝子の保有状況の調査

140 医療施設から分離された 751 株の大腸菌について PCR 法を用いてプラスミド性キューキノロン耐性遺伝子、*qepA* および *qnrA, qnrB, qnrS* の保有状況を調査した。その結果 *qepA* は 2 株の大腸菌から分離されたが *qnr* は分離されなかった。［山根一和、和知野純一、鈴木里和、荒川宜親］

6. アミノグリコシド高度耐性 *Klebsiella pneumoniae* の耐性機序の解明

ブラジルの医療機関から分離されたアミノグリコシド高度耐性 *K. pneumoniae* を調べた。その結果 16S rRNA メチラーゼの一種である *rmtD* を保有することが明らかとなった。*rmtD* はプラスミド上に存在し、そのプラスミドのサイズは約 90 kbp であった。*rmtD* は緑膿菌から分離された報告はあるが腸内細菌科の *K. pneumoniae* から分離された例はこれが初めての事である。［山根一和、土井洋平、David L Paterson］

7. バンコマイシン耐性腸球菌の分子疫学的解析、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”がすでに分離されており、さらに 2005 年以降にはゲンタマイシン高度耐性株の広まりが確認された。院内感染事例も以前の単一クローンによるものから、多クローン性の事例が増加しつつあり、今後急速に VRE がわが国において広まる可能性が示唆され監視と対策が重要と思われた。［鈴木里和、加藤はる、山根一和、柴田尚宏］

8. 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、感染源感染経路について解析した。また、長期間にわたった院内感染事例における PFGE パターンの多様化およびその解釈に関する検討を実施した。［鈴木里和、山根一和、柴田尚宏］

Ⅱ．*Clostridium difficile* 及び偏性嫌気性細菌に関する研究

1. *Clostridium difficile* 関連下痢症／腸炎症例および院内感染が疑われた事例の解析

解析依頼があった病院からの菌株において、研究ベースにて *C. difficile* 分離菌株の毒素産生能の検討とタイピング解析を行った。糞便検体においては、検体中毒素検出および菌の分離培養、分離菌株の解析検討を行った。［加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子］

2. *Clostridium difficile* における遺伝子配列の決定によるタイピング法の確立とダイレクト・タイピングへの応用

C. difficile の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、その結果を PCR ribotyping によるタイピング結果と比較した。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、分離菌株におけるタイピング結果と比較検討した。［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）］

3．北米、ヨーロッパにおいて分離された最近の *Clostridium difficile* 流行株における８種類の異なるタイピング法による解析比較

米国 Centers for Disease Control and Prevention が主体となって北米、ヨーロッパにおいて分離された最近の流行株を各々の施設で行っているタイピング法で解析し、その結果を比較した。国立感染症研究所では、*slpA* sequence typing によるタイピング解析を行った。最近の流行株 BI/NAP1/027 は、どのタイピング法によっても同一あるいは非常に近縁のタイプになった。［加藤はる、G.E. Killgore（CDC, 米国）ら study group における共同研究］

4．日本の病院入院症例における PCR ribotype 027 *Clostridium difficile* 菌株の分離と同定

2005 年に分離同定された *C. difficile* 菌株が、PCR ribotype 027 であることを同定した。〔加藤はる、R.J. van den Berg、E. Kuijper（Leiden University Medical Center, オランダ）］

5. 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行った。10 例において検討を行ったところ、8 例において糞便検体より *C. difficile* の分離がなされ、2 例で *C. difficile* 関連下痢症／腸炎を発症した。［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）、矢野久子（名古屋市立大学）］

6. *Clostridium perfringens* 臨床分離株の解析

肝膿瘍を伴い敗血症となった症例の血液から分離された *Clostridium perfringens* の解析を 2 病院から依頼され、major toxin および enterotoxin 遺伝子の検出解析を行った。［加藤はる、吉村由美子］

Ⅲ．マイコプラズマに関する研究

1. 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

臨床診断法が確立されていない呼吸器疾患関連マイコプラズマ種（新規発見種を含む）の血清診断法開発に向けた特異抗原の解析を行った。また、呼吸器症状に併発した症例報告や、疫学調査で関連性が示唆されるなどの理由でマイコプラズマ感染との関連が疑われる疾患として、抗リン脂質抗体症候群(APS)、関節リウマチがある。APS については、診断基準の一つである自己抗体産生についてマイコプラズマ感染者血清における抗体価測定を行った結果、軽度ながら抗体価上昇を認めた。関節リウマチについては、ウサギを用いた関節炎等のモデルを作成しており、個体差があるものの個体によっては関節炎形成を認めた。［佐々木裕子、網 康至・須崎百合子（動物管理室）、永田典代（感染病理部）、荒川宜親、佐々木次雄］

2. *Mycoplasma pneumoniae* の挿入変異位置の決定法についての研究

M. pneumoniae は相同組み換えによる方法で特定の遺伝子を破壊することが出来ず、研究に必要な変異株を得るには、トランスポゾン挿入株の集団から目的の遺伝子に挿入が起きた変異株をスクリーニングしなくてはならない。しかし、これまでこのトランスポゾンの挿入位置を決定するのには煩雑な手間がかかっていた。我々はこれまでに、トランスポゾン Tn*4001* を改造して、*M. pneumoniae* ゲノムの内のトランスポゾン挿入位置を簡便に決定する方法を考案した。今年度はこの方法を用いて引き続き変異株コレクションの作製を継続し、変異株ライブラリーの充実を目指している。［堀野敦子、見理 剛、佐々木次雄］

3. *Mycoplasma pneumoniae* の遺伝子学的診断法の検討

M. pneumoniae の遺伝子学的診断法として現在用いられている Nested PCR 法と検討中の LAMP 法について感度、特異性の比較検討を行った。結果として、感度については両者とも *M. pneumoniae* のゲノム DNA で 3 コピーまで検出可能であった。特異性についての検討では、他のマイコプラズマ種には両者とも反応しなかった。簡便性では LAMP 法はすぐれているが、*M. pneumoniae* の型別を行うことはできない。マイコプラズマ肺炎の流行を調査するにあたり、流行中の *M. pneumoniae* の型別は考慮するべき情報であるため、両者の使い分けも視野に入れて臨床検体を用いて検討を行う計画である。［堀野敦子、見理 剛、佐々木次雄、吉野 学（栄研化学）、厚生労働科学研究費補助金・新興・再興感染症事業費］

4. *Mycoplasma pneumoniae* の細胞構造に関する研究

M. pneumoniae の細胞構造を詳しく理解するために細胞内のタンパク質局在の網羅的分析を進めている。この作業を効率よく進めるために *M. pneumoniae* の遺伝子 ORF の Gateway ベクターへのクローン化を進めてきたが、本年度は全 689 個のほぼすべてのクローン化が終了した。また蛍光タンパク質タグを使用したタンパク質の局在分析では、約 150 の遺伝子産物の顕微鏡観察が終了した。［見理 剛、宮田真人（大阪市大）、佐々木裕子、堀野敦子、文部科学研究費補助金・特定領域・応用ゲノム］

Ⅳ．ジフテリア菌、破傷風菌及び細菌毒素に関する研究

1. ジフテリア菌（*Corynebacterium diphtheriae*）C7(-)株ゲノムにおける pathogenicity island の欠失について

C7(-)株は代表的なジフテリア菌の菌株の一つであり、ジフテリア菌の病原性研究の最初期（1950 年代）から現在まで多くの知見が蓄積しているが、そのゲノムに関する知見はいまだ得られていない。そこで我々は comparative genomic hybridization 法（Gene Frontier 社 "Mutation Analysis"）により、C7(-)株ゲノムを、近年明らかにされたジフテリア菌 NCTC13129 株のゲノムと比較した。その結果、NCTC13129 株ゲノムに存在する 13 個の pathogenicity island のほとんどが C7(-)株ゲノムにはみられないことが明らかとなった。［岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

2. ジフテリア菌（*Corynebacterium diphtheriae*）PW8 株ゲノムと NCTC13129 株ゲノムの相違について

PW8 株は、その培養濾液からトキソイドワクチンを製造するために広く使われる、いわゆるワクチン株である。増殖能や病原性などいくつかの点で他のジフテリア菌と異なる性質を持つといわれているが、そのゲノムについて解析が行なわれたことはなかった。そこで我々は前項同様 Gene Frontier 社 "Mutation Analysis"により、PW8 株ゲノムと NCTC13129 株のゲノムの比較を行なった。比較の結果、PW8 株ゲノムに大規模な欠失は認められなかったが、ゲノムのほぼ全域にわたって小規模な配列の相違があることが示唆された。［岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

3. マイクロアレイを用いた毒素と糖鎖の結合解析のための条件検討

多くの病原体・毒素が宿主細胞表面の糖鎖との結合を手がかりとして病原性・毒性を発揮することはよく知られており、本年度が初年度である新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の「糖鎖機能活用技術開発」プロジェクトは、糖鎖を大量生産し病原体・毒素との相互作用を解析して病原体・毒素の検出・除去に役立てることを目的としている。我々の担当である毒素について詳細な解析を行なうためには、毒素と相互作用する糖鎖の有効なスクリーニング法の開発が重要である。糖鎖をスポットしたマイクロアレイデバイスはスクリーニングの道具として有力な候補であるので、タカラバイオ社から糖鎖アレイを購入し、糖鎖との相互作用が既知であるコレラトキシンBサブユニットを用いて条件検討を行なった。メーカー指定の条件を多くの点で変更することが必要であったが､相互作用を検出することができたので、次項（４及び５）の実験を行なった。[上野山敦子（化学技術戦略推進機構)、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親]

4. 糖鎖アレイを用いた破傷風毒素と糖鎖の結合の解析

破傷風は治療しなければ重篤になりやすく致死率が高い疾病である｡抗毒素療法が一般的に行なわれているが、血液製剤に頼らない血液浄化などの治療法も模索されるべきである。そこで糖鎖を用いた毒素除去法（および高感度検出法）を最終的に開発する目的で、その過程に必須な材料としての破傷風毒素を精製・取得するとともに糖鎖との相互作用のスクリーニングを行なった。破傷風菌 HA-47 株について毒素産生能の高いクローンを選択した後 P-II 培地で 6 日間培養し、培養濾液から硫安沈殿と陰イオン交換カラムクロマトグラフィーにより約 20mg の高度精製毒素標品を得た。さらにこの標品について糖鎖アレイを用いた結合解析を行ない、GT_{1b}など複数の糖鎖への結合が確認された。[上野山敦子（化学技術戦略推進機構)、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親]

5. 糖鎖との結合解析のためのボツリヌス毒素精製

ボツリヌス毒素は種々のボツリヌス症の原因となるばかりでなく近年ではバイオテロリズムに利用される可能性が懸念される、極めて強い毒性を持った毒素である。その高感度検出系および除去法の開発は急務と言ってよい。そこで「糖鎖機能活用技術開発」プロジェクトにおいてはボツリヌス毒素をその対象の一つと定めた。プロジェクトにおける検出装置・除去装置開発に必須な材料として、および未知な点の多いボツリヌス毒素と糖鎖との相互作用について新たな知見を得るために、毒素の精製を行なった。からしれんこん症例や近年増加している乳児ボツリヌスなどの原因となっているA型ボツリヌス毒素にまず着目した。A 型ボツリヌス毒素にはアクセサリー蛋白である NTNH および HA との複数の会合状態が知られているが、そのうちでレセプターに関する知見の乏しい M 型（2 分子の NTNH との会合体:12S 毒素）を精製した。ボツリヌス菌 Chiba 株について、毒素を効率良く産生する培養条件を検討した後 3 日間培養し、培養濾液から硫安沈殿と陽イオン交換カラムクロマトグラフィーにより約 16mg の高度精製毒素標品を得た。[上野山敦子（化学技術戦略推進機構)、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親]

6. 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

ガスえそウマ抗毒素製剤の効率化、安全性確保のために、BSE 混入の恐れのある培地原料の変更を検討した結果、現行培地に優る組成は見いだせなかった。また、ウマ免疫方法を検討した結果、従来法である基礎免疫はトキソイド、追加免疫は毒素を用いるよりも、追加免疫もトキソイドを用いることで高力価の血清が得られた。また、抗破傷風毒素ヒト組換えポリクローナル抗体製剤の開発として、過去に改良・確立した EBV-ハイブリドーマ法および KM マウスの利用により計 10 種のモノクローナル抗体を作製し、抗体の組み合わせにより顕著な中和活性の増強を確認した。また、ABEF 型ボツリヌス毒素中和抗体を有するボランティアの成分血より抗体ライブラリーを作製し、パニング法でボツリヌス毒素に結合する多種類の抗体を単離し、中和活性を有する 6 種類の抗体を得た。これら抗体は最低 4 種類のエピトープを認識する抗体群に分類された。また、スクリーニング方法を免疫沈降法に変更して調製したポリクローン抗体はボツリヌス毒素を完全中和した。[高橋元秀、大隈邦夫（化血研)、黒澤良和（藤田保健大)、千葉丈（東京理科大)、向本雅郁、小崎俊司（大阪府立大)、厚生労働省医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業]

Ⅴ．結核等抗酸菌に関する研究

1. 結核菌由来ポリリン酸キナーゼの酵素学的解析

ポリリン酸キナーゼは、生物の生体内において重要な役割を果たしているポリリン酸の生合成反応を触媒する酵素である。真核生物にはポリリン酸キナーゼと一次構造上で相同性を示す配列が存在しないことから、本酵素は新規抗結核薬の標的の１つとして考えられている。本研究では、大腸菌内において結核菌由来ポリリン酸キナーゼを大量発現させ､SDS-PAGE 上で単一バンドになる

まで精製を行ない、その酵素学的諸性質を決定した。その結果、本酵素は ATP よりも ADP に対して親和性が高いことが示された。［森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親］

2. 結核菌由来マクロファージ内発現遺伝子の新規スクリーニング法の検討

結核菌はマクロファージ内での生存が可能であり、その生理機能は病原性と深く関連している。そこで本研究では、結核菌がマクロファージに取り込まれた後に発現が亢進する遺伝子をスクリーニングする新しい手法の検討を行なった。その結果、抗菌薬に対する耐性を指標とするマクロファージ内発現遺伝子群の新規な網羅的選択法を構築し、結核菌がマクロファージ内で生存するために必須な遺伝子を同定することが可能であることを示した。［森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親］

3. 結核菌由来細胞壁合成関連タンパク質の結晶化

結核菌を含む抗酸菌は特徴的な細胞壁構造を有しており、病原性との関連性が指摘されている。そこで本研究では、抗酸菌に特有な細胞壁の合成に関与するタンパク質を新規抗結核薬の標的として捉え、その立体構造解析を進めている。本年度は、結核菌由来タンパク質 Rv2702、Rv2984、Rv3264、Rv3782、及び Rv3801c を大腸菌内で大量発現させる系を確立した。また、昨年度において大量発現系を構築した Rv3799c について、SDS-PAGE 上で単一バンドになるまで精製し結晶化条件のスクリーニングを行なった。［森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親］

4. 非結核性抗酸菌の薬剤耐性メカニズムの研究

非結核性抗酸菌は、様々な抗結核薬に対して自然耐性である。この薬剤耐性メカニズムに関して、薬剤排出ポンプに焦点をあてて解析を行った。これまでに排出に関わる蛋白の遺伝子のクローニング、および遺伝子の欠損株の作製を行った。［朴 貞玉、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親］

5. 抗酸菌の迅速同定法の開発

抗酸菌による感染が疑われる臨床検体からの迅速で正確な菌種同定が求められている。PCR で *Mycobacterium* 属の菌種の同定、特に結核菌と非結核性抗酸菌をより正確に識別する試みを行っている。現在いくつかの菌種特異的な遺伝子配列に着目し、Primer set を検討している。［森茂太郎、柴山恵吾、朴貞玉、荒川宜親］

Ⅵ. 百日咳菌に関する研究

1. 成人層から分離された百日咳菌の解析

わが国の成人層から分離された百日咳菌について、その遺伝子型と病原因子多型（*ptxS1, prn, fim2, fim3, fhaB, tcfA*）を乳幼児分離株のものと比較した。その結果、1）成人分離株は乳幼児分離株と等しい遺伝子型を有する、2）病原因子多型は乳幼児のものとほぼ同一である、ことが判明した。このことから、近年の成人患者増加に、百日咳菌の抗原シフトは関与していないものと考察された。［韓 賢子、蒲地一成、岡田賢司（国立病院機構福岡病院）、鰺坂裕美、佐々木裕子、荒川宜親］

2. カンボジアにおける百日咳流行株の分子疫学的解析

発展途上国で流行する百日咳菌の性質を把握するため、カンボジアで分離された百日咳菌について遺伝子解析を実施した。その結果、1）カンボジアの流行株は欧米の流行株と等しい、2）先進国とは異なり同国ではほぼ単一な流行株が蔓延している、ことが明らかとなった。このことから、開発途上国とわが国では百日咳の流行状況が大きく異なっていることが指摘された。［蒲地一成、鰺坂裕美、韓 賢子、遠田耕平・小島和暢（WHO）、堀内善信、荒川宜親、高橋元秀］

Ⅶ. *Helicobacter pylori* に関する研究

1. *Helicobacter pylori* のアポトーシス誘導蛋白γ-glutamyl transpeptidase の解析

*H. pylori1*γ-glutamyl transpeptidase の酵素学的な characterization を行い、代謝と病原性との関連性を解析した。この蛋白は菌体のグルタミン、グルタチオン代謝に関わる酵素で、そしてその活性が病原性に重要であることが考えられた。［柴山恵吾、荒川宜親］

Ⅷ. 生物学的製剤及び抗生物質製剤に関する研究

1. 百日咳・ジフテリア・破傷風のワクチン、トキソイドに関する研究

(1) *In vitro*百日咳毒素残存活性測定法に関する研究

現在、DPT ワクチンの百日咳毒素残存活性は、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により確認されている。しかし世界的には動物実験に代替しうる試験法の確立が求められている。そこで HPLC を用いる百日咳毒素の ADP-リボシル化活性の測定法及び百日咳毒素の糖鎖に対する結合活性を測定する試験法について NIBSC との共同研究を行った。［落合雅樹、堀内善信、Chun-Ting Yuen（NIBSC）、Dorothy Xing（NIBSC）、Michael J. Corbel（NIBSC）］

(2) モノクローナル抗体を用いたジフテリア及び破傷風トキソイドの抗原定量法（ELISA）の検討

現行のトキソイド抗原量の測定方法は、綿状反応を用いた Lf 価で示されている。測定は、肉眼判定のため、客観性に乏しいために、精度の高い in vitro 法が国際的にも求められている。阪大微生物病研究会のモノクローナル抗体を用いて、ELISA 法が代替法になり得るか検討した。ジフテリア及び破傷風各 6 種類のトキソイドを調べたところ、測定感度は両トキソイドとも 1mL 中に約 Lf /1000（タンパク量で約 2 ng/ml）であり、用量反応線は、1/1000～1/10 Lf/ml の区間で標準品と平行性、直線性が成立し、測定可能であった。純度の高いトキソイドを用いて両測定法で求めた値には 2～5 倍程度、ELISA の方が高い値を示した。現在、各ワクチン製造所において、純度の異なるトキソイドを用いて Lf 測定法と ELISA 法の比較検討を実施している。［小宮貴子、岩城正昭、細菌製剤協会、高橋元秀］

2. ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）に関する研究

(1) ラットを用いた多糖部分の免疫原性試験についての検討

ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）（以下 PRP-TT）の多糖部分の免疫原性評価のためにこれまで用いられて来たマウス、モルモット、ウサギは抗 PRP 抗体応答性が低いか、あるいは個体差が大きいため、最適な試験動物とは言えなかった。最近ラットが抗 PRP 抗体応答性、個体差等の点でこれらの動物より優れていることが報告された。そこでラットを PRP-TT で免疫し、血中抗 PRP 抗体価により免疫原性を評価した。SD ラット雌 4 週齢各群 5 匹を用い、PRP-TT を 0.01、0.02、0.04、0.2、0.5 SHD ずつ 0、4 週に皮下接種した。0、4、6 週に採血し、血清抗 PRP-IgG を ELISA により測定した。2 回免疫により各群 5 匹とも抗 PRP 抗体価が上昇し、0.04 SHD 接種群が最も高い平均抗体価を示した。ラットが PRP-TT の多糖部分の免疫原性試験の試験動物として有用であることが示唆された。［新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、佐々木次雄、荒川宜親］

(2) ラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす DTaP の影響

ヒトにおいて PRP-TT と DTaP を混合して接種すると、同時に別部位に接種した場合に比較して、抗 PRP 抗体応答が低下する場合が知られている。最近ラットにおいても同様の現象が示された。そこで PRP-TT と、国内 3 社製の DTaP を用いてラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす DTaP の影響について検討した。SD ラット雌 4 週齢各群 5 匹に、各ワクチンを 0.04 SHD ずつ混合接種あるいは同時別部位接種した。その他の方法は１）と同様とした。混合接種群、同時別部位接種群ともに PRP-TT 単独接種群との間で、血中抗 PRP 抗体価に有意差を示さなかった。［新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、佐々木次雄、荒川宜親］

(3) DTaP ワクチンへの混合化に関する検討

Hib ワクチンはキャリアー蛋白として T-td を含んでおり、DTaP との混合使用時の T-td の力価への影響が懸念されている。そこで海外で混合使用されている DTaP-IPV（精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン）と Hib ワクチンを輸入し、T-td の力価をマウス法で定量した。DTaP-IPV と Hib ワクチンの T-td の力価はそれぞれ 853 U/mL と 328 U/mL であったが、これらを混合した場合の力価は 3,091 U/mL と DTaP-IPV に比較して 3.6 倍高かった。Hib ワクチン単独の T-td の力価は国産 DTaP のそれと比較しても高い。また、混合により DTaP-IPV の T-td の力価の増強も認められた。［福田靖、岩城正昭、山本明彦、見理 剛、小宮貴子、高橋元秀、*Haemophilus influenzae* type b（Hib）ワクチンの品質安全確保に関する研究事業］

3. ボツリヌス毒素に関する研究

(1) ボツリヌス毒素の品質管理法の改良と中和抗体価の測定

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昨年度確立した。ボツリヌス毒素の生物活性の定量法であるマウス腹腔内投与 LD_{50} 試験法はマウスの生死の判定にもとづいており、その判定には 3 から 4 日かかり、信頼性のある値を得るためには多くの動物数が必要である。今回ラット CMAP 測定法はこの問題点を大きく改善できる可能性が、（1）試験動物数の激減が可能であった、（2）動物の死亡を伴わず与える苦痛も少ない、（3）毒素製剤としての薬理作用である筋弛緩作用を直接測定する、（4）マウス腹腔内投与 LD_{50} 値は離散量に対して、CMAP 試験値は振幅を指標とする連続量であるために統計処理及び得られる情報が多い、（5）マウス LD_{50} 値では直接測定不可能な毒素活性量を 0.01～30U/body の用量区間で連続量として測定可能であることは明らかとなった。［高橋元秀、銀永明弘、原川哲博（化血研）、小崎俊司（大阪府立大）、坂本 崇、梶龍兒（徳島大）、創薬等 HS 総合研究事業］

(2) ボツリヌス毒素活性の動物実験代替法に関する研究

A 型及び E 型ボツリヌス毒素はシナプス前膜に存在する SNAP-25（Synaptosomal- associated Protein of 25 kDa）を特異的に切断する。このエンドペプチダーゼ活性を測定する *in vitro* 毒素活性試験法の試験条件の最適化を NIBSC との共同研究で行った。その結果、これまで NIBSC で用いられた測定条件と比較して、A 型および E 型ボツリヌス毒素でそれぞれ約 50 倍（0.02 mouse LD_{50}/mL）、約 1,000 倍（0.2 mouse LD_{50}/mL）測定感度を向上することができた。［落合雅樹、高橋元秀、Russell G.A. Jones（NIBSC）、Dorothea Sesardic（NIBSC）、Michael J. Corbel（NIBSC）］

(3) ボツリヌス抗毒素力価試験の *in vitro* 化に関する研究

A 型及び E 型ボツリヌス毒素の SNAP-25 に対する特異的なエンドペプチダーゼ活性を利用した抗毒素による中和能を評価することで、抗毒素の力価を測定する可能性について試みた。本法により、毒素型特異的に A 型及び E 型ボツリヌス抗毒素の中和活性を定量的に測定することが可能であった。また本法により測定された抗毒素の中和活性は、動物実験による力価試験で評価された力価との間に良好な相関が認められた。［落合雅樹、高橋元秀、Russell G.A. Jones（NIBSC）、Dorothea Sesardic（NIBSC）、Michael J. Corbel（NIBSC）］

(4) ボツリヌス毒素のレセプター結合活性に関する研究

A 型ボツリヌス毒素のレセプターが SV2 タンパク（Synaptic Vesicle protein）であることが報告された。そこで SV2 ペプチドを用いて A 型ボツリヌス毒素のレセプター結合活性を測定するための *in vitro* 試験法の開発を NIBSC との共同研究により行った。その結果、A 型ボツリヌス毒素の用量依存的なレセプター結合活性の検出が可能な ELISA による測定システムを構築することができた。［落合雅樹、高橋元秀、Russell G.A. Jones（NIBSC）、Dorothea Sesardic（NIBSC）、Michael J. Corbel（NIBSC）］

4. BCG に関する研究

(1) モルモット臓器由来 BCG 増殖抑制因子に関する研究

モルモット脾臓、肺および肝臓には BCG 感作の有無に関わらず生来 BCG 増殖を抑制する活性が存在することを明らかにした。この活性は各臓器細胞の生死とは関連せず、臓器ホモジネートの不溶性画分に存在した。また、卵ベースの小川培地上では抑制活性を示すが、寒天ベースの 7H10 培地上ではコロニーサイズを縮小するもののコロニー出現を完全には抑制しなかった。培地成分の違いによる活性の強弱が培地成分と臓器中の抑制因子との相互作用によるものと推測されたが、詳細な機序は不明である。［持田恵子、荒川宜親］

(2) BCG製剤による副反応報告

原発性免疫不全症児へのBCGワクチン接種で慢性肉芽腫症を発症した１例、BCG接種後50年以上を経て皮膚結核を発症した１例、皮膚結核に対し抗結核薬を用いず一般細菌に対する抗生剤で治療した3症例について報告した。BCGによる結核症は宿主に明らかな免疫不全がない場合は経過観察で十分である場合がほとんどであるが、安易に抗生剤を用いることの危険性については注意を喚起する必要があると思われた。さらに、ワクチン接種時期が生後6ヶ月までと法が改正されたことにより、免疫不全児への不適切なBCG接種による副反応出現増加が危惧され今後も注意深く見守る必要がある。［持田恵子、荒川宜親］

5. インフルエンザ HA ワクチンに関する研究

(1) インフルエンザ HA ワクチンマウス白血球減少試験結果の解析に関する検討

インフルエンザ HA ワクチンの導入以降、かつての全粒子ワクチンで報告されていた重篤な中枢傷害等の報告がなくなったと思われる。従って「これまでに臨床的な使用実績のある毒性範囲の HA ワクチン」である限り現状の安全性に変更は来さない可能性がある。ただし毒性試験であるワクチンマウス白血球減少試験については精度の向上が望まれている。2003-2006 年度の計 21 回の試験結果を解析した結果、ロットの活性値（対数）は不規則な分布となっており、回帰係数の絶対値が大きいほど活性値が大きく評価される傾向がみられた。一方この間の回帰係数はほぼ正規分布しており、平均回帰係数を用いた結果は対数正規分布し、最大値は約 0.198 単位と推定された。現行では最終バルク濃度で試験することとなっているが、より高濃度（約 3 倍程度）で試験することで、理論的にはより高精度の評価が可能と考えられた。［堀内善信］

(2) インフルエンザHAワクチンマウス白血球減少試験の精度改善の検討

インフルエンザウィルスあるいは全粒子ワクチンには末梢白血球、特にリンパ球減少活性のあることが報告されている。仮にこの活性物質の影響をより特異的に検出できれば精度の向上が期待できる。そこで多項目自動血

球分析装置（XT-2000iV：Sysmex 社）を用いてあるワクチンロットの活性を繰り返し 4 回定量し、白血球（WBC）とリンパ球での結果の精度を比較した。またこのとき粒子計測装置（CDA-500：Sysmex 社）を用いて同一血液検体について WBC とリンパ球の簡易測定を行い、比較した。CDA-500 では溶血処理剤添加後の厳密な時間管理が必要であり、アパーチャーチューブの目詰まり等のトラブルで計測不能となることから、実用的には問題があると判断された。XT-2000iV での WBC およびリンパ球のいずれの測定値にも非常に良好な再現性が認められたが、ワクチン投与による影響は必ずしもリンパ球特異的とはいえず、WBC に比べてリンパ球測定による精度向上の可能性は低いことを示唆する結果であった。［堀内善信］

6. エンドトキシンに関する研究

(1) 血液製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

昨年度に引き続き、血液製剤へのエンドトキシン試験適用の可能性について検討した。今年度は、12 種の血液製剤（計 27 ロット）について、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反応干渉因子の有無を確認した。試験したすべての血液製剤で、2-16 倍の希釈で反応干渉作用を受けずにエンドトキシンの測定が可能であった。［落合雅樹、山本明彦、鯵坂裕美、堀内善信、内藤誠之郎・浜口 功・山口一成（血液・安全性研究部）］

(2) アンチトロンビン製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

昨年度の検討でアンチトロンビン製剤は、エンドトキシン試験に対する強い反応阻害作用を有するため、希釈により干渉作用を除去するには感度の点で問題となることが考えられた。そこで反応干渉因子を除去するための前処理法について検討した。その結果、カイネティック比色法では、前処理法を用いることでほぼ 100%のエンドトキシン添加回収率が得られた。［落合雅樹、山本明彦、豊泉裕美、堀内善信、内藤誠之郎・浜口 功・山口一成（血液・安全性研究部）］

(3) 内毒素の *in vitro* 生物活性測定法の応用

ペプチドグルカンやβグルカンはエンドトキシンと比べその生物活性は低いが、エンドトキシンとの共同作用があるため、生物学的製剤での管理の必要性が議論されている。我々は、その生物活性を測定する *in vitro* 試験法の開発を目指した。本年度は、現在エンドトキシン試験を実施している DPT ワクチンや血液製剤での汚染量を定量した。その結果、製造所、製剤の種類に関わりなく一定の汚染が起きていることが明らかになった。［山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、堀内善信］

(4) 血液製剤へのエンドトキシン試験適用に関する研究

昨年に引き続いて、現在発熱試験にて管理されている血液製剤について、エンドトキシン試験の適用の可能性を検討した。特にエンドトキシンとの共同作用について、ヒトモノサイト由来 28SC 細胞における IL-６産生誘導を用いて評価した。その結果、血液製剤のうち若干エンドトキシンへの増強作用を認める製剤が存在した。［山本明彦、落合雅樹、内藤誠之郎・浜口 功・山口一成（血液・安全性研究部）、堀内善信］

(5) 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

昨年に引き続き *E. coli* ファージライブラリーより単離した低分子 LPS 親和性ペプチドについて、その応用を検討した。このペプチドのエンドトキシンの LAL 反応性や生物活性を阻害せずに強い吸着活性を示す性質を利用して、担体に固定して特異的にエンドトキシンを吸着して LAL 測定の可能性を検討した。その結果、エンドトキシンが含まれる溶液の如何に関わらずよくエンドトキシンを吸着した。［山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、鈴木政嗣、松本めぐみ、丹羽　允（協力研究員）、堀内善信］

(6) エンドトキシン試験法の反応干渉因子試験の改良に関する研究

エンドトキシン試験では、試験の成立条件として反応干渉因子試験における添加回収率が 50-200 %でなければならない。日本で特異的エンドトキシン試薬として主に使用されているエンドスペシー（生化学）と ES-III（和光純薬）を用いて、乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合型）（海外市販品）と肺炎球菌ワクチンのエンドトキシン量を予備的に測定した結果、これらのワクチンでは試験法によっては反応促進により添加回収率が 200%に近くになり、希釈液としてリン酸緩衝液を用いることによりこうした反応促進を解除できる場合があった。基本的には現在希釈液として注射用蒸留水を用いることとなっているが、生物製剤の場合他の適当な希釈液の使用を検討する必要があると思われる。［福田靖、堀内善信］

(7) エンドトキシン試験法における解析法がエンドトキ

シン量へ及ぼす影響

現在エンドトキシン試験法での光学的測定法として、局方に比濁法および比色法が収載されている。生物製剤ではこのうちそれぞれカイネティック比濁法あるいはカイネティック比色法が用いられている。カイネティック比濁法ではゲル化により濁度が一定の値を超えるまでの時間を、カイネティック比色法では反応速度を用いて、エンドトキシン量を算出する。この両法の結果は必ずしも一致しない場合がある。この原因が試薬の特性によるのか測定のパラメータによるのかを検討するために、比色法試薬（エンドスペシー：生化学工業）を用いて反応時間法および反応速度法により人血清アルブミン、加熱人血漿たん白、DPT 中のエンドトキシン量を測定し、比較した。その結果、両法で得られたエンドトキシン量に大きな違いは認められなかった。従って比色法試薬を用いる限り時間法と速度法に根本的な差異はないと思われる。［福田 靖、堀内善信］

(8) エンドトキシン試験における測定法の影響評価

カイネティック比濁法試薬である ES-III（和光純薬）を用いて反応時間法および反応速度法によりにより人血清アルブミン、加熱人血漿たん白、DPT 中のエンドトキシン量の算出を試みた。反応時間法はこの試薬の標準的測定法であり、計測可能であったが、反応速度法では用量反応が得られずエンドトキシン量を算出できなかった。最終到達濁度を用いた場合も同様に用量反応が得られなかった。これは、ゲル化の進行により反応液中の分子運動が阻害されるため、濁度上昇が必ずしもエンドトキシン濃度のみに依存したかたちとはならないためと考えられた。こうした比濁法試薬の性状からみて時間法による測定は妥当と思われたが、ゲル化による反応過程への影響がゲル化時間計測にどの程度及んでいるか、再度評価が必要と思われる。［福田 靖、堀内善信］

7. 抗生物質製剤の試験法に関する研究

(1) 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 改正日局において規定改正に反映することができたが、「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、「日本薬局方技術情報（JPTI）2006」及び「図説日本薬局方微生物試験法の手引き」の出版物において、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］

(2) 日本薬局方に規定する試験法の妥当性の確認

厚生労働省医薬食品局長（薬食発第 0428008 号／試験法案、試験品、資料等の提供：ファイザー株式会社 製造部門 品質統括部）から、日本薬局方のスペクチノマイシン塩酸塩の定量法（案）による試験法の妥当性の確認の依頼を受けた。この定量法（案）は「抗生物質の微生物学的力価試験法（円筒平板法）」から「ガスクロマトグラフィーによる試験法」に変更するものであった。試験結果の総合判定として、定量法（案）による試験法は「妥当性が認められる」と確認できた。但し、ガスクロマトグラフィーのシステム適合性（再現性）にコメントを付け加えた。［近田俊文、布施 晃、矢野茂生（血液・安全性研究部）］

レファレンス業務

Ⅰ．薬剤耐性遺伝子関係

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β-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、瀧世志江、甲斐久美子、吉村由美子、山根一和、鈴木里和、近田俊文、荒川宜親］

Ⅱ．ボツリヌス関係

国内のボツリヌス症の実験室内診断法

国内のボツリヌス症の実験室内診断法の充実および技術向上のために、衛生微生物技術協議会のジフテリア百日咳リファレンスセンターにボツリヌスを加え、実験室診断、国内外の情報交換の場を設立することを７月の理事会に提案し了承された。これを受けてボツリヌスを担当する各衛研に昨年試作した診断用ボツリヌスウマ抗毒素血清を配付した。［高橋元秀］

Ⅲ．百日咳関係

1. 百日咳 LAMP 診断キット

百日咳診断の向上を目的に、百日咳レファレンスセンターに百日咳 LAMP 診断キットの配布を行った。［蒲地一成、鯵坂裕美、地方衛生研究所（秋田・東京・千葉・

三重・愛媛・大阪・福岡)］

2. 百日咳菌の同定検査

医療機関からの依頼を受けて、百日咳菌の同定検査を2件実施した。［蒲地一成、鯵坂裕美］

サーベイランス業務

Ⅰ．院内感染対策に関する研究

1. 院内感染対策サーベイランスの実用性･実効性に関する研究

厚生労働省事業・院内感染対策サーベイランス事業において、システムの有用性および有効性向上のための研究を実施している。本年度は、医療現場従事者にとって有用な還元情報の有り方を研究・検討し、情報還元の迅速化、参加医療機関間の比較、院内感染対策上重要な情報への特化を中心に、2007年7月のシステム更新後の還元情報の仕様を決定した。また、医療現場への負担の軽減、サーベイランスシステムの効率化をすすめるため、必須項目の削減をすすめた。［鈴木里和、山根一和、荒川宜親］

2. 中小規模病院における院内感染対策支援のありかたに関する研究

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の支援方法に関する研究･検討を行っている。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。とくにメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の感染対策に関しては、医療機関側の感染対策担当者による自己評価・対策プラン立案などを支援した。実施後 MRSA の分離率が低下しつつあり、その有効性が確認されつつある。［鈴木里和、山根一和］

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）収載の円筒平板法及び比濁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。今年度中にサブロット更新を含め 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。［鈴木里和、山根一和、南條友子、加藤はる、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フィー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フィー法（HPLC）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。今年度中にサブロット更新を含め 7 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、粕谷裕子、南條友子、近田俊文］

3. 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（シロップ用セファドロキシル：3 ロット／セファドロキシルカプセル：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（注射用スルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウム：10 ロット）について力価試験、確認試験（IR 及び NMR 解析)、エンドトキシン試験を行い、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、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子、細菌第二部第五室、血液・安全性研究部第三室］

Ⅱ．BCG、ツベルクリンの品質管理に関する研究

1. BCGの菌量測定試験に用いる濁度計の機種変更

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、機種をGEヘルスケアバイオサイエンスNovaspec Plusに更新し、validationを行ってSOPを変更した。［柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子］

2. BCG 製剤の新しい力価試験方法の検討

BCGの培養に用いる培地を小川培地よりコロニー計測が行いやすい7H10平板に変更し、そして力価の基準値を現行の逐次検定方式により決定する方式を改め、より適切な基準値の設定方法に変更することについて検討を始めた。［柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子］

3. 有毒結核菌否定試験

平成 18 年度は BCG ワクチン 8 ロット、膀胱用 BCG（日本株）4 ロット、膀胱用 BCG（イムシスト株）5 ロットについて有毒結核菌否定試験を行い、すべて合格判定であった。ただし、膀胱用 BCG（日本株）のロット B037 については、バイアル蓋の巻き締めが不十分で内容物が容易に漏れ出る状態であったため再試験を行った。

初回提出および再提出バルクについての剖検時平均ツ反が 20.7mm vs 18.8mm と危険率 5%で有意差が認められたものの、剖検時所見その他については特に違いを認めなかった。日本株 BCG においては自家試験と国家検定の間で剖検時ツ反（自家試験＞検定)、体重増加および剖検時脾重量（自家試験＜検定）の 3 項目で統計的有意差が認められた。イムシスト株においては、体重増加および剖検時脾重量(自家試験＜検定)に有意差が認められた。［持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子、柴山恵吾］

4. ツベルクリン力価試験

平成 18 年度中に 7 ロットについて力価試験を施行し、全ロット合格であった。ただし、一般診断用（1 μg）のロット P486 については再試験判定となり、再提出試験品 20 本について再試験し合格となった。本年度当初より PPD 力価試験判定法を一部変更し、「判定は蛍光灯直下で行う」、「判定者は椅子に座りモルモットを腿の上に水平に固定する」、という条件を追加した。さらに、平成 19 年 3 月以降の判定では、「モルモットにネンブタールを投与し麻酔下に判定する」という改良を加え、測定再現性が向上し判定者間の差が縮小した。自家試験および国家検定の平均値は 2.0±1.4 vs 1.1±4.8 で有意差は認められなかった。[持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子、柴山恵吾］

Ⅲ．標準品の整備並びに品質管理に関する業務研究

1. 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 15 改正日局抗生物質標準品（全 129 品目収載）は 127 品目が新規及び更新ロットとして整備された。日本薬局方抗生物質標準品の在庫（ロット名）とその準備状況についての諸情報は、厚生労働省審査管理課、製薬企業団体（東京医薬品工業協会、大阪医薬品協会、日本抗生物質学術協議会）にも順次提供した。[近田俊文、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、加藤はる、南條友子、粕谷裕子］

2. WHO の国際標準品を製造･保管･交付する英国 NIBSC との共同作業

WHO の国際標準品を製造･保管･交付する英国 NIBSC との共同作業として、次期国際候補品の沈降ジフテリアトキソイドおよび沈降破傷風トキソイドを国内ワクチン製造所と協力して作製する作業を始めた。なお、併行して両トキソイドの国内標準品の作製も実施中である（平成 18 年 7 月)。［高橋元秀、細菌製剤協会］

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 に対する Lot 3 候補品標準化のための標定を、共同標定プロトコールに従い感染研及び国内製造所（計６施設）で実施した。その結果、Lot 3 候補品は 1,145 BWDU/vial、35 LPU/vial、45 HSU/vial と評価された。[落合雅樹、蒲地一成、福田靖、山本明彦、片岡紀代、鯵坂裕美、堀内善信］

4. 日局エンドトキシン 10000 標準品 Lot 6 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 10000 標準品（Lot 6）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 10000 標準品 Lot 6 候補品の単位は 23,500 EU/vial と評価された。[堀内善信、山本明彦、落合雅樹、福田 靖、鯵坂裕美、片岡紀代、村井敏美・中川ゆかり（日本公定書協会)］

Ⅳ．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

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）：32 ロット
沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド：7 ロット
沈降破傷風トキソイド：10 ロット
成人用沈降ジフテリアトキソイド：１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：12 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：8 ロット
乾燥まむしウマ抗毒素：1 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン：5 ロット
乾燥 BCG ワクチン（最終製品）80mg：2 ロット
乾燥 BCG ワクチン（最終製品）40mg：2 ロット
乾燥 BCG ワクチン（最終製品）12mg：7 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用（日本株）（最終製品）80mg：2 ロット

乾燥 BCG 膀胱内用（日本株）（最終製品）40mg：2 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）：8 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用（日本株）：4 ロット
精製ツベルクリン一般診断用（1μg）：1 ロット
精製ツベルクリン一般診断用（一人用）：6 ロット
インフルエンザ HA ワクチン：74 ロット
コレラワクチン：1 ロット
人血清アルブミン：355 ロット
加熱人血漿たん白：39 ロット
肺炎球菌ワクチン：5 ロット

2. 国家検査（行政検査）の実績
(1) 薬剤耐性菌関係
ｱ)埼玉県から､多剤耐性緑膿菌の院内感染の疑いのため、多剤耐性緑膿菌（合計 152 検体）のパルスフィールドゲル電気泳動による制限酵素地図（PFGE 型）検査を実施し、タイピング解析結果を報告した。[細菌行政検査：第 67056 号、第 67087 号、第 67116 号]

(2) ジフテリア関係
ｱ) 平成 18 年 7 月 20 日付けで、神奈川県衛生研究所から菌株（羊血液寒天培地純培養 1 枚）と患者血清 2 本（平成 18 年 7 月 14 日採血と平成 18 年 7 月 18 日採血）を受領し、菌株の同定試験並びに菌株のジフテリア毒素検出と血中ジフテリア抗毒素価測定の依頼を受けた。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。また、血中ジフテリア抗毒素価は、7 月 14 日血清が 0.0034 IU/ml 未満、7 月 18 日血清は 0.617 IU/ml であった。[行政検査：第 67045 号]

(3) ボツリヌス関係
ｱ) 平成 18 年 9 月に宮城県で発生した乳児ボツリヌス症に関して、宮城県知事および仙台市長名で行政検査の依頼を受けた。一連の検査で、患者便から A 型ボツリヌス毒素と A 型毒素産生性ボツリヌス菌を検出した。また、患者宅で使用されていた粉ミルクおよび井戸水から A 型毒素産生性ボツリヌス菌を検出した。患者便の検査は 9 月 27 日から 12 月 19 日までの間に採取された 4 件については A 型ボツリヌス毒素が陽性だったが、翌年 1 月 29 日に採取された便では毒素が陰性化した。[行政検査：第 67074 号、第 67075 号、他 5 件]

(4) 破傷風関係
ｱ)平成 18 年 7 月 5 日付けで千葉県環境保健研究所より、患者血清及び臨床分離菌の破傷風菌の分離同定、毒素及び抗体の検出の依頼を受けた。依頼菌は嫌気培養と染色試験及び破傷風毒素検出試験の結果、破傷風菌と確認できた。患者血清 0.5mL 中には破傷風毒素は検出されなかった。[行政検査：第 67039 号]
ｲ) 平成 19 年 3 月 29 日千葉市環境保健研究所より、患者血清の破傷風毒素及び抗体検出の依頼を受けた。患者血清 0.4mL 中には破傷風毒素を検出されなかった。また KPA 法にて抗破傷風抗体価を測定したが、抗体は認められなかった。[行政検査：第 77003 号]

(5) BCG 関係
ｱ) 依頼検査：ユニセフ向け BCG ワクチン（皮内用 0.5mg）：4 ロット
ｲ) 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

3. 収去検査の実績
(1) 抗生物質医薬品
経口剤（シロップ用セファドロキシル）：3 ロット
経口剤（セファドロキシルカプセル）：1 ロット
注射剤（注射用スルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウム）：10 ロット

4. 抜き取り検査等実績
(1) 無菌試験：8 ロット

5. 標準品、参照品等の作成状況（交付・分与の実績）
(1) 交付実績
日本薬局方抗生物質標準品（88 品目）：計 734 本
日本薬局方外医薬品規格標準品（2 品目）：計 3 本
抗生物質試験用菌株（1 品目）：計 1 本
標準ジフテリアトキソイド：9 本
標準沈降ジフテリアトキソイド：53 本
参照沈降ジフテリアトキソイド（混合ワクチン）：73 本
標準ジフテリア抗毒素：5 本
参照ジフテリア抗毒素（フロキュラシオン用）：32 本
シック試験毒素（動物用）：3 本
ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）：11 本
標準破傷風トキソイド：13 本
標準沈降破傷風トキソイド：64 本
参照沈降破傷風トキソイド（混合ワクチン用）：38 本
標準破傷風抗毒素：1 本
標準抗破傷風人免疫グロブリン：2 本

参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）：52 本
破傷風試験毒素：23 本
標準はぶ抗毒素：5 本
はぶ試験毒素（出血Ⅰ）：5 本
はぶ試験毒素（出血Ⅱ）：5 本
はぶ試験毒素（致死）：5 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：4 本
標準ボツリヌス E 型抗毒素：3 本
標準ボツリヌス F 型抗毒素：3 本
標準ガスえそ抗毒素 *C. perfringens* Type A：3 本
標準ガスえそ抗毒素 *C. septicum*：3 本
標準ガスえそ抗毒素 *C. oedematiens*：6 本
ガスえそ試験毒素 *C. perfringens* Type A：3 本
ガスえそ試験毒素 *C. septicum*：3 本
ガスえそ試験毒素 *C. oedematiens*：3 本
標準精製ツベルクリン：30 本
BCG Tokyo172-1：10 本
標準百日せきワクチン：59 本
参照百日せきワクチン（毒性試験用）：101 本
参照インフルエンザ HA ワクチン（マウス白血球数減少試験用）：216 本

(2) 分与実績
標準ジフテリア抗毒素：山口県環境保健研究センター：2 本
ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）：山口県環境保健研究センター：2 本
Corynebacterium ulcerans（ジフテリア毒素産生株）：大阪府立大学大学院農学生命科学研究科：1 本

6. 依頼試験等
(1) ジフテリア関係
ｱ) 平成 18 年 9 月 29 日付けで、新潟県保健環境科学研究所から、ジフテリアの疑いのある菌株の解析依頼検査を受けた。菌株（羊血液寒天培地純培養、1 枚）と患者血清 2 本（平成 18 年 9 月 15 日採血と平成 18 年 9 月 22 日採血）を受領した。受理した菌株は、*Actinomyces odontolyticus* であった。血中ジフテリア抗毒素価は、2 本とも 0.0034 IU/ml 未満であった。また、血中のジフテリア毒素も検出されなかった。

(2) 破傷風関係
ｱ)平成 18 年 7 月 7 日付けで沖縄県衛生環境研究所より、患者血清中の破傷風毒素及び抗体の検出の依頼を受けた。患者血清中には破傷風毒素及び抗破傷風抗体は検出されなかった。（共同研究）
ｲ) 平成 18 年 7 月 18 日倉敷中央病院細菌検査室より、破傷風疑いの患者より分離された菌について毒素産生能及び 16s rRNA 遺伝子による簡易同定の依頼を受けた。検査の結果、分離菌の破傷風毒素産生能は認められず、*Clostridium subterminale* あるいは類縁菌と推定された。（共同研究）
ｳ) 平成 18 年 7 月 25 日都立広尾病院救命センターより、破傷風疑いの患者血清からの破傷風毒素及び抗体の検出と受傷部の「かさぶた」からの菌分離の依頼を受けた。患者血清からは破傷風毒素を検出できなかった。「かさぶた」から分離した菌は、嫌気培養と染色試験及び破傷風毒素検出試験の結果、破傷風菌と確認できた。（共同研究）
ｴ) 平成 18 年 7 月 27 日大分大学医学部第三内科より、患者血清の抗体検出の依頼を受けた。患者血清を KPA 法にて抗破傷風抗体価を測定したが、抗体は認められなかった。（共同研究）
ｵ) 平成 18 年 11 月 13 日長野県須坂病院より、患者血清の破傷風毒素及び抗体検出の依頼を受けた。患者血清 0.8mL 中には破傷風毒素を検出されなかった。また KPA 法にて抗破傷風抗体価を測定したが、抗体は認められなかった。（共同研究）

国際協力関係業務

Ⅰ．研修関連

1. JICA の依頼により、薬剤耐性病原体の実験室診断コース参加の海外研修生に VRE、*Clostridium difficile*、β-ラクタマーゼ産生菌、16S rRNA メチラーゼ産生株、耐性菌アウトブレークにおける疫学的対応に関する講義を行った。（平成 18 年 12 月）。［加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、荒川宜親］

2. 台湾行政院衛生署薬物食品検験局に招聘され、抗毒素製剤の製造と品質管理の現状（高橋）および生物学的製剤の無菌性保証の国際潮流（佐々木）について講演し、意見交換をおこなった。（平成 18 年 9 月）。［高橋元秀、佐々木次雄］

3. 中国蘭州生物製品研究所・謝貴林所長ら 4 名の来所に際して、国内ワクチンおよび抗毒素製剤の需給と品質管理に関する協議をおこなった（平成 18 年 11 月）。［高橋元秀］

4. JICA の依頼により、ワクチン品質管理技術コース参

加の研修生（海外 4 名）にワクチンの品質管理について講義した（平成 18 年 11 月)。[高橋元秀、堀内善信、佐々木次雄、荒川宜親]

5. ベトナム NICVB の研修生に対し、百日咳ワクチンの品質管理およびエンドトキシン試験について実習を行った（平成 19 年 1 月)。[蒲地一成、福田 靖、鯵坂裕美、堀内善信]

6. 百日咳疫学および実験室診断への支援
(1) カンボジア国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について実験室内診断の協力を行った。臨床検体 447 件中、菌培養検査では 2 件、遺伝子検査では 86 件が陽性となり、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（平成 18 年 4 月～19 年 3 月)。[鯵坂裕美、蒲地一成]

(2) パプアニューギニア国に対する百日咳病原体診断の協力：パプアニューギニアで大規模な百日咳疑いのアウトブレークが発生し、WPRO からの要請を受けて百日咳病原体診断（菌培養、遺伝子検査）の協力を行った（平成 18 年 7～10 月)。[蒲地一成、鯵坂裕美]

7. JICA の依頼により、Sterility for Biological Products の研修を行った（平成 18 年 11 月)。[佐々木裕子]

Ⅱ．WHO 関連

1．GHSAG（Global Health Security Action Group）は G7+Mexico で組織され、特にバイオテロ対策を中心にして活動している。ボツリヌスに対する国際協調体制会議がベルリンで開催され出席した（平成 18 年 1 月)。[高橋元秀]

2．WHO 主催、12th International Conference of Drug Regulatory Authorities の Pre-meeting として抗毒素製剤の製造と品質管理会議が韓国ソウル市で開催され、WHO からの発表依頼により参加･出席した(平成 19 年 3 月)。[高橋元秀]

3. ワクチン安定性評価 WHO ワーキンググループ会議（平成 18 年 6 月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信]

4. DPT ワクチン試験 WHO 実験室マニュアルワーキンググループ会議（平成 18 年 7 月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信、高橋元秀]

5. 標準品安定性評価 WHO ワーキンググループ会議（平成 18 年 11 月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信]

6. 二次標準品の作成および標準化マニュアル WHO ワーキンググループ会議（平成 19 年 1 月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信]

7. DPT ワクチン試験 WHO 実験室マニュアルワーキンググループ会議（平成 19 年 1 月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信]

8. 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した。[堀内善信、荒川宜親、各室]

研修業務

Ⅰ．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、主に病院で臨床細菌検査室に従事する臨床検査技師を対象に実習生、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）の鑑別のためで、ディスク拡散法による鑑別、PCR による耐性遺伝子の検出、パルスフィールド電気泳動によるタイピングなどを行った。臨床現場での薬剤耐性菌の早期検出や院内感染対策に役立つものと期待される。[柴田尚宏、荒川宜親]

Ⅱ．*Clostridium difficile* に関する研修

検査技師、医師、看護師を対象として、依頼に応じて *Clostridium difficile* 分離培養、タイピング、および PCR や loop-mediated isothermal amplification（LAMP）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]

Ⅲ．ジフテリアに関する研修

第 27 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、平成 18 年度の活動報告をした(札幌市：平成 18 年 6 月 29 日)。[岩城正昭、高橋元秀]

Ⅳ．マイコプラズマに関する研修

平成 18 年度特定研修新興再興感染症技術研修を行っ

た。（国立感染症研究所村山庁舎：平成 18 年 10 月）［見理 剛］

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（日局）の抗生物質委員会及び標準品委員会に参加し、第 15 改正日局の収載案及び改正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．日本薬局方に関する活動

生物試験法委員会に 5 回、製薬用水委員会に 5 回出席し、第 15 改正日本薬局方第１追補収載案件について審議した。また微生物限度試験法並びに無菌試験法の国際調和にあたった。［佐々木次雄、他生物試験法委員会・製薬用水委員会］

4．ISO/TC198 に関する活動

ヘルスケア製品の滅菌及び滅菌保証に関するワーキンググループ（WG）として、WG3（湿熱滅菌）、WG8（微生物試験法）、WG9（無菌操作法）の活動に参加し、国際規格の作成にあたった。［佐々木次雄、他関係 WG 委員］

5．無菌医薬品の製造に関する指針作成

平成 18 年 7 月 4 日に監視指導･麻薬対策課より地方庁に発出された「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」に続いて、「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」を完成させた（本指針は、平成 19 年 6 月 4 日に監視指導・麻薬対策課より地方庁に発出された）。無菌操作法及び最終滅菌法の製造指針が完成したことにより、無菌医薬品製造者及び薬事監視員にとっても一定のガイドラインとして受け止めることができる。［佐々木次雄、佐々木裕子、他指針作成委員］

6. 医薬品医療機器総合機構からヘモフィルスｂ型ワクチン（破傷風トキソイド結合型）の品質に関する専門委員に任命され、専門家協議や基準作成に関った。［佐々木次雄］

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．薬剤耐性菌等についての対応

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。［荒川宜親］

2．*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

1) Wachino, J., Yamane, K., Kimura, K., Shibata, N., Suzuki, S., Ike, Y. and Arakawa, Y.: Mode of transposition and expression of 16S rRNA methyltransferase gene rmtC accompanied by ISEcp1. Antimicrob. Agents Chemother., 50(9): 3212-5, 2006.

2) Sasaki Y.: Chapter 10 "Mycoplasma", p. 175-190, In V. L. Chan, P. M. Sherman and B. Bourke (eds.) "Bacterial Genomes and infectious Diseases", Humana Press, Totowa, NJ, 2006

3) Mizutani T., Fukushi S., Ishii K., Sasaki Y., Kenri T., Saijyo M., Kanaji Y., Shirota K., Kurane I., and Morikawa S.: Mechanisms of establishment of persistent SARS-CoV-infected cells. BBRC, 346: 261-265, 2006

4) Kato H., Ito Y., van den Berg RJ., Kuijper EJ., and Arakawa Y.: First isolation of *Clostridium difficile* 027 in Japan. Eurosueveillance 2007 Jan 11;12(1)（http:// www. eurosurveillance.org/ ew/ 2007/ 070111. asp）

5) Phan L.T. Huong, Ngo T. Thi, Dang D. Anh, Vu T.T. Huong, Le N. Minh, Tran Q. Canh, Matsuoka M., Kamachi K., Yamazaki T., Arakawa Y. and Sasaki T.: Genetic and phenotypic characterization of *Haemophilus influenzae* type b isolated from children with meningitis and their family members in Vietnam. Jpn. J. Infect. Dis. 59: 111-116, 2006.

6) Yamazaki T., Narita M., Sasaki N., Kenri T., Arakawa Y., and Sasaki T.: Comparison of PCR for sputum samples obtained by induced cough and serological tests for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children. Clin. Vaccine Immunol., 13: 708-710, 2006.

7) Iwaki, M., Horiuchi, Y., Komiya, T., Fukuda, T., Arakawa, Y. and Takahashi, M.: Toxoid flocculation assay by laser light-scattering. J. Immunol. Methods, 318, 138-146 (2007).
8) Kakita M, Takahashi T, Komiya T, Iba Y, Tsuji T, Kurosawa Y and Takahashi, M.: Isolation of A Human Monoclonal Antibody with Strong Neutralizing Activity against Diphtheria Toxin. Infect. Immun. 74, 3682-3683 (2006)
9) Kamachi K, Toyoizumi-Ajisaka H, Toda K, Soeung SC, Sarath S, Nareth Y, Horiuchi Y, Kojima K, Takahashi M, Arakawa Y.: Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. J. Clin. Microbiol. 44(5): 1899-902 (2006)
10) Shibayama K., Nagasawa M., Ando T., Minami M., Wachino J., Suzuki S., Arakawa Y.: Usefulness of Adult Bovine Serum for *Helicobacter pylori* Culture Media. J. Clin. Microbiol. 44(11), 4255-4257, 2006.
11) Shibayama K., Mochida K., Yagi T., Mori S., Arakawa Y., Yamamoto S.: Quantification of two variant strains contained in freeze-dried Japanese BCG vaccine preparation by real-time PCR. Biologicals 35, 139-143, 2007.
12) Kamachi K, Arakawa Y.: Development of safer pertussis DNA vaccine expressing non-toxic C180 polypeptide of pertussis toxin S1 subunit. Vaccine 22:1000-6 (2007).
13) Kamachi K, Sota M, Tamai Y, Nagata N, Konda T, Inoue T, Top EM, Arakawa Y.: Plasmid pBP136 from *Bordetella pertussis* represents an ancestral form of IncP-1beta plasmids without accessory mobile elements. Microbiology 152:3477-84 (2006).
14) Ochiai M, Yamamoto A, Kataoka M, Toyoizumi H, Arakawa Y, Horiuchi Y.: Highly sensitive histamine-sensitization test for residual activity of pertussis toxin in acellular pertussis vaccine. Biologicals. 2007 Mar 14.
15) Tanimoto K, Nomura T, Maruyama H, Tomita H, Shibata N, Arakawa Y, Ike Y.: First VanD-Type vancomycin-resistant Enterococcus raffinosus isolate. Antimicrob. Agents Chemother. 2006 Nov;50(11):3966-7.
16) Kurosaki H, Yamaguchi Y, Yasuzawa H, Jin W, Yamagata Y, Arakawa Y.: Probing, inhibition, and crystallographic characterization of metallo-β-lactamase (IMP-1) with fluorescent agents containing dansyl and thiol groups. Chem.MedChem. 2006 Sep; 1(9):969-72
17) Park YJ, Lee S, Yu JK, Woo GJ, Lee K, Arakawa Y.: Co-production of 16S rRNA methylases and extended-spectrum beta-lactamases in AmpC-producing Enterobacter cloacae, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens* in Korea. J. Antimicrob. Chemother. 2006 Oct;58(4):907-8.
18) Lee H, Yong D, Yum JH, Roh KH, Lee K, Yamane K, Arakawa Y, Chong Y.: Dissemination of 16S rRNA methylase-mediated highly amikacin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in Korea. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2006 Nov; 56(3):305-12
19) Nagano N, Oana S, Nagano Y, Arakawa Y.: A severe *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection in a child related to a pet turtle, Trachemys scripta elegans. Jpn. J. Infect. Dis. 2006 Apr; 59(2):132-4.
20) Iwaki M, Arakawa Y. Transformation of Acinetobacter sp. BD413 with DNA from commercially available genetically modified potato and papaya. Lett. Appl. Microbiol. 2006 Aug;43(2):215-21.

２．和文発表

1) 小島禎、柴田尚宏、池戸正成、荒川宜親：Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法によるメタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子の迅速・簡易の検討、感染症学雑誌、80(4), 405-412, 2006.
2) 小寺聡、中村朗、大江健二、古川恵一、柴田尚宏、荒川宜親：*Erysipelothrix rhusiopathiae* による感染性心内膜炎の一例、感染症学雑誌、80(4), 413-417, 2006.
3) 柴田尚宏、荒川宜親：「技術講座，第２回，MDRP の耐性機構と判別法」、Medical Technology、Vol.35, No.1, 73-79, 2007.
4) 辻泰弘、松尾啓左、大久保和昭、羽田野和彦、佐道紳一、碇秀樹、神村英利、山根一和、荒川宜親：Linezolid 耐性 *Enterococcus faecium* が検出された難治性後腹膜膿瘍の 1 症例、医療薬学、33(2), 125-131, 2006.
5) 鈴木里和：マクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* 患者における病態、病原微生物検出情報、Vol.28, 41-42, 2007.
6) 近田俊文、加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、南條友子、荒川宜親：抗生物質の微生物学的力価試験法の改良に関する研究、医薬品研究、37(5), 301-307, 2006.
7) 近田俊文：「抗生物質の微生物学的力価試験法」、日本薬局方技術情報（JPTI）2006（財団法人日本公定書協会編）、153-161, じほう、2006 年 9 月.
8) 近田俊文、加藤はる、鈴木里和：「抗生物質の微生物学的力価試験法」、第 15 改正図説日本薬局方微生物試験法の手引き（坂上吉一・城野久美子監修）、36-45, 文教

出版、2006 年 9 月.
9) 近田俊文：第十五改正日本薬局方解説書、注及び解説「抗生物質の微生物学的力価試験法」「沈降精製百日せきワクチン」「沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン」、日本薬局方解説書編集委員会編、廣川書店、2006 年 6 月.
10) 佐々木裕子：ストレス存在下での *M. penetrans* 蛋白プロファイルにおける主要抗原リポ蛋白 P35 の解析、日本マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、p. 32-34, 2006.
11) 堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、荒川宜親、岡村 登、佐々木次雄：*M. pneumoniae* のゲノムに挿入されたトランスポゾン Tn*4001* の効率のよい位置決定法.日本マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、p. 6-7, 2006.
12) 見理 剛：*M. pneumoniae* の細胞付着性にかかわる分子群、マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、p. 35-36, 2006
13) 加藤はる：*Clostridium difficile* の toxin B 検出法、検査と技術、34(9):862-864. 2006.
14) 赤羽貴行、保坂力、村山範行、加藤はる、小穴こず枝、川上由行：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症／腸炎検査の toxin A 迅速診断キット「ユニクイック」の評価、日本赤十字社臨床検査技師会会誌、40(1):16-19,2006.
15) 加藤はる：特集：変わりつつある感染対策、院内感染としての *Clostridium difficile* 感染症、最新医学 62(2):228-236, 2007.
16) 加藤秀章、中村誠、中村敦、加藤はる：迅速法で陰性であったが培養法で陽性となり診断できた *Clostridium diffiicle* 関連下痢症の 1 例、内科 99(2): 375-377, 2007.
17) 荒川宜親、渡辺治雄監修、佐々木次雄編集、図説「呼吸器系細菌感染症：疫学・診断・治療」、じほう、p.1-246、2006 年 11 月.
18) 佐々木次雄：医療関係マネジメントシステム、ISO/TC198（ヘルスケア製品の滅菌）、JIS ハンドブック 2006、日本規格協会、p. 869-876, 2006.
19) 佐々木次雄：無菌医薬品の品質保証と国際調和、Pharm Tech Japan 22 (12): 9-17, 2006.
20) 佐々木次雄：超ろ過法で製した注射用水への微生物検出法の適用と今後の課題、Pharm Tech Japan、23: 23-32, 2007.
21) 佐々木次雄：ISO/TC198 活動を通じて無菌医薬品について考えること、製剤機械技術研究会誌、16: 21-25, 2007.
22) 佐々木次雄：北本賞受賞講演「過去 30 年間のマイコプラズマ研究を振り返って」、日本マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、20-25, 2006.
23) 佐々木次雄：*M. pneumoniae* の検出・薬剤耐性遺伝子検出における PCR の有用性について、日本マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、64-66, 2006.
24) 佐々木次雄：無菌試験法、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、B499-B510, 2006.
25) 佐々木次雄：遺伝子解析による微生物の迅速同定法、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F31-F37, 2006.
26) 佐々木次雄：最終滅菌医薬品の無菌性保証、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F93-F107, 2006.
27) 佐々木次雄：培地充てん試験法、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F263-F275, 2006.
28) 佐々木次雄：最終滅菌法及び滅菌指標体、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F107-F131, 2006.
29) 佐々木次雄：非無菌医薬品の微生物学的品質特性、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F291-F300, 2006.
30) 佐々木次雄：無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F353-F369, 2006.
31) 佐々木次雄：無菌試験法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI ）、じほう p. 173-177, 2006.
32) 佐々木次雄：遺伝子解析による微生物の迅速同定法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI ）、じほう p. 281-382, 2006.
33) 佐々木次雄：最終滅菌医薬品の無菌性保証、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI ）、じほう p. 281-282, 2006.
34) 佐々木次雄：培地充てん試験法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI ）、じほう p. 305-308, 2006.
35) 佐々木次雄：微生物殺滅法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI ）、じほう p. 308-316, 2006.
36) 佐々木次雄：非無菌医薬品の微生物学的品質特性、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI ）、じほう p. 317-319, 2006.
37) 佐々木次雄：保存効力試験法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI ）、じほう p. 331-332, 2006.
38) 佐々木次雄：無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI ）、じほう p. 332-337, 2006.
39) Takahashi M.：[Diphtheria] Nippon Rinsho. 2007 Mar 28;65 Suppl 3:78-83.
40) Kamachi K, Endoh M, Komiya T, Toyoizumi H, Yatsuyanagi J, Saito S, Uchimura M, Sugiyama A, Murakami K, Horikawa K, Yanagawa Y, Horiuchi Y, Arakawa Y, Morozumi S, Takahashi M.：[The risk of pertussis and diphtheria infections among pediatric healthcare workers in

Japan] Kansenshogaku Zasshi. 2007 Mar; 81(2): 155-61

41) 落合雅樹：エンドトキシン試験法、第 15 改正・図説日本薬局方微生物試験法の手引き、文教出版、25-35, 2006.

42) 堀内善信、片岡紀代、山本明彦、落合雅樹、永田典代、豊泉裕美、多屋馨子、岡部信彦、高橋元秀、倉田毅：DPT 予防接種とワクチンを巡る現状と問題点、臨床とウイルス、34 (4), 306-318, 2006.

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1) Yamane, K., Wachino, J., Kimura, K., Suzuki, S., Shibata, N. and Arakawa, Y.: Novel Plasmid-Mediated Fluoroquinolon Efflux Pump, Qep, Identified in *Escherichia coli*. 46th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2006,San Francisco, USA.

2) Suzuki, S., Kato, H., Yamane, K., Kamachi, K., Shibata, N., Wachino, J. and Arakawa Y.: A Possible Pre-Epidemic Status: Characteristics of Outbreak Related； Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* in Japan. 46th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2006,San Francisco, USA.

3) Sasaki Y, Kawakami T, Ouchi-Shinkai F, Yamakawa Y, Arakawa Y and Sasaki T: Proteomics of *Mycoplasma penetrans* by two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry. 16th Congress of International Organization for Mycopasmology, Cambridge, UK, 8-14th July 2006

4) Kenri,T., Yamazaki,T., Okazaki,N., Narita,M., Arakawa,Y., and Sasaki,T.: Differential hemadsorption inhibitory activity of sera from patients infected with two *Mycoplasma pneumoniae* groups. 16th International Congress of International Organization for Mycopasmology (IOM), St. Jones college, Cambridge, UK., July 2006.

5) Nakane, D., Adan-Kubo, J., Kenri, T., Miyata, M.: Isolation and Characterization of P1 adhesin involved in gliding motility of *Mycoplasma pneumonia*e. 16th International Congress of International Organization for Mycopasmology (IOM), St. Jones college, Cambridge, UK., July 2006.

6) Pituch H., van Leeuven W., Wultanska D., Obuch-Woszczatynski P., Kato H.: Meisel-Mikolajczyk F., Luczak M., van Belkem A. AFLP analysis of international *Clostridium difficile* strains of different toxin type reveals major toxin-dependent clonal clusters. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Nice, 2006 April

7) Kenri,T., Seto, S., Horino, A., Sasaki, Y., Arakawa, Y., Sasaki, T., Nakane, D. and Miyata, M.: Protein localization at the attachment organelle region of *Mycoplasma pneumoniae* visualized by fluorescent protein tagging. BLAST IX (Bacterial Locomotion and Signal Transduction IX), Laughlin, NV, USA, January 2007.

8) Ito Y., Matsushita T., Takahashi Y., Nakamura T., Hayashi K., Morita E., Kato H. Study on *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a hospital in Japan. 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Munch, 2007 March

9) Takako Komiya, Shin-ichi Nureki, Shoji Asakura, Masaaki Iwaki, Yoshichika Arakawa and Motohide Takahashi: Recent Corynebacterium ulcerans cases in Japan. Ninth ELWGD & Diphtheria Surveillance Network (DIPNET), October 2006, Athens (Greece).

10) Yasushi Torii, Motohide Takahashi, Setsuji Ishida, Takashi Sakamoto, Tetsuhiro Harakawa, Akihiro Ginnaga, Shunji Kozaki, Ryuji Kaji: Quantification Of The Activity Causing Flaccid Paralysis Of Botulinum Neurotoxin By Measuring The Compound Muscle Action Potential (CMAP) . Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods. 米国メリーランド州, シルバースプリング, 平成 18 年 11 月.

11) 坂本崇、梶龍兒、高橋元秀、石田説而、幸田知子、小崎俊司、鳥居恭司、中野宏俊、原川哲博：新しい日本の 150kDa ボツリヌス毒素製剤の CMAP 測定による評価. 第 10 回国際 parkinson’s disease and movement disorders 学会, 京都, 平成 18 年 10 月.

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.

14) Shibayama K., Wachino J., Arakawa Y., Saidijam M., Rutherford N., Henderson P.: Characterization of *Helicobacter pylori* g-glutamyltranspeptidase. American Society for Microbiology 106th General Meeting, 2006, May

15) Shibayama K., Wachino J., Arakawa Y., Saidijam M., Rutherford N., Henderson P.: Pathophysiological role of

Helicobacter pylori g-glutamyltranspeptidase. XIXth International Workshop on Helicobacter and related bacteria in chronic digestive inflammation, European Helicobacter Study Group, Wroclaw, Poland, 2006 September

２．国内学会

1) 柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、和知野純一、木村幸司、荒川宜親：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の検出状況について. 第４回薬剤耐性菌研究会、群馬、2006 年 11 月

2) 小林治、柴田尚宏、荒川宜親：プラスミド性 ClassC β-ラクタマーゼ(CMY-2 型)産生菌の検出例. 第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月

3) 高橋敏夫、柴田尚宏、荒川宜親、他：CTX-M-2 型β-ラクタマーゼ産生 *Salmonella* Typhimurium による急性胃腸炎の一症例. 第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月

4) 木下まり、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親、他：熊本県下１２施設における薬剤耐性グラム陰性桿菌の分離状況と動向について. 第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月

5) 吹貝姿子、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親、他：当院における CTX-M-2 型β-ラクタマーゼ産生 *Providencia rettgeri* について. 第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月

6) 菊池和代、柴田尚宏、荒川宜親：ESBL 産生 *Proteus mirabilis* の検出と遺伝子型について. 第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月

7) 吉田郁子、柴田尚宏、荒川宜親、他：過去５年間の富山県下におけるメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の分離調査. 第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月

8) 本間操、柴田尚宏、荒川宜親：悪性リンパ腫患者より検出されたメタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Pseudomonas putida* についての検討. 第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月

9) 長井一彦、柴田尚宏、荒川宜親、他：療養・一般病棟で分離されたメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の検討. 第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月

10) 水谷哲也、福士秀悦、見理 剛、佐々木裕子、遠藤大二、座本 綾、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川 茂：*Mycoplasma fermentans* と SARS-coronavirus の共感染が細胞に及ぼす影響、第 32 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

11) 佐々木裕子：ストレス存在下での *M. penetrans* 蛋白プロファイルにおける主要抗原リポ蛋白 P35 の減少、第 32 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月 2 日

12) 佐々木裕子、堀野敦子、見理 剛、荒川宜親、佐々木次雄：マイコプラズマの抗原変異リポ蛋白、CARDS 毒素発現解析と患者血清中の抗 APOH 自己抗体測定、第 80 回日本細菌学会総会、金沢、2007 年 3 月

13) 堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、荒川宜親、岡村 登、佐々木次雄：*M. pneumoniae* ゲノムへ挿入されたトランスポゾン Tn*4001* の効率のよい位置決定法、第 33 回日本マイコプラズマ学会学術集会、東京、2006 年 6 月

14) 見理 剛：*M. pneumoniae* の細胞付着性にかかわる分子群、第 33 回日本マイコプラズマ学会学術集会、東京、2006 年 6 月

15) 佐々木裕子、堀野敦子、見理 剛、荒川宜親、佐々木次雄：マイコプラズマ抗原についてのプロテオミクス、第一回日本ゲノム微生物学会、千葉、2007 年 3 月

16) 見理 剛、堀野敦子、佐々木裕子、他 4 名：*Mycoplasma pneumoniae* の全 ORF のクローンの作製と網羅的蛋白質局在分析への利用 第 1 回日本ゲノム微生物学会総会、木更津市、2007 年 3 月

17) 見理 剛、堀野敦子、佐々木裕子、他 4 名：*Mycoplasma pneumoniae* におけるタンパク質細胞内局在の網羅的分析　第 80 回日本細菌学会総会、大阪市、2007 年 3 月

18) 堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、岡村 登、荒川宜親、佐々木次雄：*M. pneumoniae* のトランスポゾンによる変異導入、第 80 回日本細菌学会総会、大阪市、2007 年 3 月

19) 加藤はる：シンポジウム：腸管感染症と最近の話題と知見 *Clostridium difficile* 感染症、第 80 回日本感染症学会総会、東京 2006 年 4 月

20) 伊藤陽一郎、中村敏之、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症／腸炎の院内感染との関連性の検討、第 80 回日本感染症学会総会、東京、2006 年 4 月

21) 加藤はる、伊藤陽一郎、荒川宜親：日本の病院における *Clostridium difficile* 北米流行 NAP1/027 株による偽膜性大腸炎症例、第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会、東京、2006 年 10 月

22) 加藤はる：教育講演・*Clostridium difficile* 感染症の新知見－個々の症例の診断から世界の流行まで－、第 19 回日本外科感染症学会総会、東京、2006 年 11 月

23) 加藤はる、荒川宜親：*Clostridium difficile* の *slpA* 遺伝子配列解析による糞便検体からのダイレクト・タイピング、第 18 回日本臨床微生物学会総会、長崎、2007 年 2 月

24) 加藤はる：教育セミナー・*Clostridium difficile* 強毒株

の世界的な流行拡大と日本における出現､第 18 回日本臨床微生物学会総会、長崎、2007 年 2 月

25) 赤羽貴行、床尾万寿雄、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症のアウトブレークとその解析について（細菌学的検討を中心に）第 22 回日本環境感染学会総会、横浜市、2007 年 2 月

26) 村端真由美、小椋正道、矢野久子、和田順子、脇本幸夫、溝上雅史、出口隆生、熊本忠史、駒田美弘、加藤はる：長期入院しているがん患児からの *Clostridium difficile* 検出と排泄介助の実態、第 22 回日本環境感染学会総会、横浜市、2007 年 2 月

27) 加藤はる：教育講演・話題の感染症：*Clostridium difficile* による院内感染―そもそもどんな感染症なの？―、第 22 回日本環境感染学会総会、横浜市、2007 年 2 月

28) 加藤はる、荒川宜親：糞便検体からの *Clostridium difficile* の loop-mediated isothermal amplification（LAMP）法による toxin B 遺伝子検出および *slpA* sequence typing によるダイレクト・タイピング､第 37 回日本嫌気性菌感染症研究会、奈良、2007 年 3 月

29) 長野則之、外山雅美、加藤はる、長野由起子、荒川宜親：ヒト感染症として初めて報告する *Clostridium chauvoei* による劇症型ガス壊疽症例､第 37 回日本嫌気性菌感染症研究会、奈良、2007 年 3 月

30) 田口晴彦、蔵田 訓、佐々木次雄、神谷 茂：マクロライド耐性肺炎マイコプラズマ感染モデルにおける CAM、MINO、CPFX の有効性、第 89 回日本細菌学会関東支部総会、群馬県伊香保温泉、2006 年 11 月

31) 佐々木次雄：過去 30 年間のマイコプラズマ研究を振り返って、第 33 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

32) 蔵田訓、田口晴彦、佐々木次雄、神谷茂：マクロライド耐性菌で作成したマイコプラズマ肺炎モデルにおける抗マイコプラズマ薬の効果､第 33 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

33) 岡崎則男、大屋日登美、佐々木次雄、成田光生：肺炎マイコプラズマの分離培養と薬剤感受性試験、第 33 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

34) 佐々木次雄：*M. pneumoniae* の検出・薬剤耐性遺伝子検出における PCR 法の有用性について、第 33 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

35) 岩城正昭、永田典代、猪股夢乃、三枝智美、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀：マウス皮内接種系を用いたジフテリア感染防御アッセイと菌の存在様式の検討、第 79 回日本細菌学会総会、金沢市、2006 年 4 月

36) 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、金沢市、2006 年 4 月

37) 福田 靖､岩城 正昭､小宮 貴子､荒川 宜親､高橋 元秀. 破傷風に関する細菌学的検査の現状､第 80 回日本感染症学会総会、東京、2006 年 4 月

38) 堀内善信、高橋元秀、宮村達男（国立感染研）、小幡朗（デンカ生研）、東雍（阪大微研）、末原章宏（武田薬品）、塩先巧一（化血研）、宮澤美和子、太田芳宏、清水文七（日本ポリオ研究所）.DPT-不活化ポリオ混合ワクチン（DPT-sIPV）の免疫原性、第 10 回日本ワクチン学会、大阪、2006 年 10 月

39) 前山順一、小宮貴子、高橋元秀、山本三郎、後藤紀久：CpG-DNA である Oligo B 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 10 回日本ワクチン学会、大阪、2006 年 10 月

40) 高橋元秀、石田説而、坂本崇、原川哲博、銀永明弘、梶龍兒：複合筋活動電位によるボツリヌス神経毒素の筋弛緩活性の定量化、第 36 回日本臨床神経生理学会、横浜市、平成 18 年 11 月

41) 山本明彦、岩城正昭、見理剛、小宮貴子、福田靖、荒川宜親、高橋元秀：破傷風罹患が疑われた患者の痂皮からの破傷風菌分離、第 80 回日本細菌学会総会、大阪、平成 19 年 3 月

42) 岩城正昭、見理剛、山本明彦、荒川宜親、高橋元秀：A 型毒素産生 *Clostridium botulinum* による乳児ボツリヌス症の一例、第 80 回日本細菌学会総会、大阪、平成 19 年 3 月

43) 瀬戸幸路、幸田知子、向本雅郁、小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀、小崎俊司：我が国で分離された *Corynebacterium ulcerans* が産生するジフテリア様毒素の性状について、第 80 回日本細菌学会総会、大阪、平成 19 年 3 月

44) 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：ヒトでのペプチドグリカンやβグルカン反応性を反映する *in vitro* 試験法の開発、第 79 回日本細菌学会総会、金沢市、2006 年 3 月

45) 山本明彦、落合雅樹、堀内善信：血液製剤のエンドトキシン試験適用､第 12 回日本エンドトキシン研究会総会、東京、2006 年 11 月

46) 百瀬暖佳、今井順一、浜口功、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、滝澤和也、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：百日せきワクチン投与

に伴うラット肺での遺伝子発現解析、第 10 回日本ワクチン学会総会、大坂、2006 年 10 月
47) 浜口功、今井順一、百瀬暖佳、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、滝沢和也、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：遺伝子発現解析を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み、第 10 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2006 年 10 月
48) 水上拓郎、今井順一、浜口功、河村未佳、百瀬暖佳、内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、倉光球、滝沢和也、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：網羅的遺伝子発現解析によるインフルエンザワクチンの新しい安全性評価法開発の試み、第 10 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2006 年 10 月
49) 韓賢子、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親：成人層から分離された百日咳菌の遺伝子解析. 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月
50) 蒲地一成、豊泉裕美、韓賢子、堀内善信、荒川宜親、高橋元秀：カンボジアにおける百日咳流行株の分子疫学的解析. 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月

３．講演・講義

1) 加藤はる：クロストリジウム・ディフィシル（*Clostridium difficile*）感染症について。安曇野赤十字病院院内感染研修会、安曇野、2006 年 4 月.
2) 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、東京、2006 年 5 月.
3) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症について～細菌学的診断検査から世界の流行まで～、第 8 回東海感染症フォーラム、名古屋市、2006 年 6 月.
4) 加藤はる：クロストリディウム・ディフィシル関連下痢症と院内感染～見過ごされていませんか？～、平成 18 年度名古屋市立大学病院感染対策講演会、名古屋市、2006 年 6 月.
5) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症と細菌学的診断検査、第 8 回東海病原微生物研究会。名古屋市、2006 年 9 月.
6) Sasaki T.：Current JP activities in microbiology, IVT Congress, Baltimore, 2006 June.
7) Sasaki T.：Mycoplasma testing for cell cultures, IVT Congress, Baltimore, 2006 June.
8) Sasaki T.：Parametric release for moist heated pharmaceutical products in Japan. IVT Congress, Baltimore, 2006, June.
9) Sasaki T.：Current global regulation for sterile pharmaceutical products -Microbiological risk management-, Taiwan, 2006 August.
10) Sasaki T.：Reliability survey of pharmaceutical water processed by membrane systems、PDA Tokyo Congress, Tokyo, 2006 November.
11) Sasaki T.：Aseptic process guidance and their harmonization strategy, PDA Tokyo Congress, Tokyo, 2006 November.
12) 佐々木次雄：生物学的製剤の品質管理、平成 18 年度薬事衛生管理コース、和光市、2006 年 6 月.
13) 佐々木次雄：医薬品製造における微生物学的リスクマネジメント、富山県 GMP セミナー、富山市、2006 年 9 月.
14) 佐々木次雄：ワクチン研究開発・評価・審査の諸問題について「ワクチンの評価の問題点」、日本ワクチン学会、大阪市、2006 年 10 月.
15) 佐々木次雄：私の得意分野から皆様の GMP 査察に役立ちそうなものを選んでみました、総合機構、2006 年 12 月.
16) Horiuchi Y.：Clinical relevance of laboratory tests and its impact on the control system of biological products, at Ntional Health Research Institute in Zhunan Taiwang, June 23, 2005, Taipei, Taiwan

４．特許

1) 発明の名称：抗Ｅ型ボツリヌス神経毒素抗体、発明者：高橋元秀、前田浩明、向本雅郁、幸田知子、小崎俊司：国際出願番号：整理番号 JP505, 2006 年 4 月 25 日出願
2) 発明の名称：組換え抗ボツリヌス神経毒素抗体、発明者：高橋元秀、前田浩明、向本雅郁、幸田知子、小崎俊司：国際出願番号：整理番号 JP483, 2006 年 4 月 25 日出願
3) 発明の名称：神経毒素の定量方法、発明者：高橋元秀、石田説而、原川哲博、中野宏俊、鳥居恭司、奥田祥士、梶 龍兒、坂本 崇：国際出願番号：整理番号 666710, 2006 年 4 月 28 日出願

6．寄 生 動 物 部

部　長　遠 藤 卓 郎

概　要

当部においては、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、広東住血線虫などを対象とした疫学調査、分子疫学的解析、検査･診断、予測、予防等々に関する研究が行われている。

第一室においては、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進められた。クリプトスポリジウム等の腸管寄生性原虫類に関しては一貫して水系感染防止の観点から研究が続けられている。*Acanthamoeba* 等の自由生活性アメーバ類に関しては、*Legionella* 関連ならびにアメーバ自体の病原性の両面から研究が進められている。前者では細菌第一部との共同研究により環境水中での宿主アメーバ－レジオネラ汚染制御に取り組んでいる。後者に関しては脳炎の起因アメーバ 3 種の鑑別･同定方法（*in situ* hybridization）の改良･開発、ならびにレファレンスラボ機能の維持に努めた。

第二室における研究課題は動物由来寄生蠕虫および食品由来の寄生蠕虫対策を２本の柱としており、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。エキノコックス症研究では糞便内 DNA 検査試験方法の開発、疫学調査等に関する地衛研との共同研究強化、ならびに国外の浸潤地域（中国）への研究協力を行っている。食品由来寄生蠕虫対策研究においては、肺吸虫の鑑別診断の精度向上に向けて、各種肺吸虫の遺伝子配列の解読と登録を続けている。

第三室においてはマラリア原虫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いる。特に、熱帯地域のみならず一部の温帯地域でも再興感染症として問題となっているマラリアはわが国への侵入が危惧される。昨年に続いて、アジア諸国の研究機関との協力関係強化とネットワーク整備に努め、中国 CDC や WHO（WPRO）と三日熱マラリアの対策・防疫に関する国際会議を共催した。また、マラリア薬剤耐性の拡散については、大陸アジアと島嶼部では、そのメカニズムが異なることを分子生物学的に明らかにすると同時に、拡散の数理モデル化にも着手した。また、マラリア検査・診断法の改良をはかるとともに、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。赤痢アメーバ症は、引き続き増加傾向を示しているが、疫学的に従来と異なった傾向が認められ、拡大防止に向けた研究への関与が求められている。

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、インドネシア、中国、ソロモン諸島国、その他東南アジア諸国との研究協力ならびに人材交流が図られた。

人事面では当該年度内に異動は無かった。しかしながら、本年度末から団塊世代が退職を迎えることになり、当部でも両三年中に数名の退職者が予定されている。本年度をもって川中正憲第二室長が退職する。

業　績

調査・研究

Ⅰ．疫学

1.　野生ニホンカモシカの原虫類汚染実態調査

岩手県内 65 頭、秋田県内 33 頭の野生ニホンカモシカを対象に原虫検査を行った。結果は、*Giardia* 属のみ検出され、*Cryptosporidium* 属は不検出であった。ジアルジア検出率は岩手県の場合 6.2%（4/65 頭）、秋田県では 15.2%（5/33 頭）であり、東北地域に生息するニホンカモシカのおよそ 10%前後の個体がジアルジアに感染しているものと想定された。16S rRNA 遺伝子による遺伝子型別を行った結果では、検出されたシストは人畜共通感染性型として知られる Assemblage　A1 と同定された。今回の調査では感染個体の生息と水源との関連に関するデータは得られなかったので、今後この点を踏えさらに調査を進める。

［板垣　匡（岩手大学農学部）、八木田健司］

2.　宿主アメーバに対するレジオネラ属菌感染性の定量的解析法の開発

浴槽水等感染源となりうる環境中のレジオネラ属菌に関して、環境中に共存する宿主アメーバに対する感染性

を定量的に解析する目的で、マイクロプレートを用いたアメーバーレジオネラ属菌感染アッセイ系を考案した。感染性は 50%感染菌量（ID50：50% infectious dose）を指標とし、これを算出するための試料希釈系列、アメーバ株選定、培養、試験数等の実験条件を検討した。本法により通常の培養条件（BCYEα 培地を使用、30℃、3 日間培養）で増殖する菌の ID50 は 2-3 cfu と算出された。さらに微妙な培養温度条件の変化が ID50 に影響することを定量的に確認した。これらの結果の再現性は高く、本法により菌の感染性を定量的に解析することが可能となった。

［八木田健司、泉山信司、小村麻子、倉　文明（細菌第一部）］

3. モデル浴槽水中におけるレジオネラ属菌感染性の変動の定量的解析

環境中でのレジオネラ属菌の感染性に関するデータとして、*in vitro* モデル浴槽水（脱塩素処理水道水、42℃）中では菌のアメーバに対する感染性が低下するという定性的結果を得ている。これをさらに定量的に解析するためマイクロプレートアッセイ系を開発し、菌の感染性に関する経時変動を検討した。その結果、試験浴槽水に懸濁されたレジオネラは 3 週間程度にわたり人口培地での増殖性を維持するものの、宿主アメーバに対する菌の感染性は懸濁後 1 週間でわずか 6%程度にまで低下し、2 週間後には２%程度の感染性を維持するにとどまった。これまで、VNC（viable but not culturable）化したレジオネラは人工培地では増殖できないものの、アメーバ内で増殖性を回復するとされてきたが、今回の結果はこの考えをまったく支持しなかった。

［八木田健司、泉山信司、小村麻子、倉　文明（細菌第一部）］

4. 埼玉県内の野ネズミにおけるエキノコックスの保有状況に関する調査

2005年6月、埼玉県内で捕獲された犬の糞便からエキノコックスの虫卵が検出された。この犬は流行地と関連があり、偶然捕獲されたと推察されたが、この地域においてエキノコックスの生活環が成立している可能性は、皆無とは断言できない。そこで、当該犬が捕獲された河川敷における野鼠類を捕獲し、エキノコックスの保有状況について調査した。野鼠類の捕獲は真冬と真夏を除く、2005年11月29日～2006年10月26日の期間に実施した。当該犬が捕獲された県北の河川敷に、シャーマン式トラップを設置した。捕獲した野鼠類は、衛生研究所の高度安全施設内で剖検し、肝臓等の臓器におけるエキノコックスの感染状況を調べた。その結果、102頭を捕獲し、その種別はアカネズミ70頭(68.6%)、ハツカネズミ22頭(21.6%)、ドブネズミ7頭(6.9%)、ハタネズミ3頭(2.9%)、であった。いずれの肝臓にもエキノコックスの病巣は認めなかった。

［山本徳栄・近真理奈・増田純一郎・山口正則（埼玉衛研）、森嶋康之、川中正憲］

5. 大阪府内におけるイヌの人獣共通寄生蠕虫類の流行調査

イヌは多くの人獣共通寄生蠕虫類の宿主となる。エキノコックス（多包条虫）もその中の一つであるが、我が国では流行地が北海道のみに限局することから、それ以外の地域では本寄生虫に対して注意が払われてこなかった。ところが最近、北海道から他の地域へ持ち出されるイヌの中にエキノコックス感染個体が存在することが明らかとなった。さらに平成17年には埼玉県で捕獲された放浪犬の1頭にも感染が確認され、エキノコックスの本州への広がりが懸念されている。大阪府は首都圏に次いで北海道との人的・物的交流が緊密であることから、エキノコックス感染犬が持ち込まれる可能性が高いことが指摘されてきた。そこで今年度から人獣共通感染症対策の一環として、府内全域で捕獲されたイヌを対象とし、エキノコックスをはじめとする人獣共通寄生虫相の調査を開始した。

［木村明夫（大阪府公衛研）、森嶋康之、杉山 広、川中正憲］

6. 中国青海省果洛チベット族自治区おけるエキノコックス症の血清疫学的調査研究

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が、この地域における現在までの疫学調査は不十分なものであった。そこで、今年度の調査の第一目的は、チベット族住民のエキノコックス感染状況を明らかにすることに設定した。また、今後の調査を進めるにあたって、それに用いる手法を検討しておく必要があり、特に単包虫症と多包虫症の鑑別を巡る問題がある。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、この目的で市販WB[「Echinococcus Western Blot IgG」(France、LDBIO)]と、部分精製した単包虫胞内液(Eg AgB-8kD)及び多包虫原頭節抽出液(Em16-18kD)を内容とするカクテル抗原を用いた自家製WBとで比較実験を実施し、それぞれのWBの結果について画像診断の結果との関係で検討を行なった。

［川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山 広、呉献洪・馬霄・劉培運・曽誠・蔡輝霞・馬俊英・王虎（青海省地方病予防控制所）、余森海（中国 CDC）］

7. 中国青海省果洛チベット族自治区における多包虫症感染源の探索

中国西部の青海省では単包条虫および多包条虫による単／多包虫症（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。単包虫症の感染源としてイヌが知られているが、多包虫症については十分な感染源調査がなされていない。そこで果洛チベット族自治区のイヌを対象として多包条虫流行調査を行った。採集されたイヌの糞便は155検体で、殺虫卵処理後、糞便内のテニア科条虫卵をウィスコンシン変法によって回収し、12S rRNA領域あるいは*rrnL*領域を標的部位とするPCR-RFLP法によって分子同定を試みた。包条虫属を含むテニア科条虫の虫卵は14検体から検出されたが、いずれも単包条虫あるいは胞状条虫と同定され（混合感染を含む）、多包条虫の感染例は発見されなかった。同自治区のヒト多包虫症にはイヌ以外の食肉類が感染源として存在する可能性も示唆され、さらに詳細な調査を進める予定である。［森嶋康之、杉山 広、呉献洪・馬霄・劉培運・曽誠・蔡輝霞・馬俊英・王虎（青海省地方病予防控制所）、余森海（中国CDC）、川中正憲］

8. 平成18年度神奈川県におけるアライグマ回虫調査過程でのタヌキ回虫の検出

神奈川県は、首都圏にあって野生化アライグマの増加が著しい地域であることから、我々は、8カ年以前よりアライグマ回虫についてフォローしてきた。今年度は、288件の糞便が検査のために駆除業者から直接感染研に送付され、また市町からの行政レベルでのルートを通じて神奈川県衛生研究所においても64件の糞便検査が実施された。現在までの調査において、捕獲アライグマからはアライグマ回虫は検出されていないが、タヌキ回虫の寄生例が見つかっている。アライグマ回虫卵の形態はタヌキ回虫卵と類似している為、これらの種鑑別には成虫を採取してその形態的特徴を確認する事が望ましいが、成虫が採集出来なかった場合でも、虫卵由来のDNAによるPCRを実施し遺伝子を解析する事で同定が可能である。タヌキ回虫は、相模原市と鎌倉市からの各１頭、横須賀市からの2頭を加えて、現在までに捕獲アライグマ４頭からその寄生例が確認された。タヌキ回虫は、イヌ回虫と同じトキソカラ属で、ヒトに対してイヌ回虫程度の幼虫移行症を起こしうると考えられているが、アライグマ回虫ほどの重篤な障害を起こす可能性は低い。従って、捕獲アライグマから回虫卵を検出した際には、必ずタヌキ回虫卵との鑑別を行うことが必要になったと云える。

［川中正憲、荒川京子、杉山広、森嶋康之、稲田貴嗣（神奈川県衛生研究所）］

9. 食中毒事例の調査を契機に佐賀県で見出された宮崎肺吸虫の新分布地

肺吸虫症の集団感染事例（感染者4名）が、2004年秋に佐賀県で発生したことは報告した。原因食品はモクズガニの老酒漬けで、カニは県北西部を流れる玉島川の五反田地区（河口から約3.5km上流：肺吸虫の寄生率は19%）で捕獲されていた。本虫の分布状況を知るために、更に上流にある仁部地区（河口から約7km）でもモクズガニを捕獲し、検査を行なった。その結果、28匹中の1匹から肺吸虫が見つかった（寄生率4%）。この仁部地区では、サワガニ（40匹）も採集された。しかも1匹から、ウェステルマン肺吸虫ではなく宮崎肺吸虫のメタセルカリアが検出された。本調査により、佐賀県の玉島川には、2種類の人体寄生性肺吸虫が分布していることが明らかとなった。

［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）、川上 泰（麻布大学）］

10. 輸入マラリア標本を用いた東南アジアにおける薬剤耐性遺伝子の遺伝的多型の解析

東南アジアにおけるクロロキン耐性マラリア原虫の遺伝的多型を解析するために、感染研が保存してきたマラリア輸入例の標本から DNA の回収を行った。標本は 1984 年から 1998 年のマラリア患者薄層標本であり、そのうち東南アジアからのサンプルとして 29 例の配列決定に成功した。クロロキン感受性型（野生型）を示したサンプルは、1985 年のフィリピンからの輸入例、１例のみであり、残りの 28 例は全てクロロキン耐性型（変異型）を示した。PfCRT タンパク質の 72 から 76 番目のアミノ酸配列は、野生型は CVMNK であるが、CVIET ならびに SVMNT を示すものはインドシナ半島型、パプアニューギニア型として 2002 年に報告されているものと同一であった。また、インドシナ型の亜型と考えられる CVIDT という配列を有する株がタイ／ラオスからの 1998 年の輸入例 2 株において認められた。また、新規の配列 CVMNN を有する株を 1986 年のインドネシアからの輸入例で発見した。以上の株は全て、野生型または変異型のみを示したが、1998 年のフィリピンからの輸入例、１例において、30%がインドシナ半島型ならびに 70%が野生型の混合感染を示した。クロロキン耐性の原因遺伝子である PfCRT のアミノ酸配列の多型は、2000 年以降に

報告されている多型を支持していた。2000 年以前のサンプルを用いた PfCRT の多型は殆ど報告例がなく、本研究結果はクロロキン耐性マラリア原虫の世界的流行を 2000 年以前のサンプルを用いて DNA の存在により証明したものである。

［中野由美子、亀井喜世子（帝京大学医学部）、河津信一郎･石上盛敏･狩野繁之（国立国際医療センター研究所）、田辺和裕（大阪工業大学）、大前比呂思］

11. マラリアに対する治療的介入と薬剤耐性の蔓延に関するモデル化

クロロキンに耐性を示すマラリア原虫はアジア太平洋地域に拡散しており、従来から治療的介入が薬剤耐性マラリアの蔓延を招く可能性は指摘されている。マラリア制圧が進んだソロモン諸島のモデルを通して、治療的介入の有用性と薬剤耐性株がマラリア流行拡大に果たす役割を シミュレーションにより予見した。治療的介入のカバー率を 50%程度とすると、15 年経過後耐性株の占める割合は 15%以上となることがわかった。また、クロロキン耐性株の侵入により、経年的な治療的介入のマラリア流行に及ぼす影響を調べたところ、開始時に感染率 24%だったのが、侵入した場合とそうでない場合とを比較すると、1 年目が 17.6%と 16.7%、2 年目が 13.9%と 12.3%、3 年目 12.5%と 10.1%と推移しその差は拡がっていくことがわかった。さらに、介入対象年齢について検討したところ、薬剤耐性の程度に関わらず、6-15 歳を対象年齢とした治療的介入は、全年齢層の感染率の減少に大きく寄与するが、11-15 歳を対象とした治療的介入は、全年齢層の感染率の減少にあまり影響を与えないこともわかった。

［大前比呂思、石川洋文（岡山大学環境科学研究科）］

12. マラリア対策の進捗と疫学的指標の変化に関する研究

2005 年度に引き続き、ソロモン諸島国におけるマラリア感染状況の変化を雨季と乾季で比較して調査し、治療的介入の効果について検討するとともに既存の疫学的指標の有用性と限界について検討した。ソロモン諸島国は、1990 年代前半、アフリカと並ぶマラリアの高度浸淫地と言われたが、対策の成功によって、1997 年以降状況は大きく改善した。今世紀に入ってから、民族紛争などで国家的マラリア対策が困難な時期が続いたが、現在に至るまで明らかなマラリア再興の兆候を見せることなく経過している。昨年度、2006 年２月（雨季）、Sentinel Site として観察している村落で横断的一斉調査では、マラリア感染率は 30%以上となり、1996 年の調査と同様の高い感染率を示したが、三日熱マラリアが感染者の 60%以上を占めていた。2006 年９月（乾季）の調査では、マラリア感染率は、22.7%まで減少したが、熱帯熱マラリアに比して三日熱マラリアの減少は少なかった。住民の 80%以上に対して検査を行い、三日熱マラリア感染者に対してはクロロキンにプリマキンを加えた治療的介入を行ったところ、2007 年２月（雨季）の調査では、マラリア感染率は、17.4%まで低下し、三日熱マラリアも熱帯熱マラリアも同様に低下した。また、このような対策の進展に伴い、発熱や脾腫といった臨床症状による疫学的指標だけでは、実際のマラリア感染状況が把握できない可能性が示唆された。

［大前比呂思、亀井喜世子（帝京大学医学部）］

13. 国内におけるアメーバ赤痢患者発生動向の解析

近年アメーバ赤痢の患者は増加傾向を示し、18 年度の国内での年間患者発生数は 700 例を数え、寄生虫疾患の中でも最も多い値を示した。感染症情報センターと共に病原体検出情報（IASR）の特集でアメーバ赤痢を取り上げ、感染経路、病態、治療法等について紹介した。また特集関連記事として、所外のアメーバ赤痢を専門とする研究者５人に、より詳細なトピックを論じて頂いた。以上の IASR の情報は情報センター・メディア感染症情報交換会にて発表し、メディアに分かり安く紹介した。

［中野由美子、大前比呂思、遠藤卓郎］

Ⅱ．分類・同定

1. リスザルから分離したミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 遺伝子 III 型のサブタイピング

前回、斃死したリスザルの脳、肺、肝、脾、腎の各臓器より Cellfluor 蛍光染色陽性のミクロスポリジア様胞子を検出し、SSU-rRNA 遺伝子領域及び ITS 遺伝子領域のヌクレオチドシークエンス分析からすべての分離株は 5’-GTTT-3’リピート数４個の III 型に属する *E. cuniculi* であることを報告した。今回は、同分離株の PTP（極管タンパク）遺伝子領域を調べ、既報の III 型とは異なり、寧ろ II 型に酷似した配列であることを明らかにした。一方、SWP-1（胞子壁タンパク）遺伝子領域については、既報の遺伝子 I、II、III 型とは少し異なる配列であることを明らかにした。これらの結果から、我々が分離したリスザル由来の *E. cuniculi* 病原体は ITS 遺伝子 III 型の新しいサブタイプであることが示唆され、播種性感染の原因となる III 型感染の分子疫学の理解の一助となると考えられた。

［朝倉登喜子、古屋宏二、中村進一・大田真理子・宇根有美（麻布大学)、泉山信司、八木田健司］

2. 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

感染症発生動向調査事業年報の統計によれば、ジアルジア症報告数は2000年以後100例前後でほぼ一定に推移しており、国内感染例が約40%を占める。国内での感染様式は不明であり、これを解明するために分子疫学的情報の蓄積を進めている。今回、国内感染が強く疑われる2例のジアルジア症例に関してDNA診断を行い、1例はヒト特異的な型として知られるAssemblage A2、他は人畜共通感染性とされるAssemblage B4の感染であった。２例ともにHIV陽性者であった。これまで国内例としては別の人畜共通感染性型であるAssemblage A1 の感染を明らかにしている。

［八木田健司、泉山信司、小村麻子］

3. 水道水中の線虫類の遺伝子型別

水道水中に発生する線虫類は不快生物として扱われているが、種別あるいは病原性の有無については知られていない。当該研究では浄水場配水地より得た試料より顕微鏡下で線虫を単離した後､18S rRNAを標的としたPCRと塩基配列決定を行なった。その結果、検出された線虫類に人体寄生性線虫類は認められなかった。最も分離頻度が高かったのは*Plectus* sp.の30%（13/44回）で、登録塩基配列との一致率は 99%（899/908bp）であった。なお、これら線虫類から病原性を有する細菌並びにウィルスは分離されなかった。

［泉山信司、黒木俊郎（神奈川県衛生研究所)、片山浩之（東京大学大学院工学系研究科)］

4. cpgp40/15 領域を用いたクリプトスポリジウムの分子疫学

クリプトスポリジウムは激しい下痢を引き起こす消化管寄生性原虫で、強い塩素耐性を有することから水道を介して水系感染することで問題とされている。糞口感染であることから食品､接触による感染経路も存在するが、経路の特定や疫学調査には分子疫学の精度向上が求められている。従来のクリプトスポリジウムの分子疫学は専らヒト型あるいはウシ型の別を判定することが行われ、18S rDNA、Poly-T等の領域が用いられていた。わが国で発生しているクリプトスポリジウム症はヒト型を中心としており、特に1996年の埼玉県の事例、2002年の北海道の事例、2004年の長野県の事例ではいずれもヒト型であった。ヒト型をより詳細に型別し、分子疫学の精度を向上させることが現在求められている。当該研究ではcpgp40/15遺伝子に着目し型別を進めた結果､多様な配列が得られた。系統樹解析ではこれらの事例が別々のクラスターに分岐し、従来に比較して高解像な型別が可能となった。

［泉山信司、小村麻子、亀岡洋祐（(独）医薬基盤研究所生物資源研究部)、八木田健司］

5. 肺吸虫の由来地判別に向けての検討：中国産肺吸虫を用いた解析

在日外国人が淡水産・汽水産のカニを用いて、出身地固有の料理を作り, 非加熱で賞味して肺吸虫に感染する事例が増加の傾向にある。このような症例の再発を予防するには、原因となる肺吸虫の種類や由来（本邦産か外来か）を知ることが重要である。この目的のために、各地で肺吸虫材料を入手し、遺伝子配列の解読と登録を続けてきた。今回は、中国・浙江省にあるウェステルマン肺吸虫症の流行地に出掛け､淡水産のカニからメタセルカリアを分離し､解析を試みた。また同一種のカニから分離され, 約10年間アルコール（70%, 室温）に浸漬されていたハリナスタ肺吸虫（タイと中国に分布, 我が国には分布しない）についても、検索した。まずウェステルマン肺吸虫は、リボソームDNA・ITS2領域（363bp）の配列が、本邦産と完全に一致した。しかしながら、ミトコンドリアDNA・*cox1*遺伝子（部分長、396bp）では、6箇所で塩基に違いが認められ, この相違に基づいて両者は容易に鑑別された。一方のハリナスタ肺吸虫では、ITS2領域の配列が他の日本産肺吸虫（ウェステルマン肺吸虫, 宮崎肺吸虫, 大平肺吸虫）と大きく異なり, 鑑別は極めて容易であることが分かった。しかしながら、タイ産のハリナスタ肺吸虫とは、配列が完全に一致した。両者の鑑別には、ミトコンドリアDNA・*cox1*遺伝子（396bp、45箇所で相違）の解読が必要であった。

［杉山　広、森嶋康之、川中正憲、銭　宝珍（浙江医学科学院・中国)］

6. インドで得た肺吸虫材料の形態観察と分子同定

人獣共通寄生蠕虫症の原因種として重要視されるウェステルマン肺吸虫は、オランダ・アムステルダムの動物園で死亡したベンガルタイガー由来の虫体に対して､今から約130年前に最初に命名された（Kerbert, 1878)。インドでは､それ以前に*Paragonimus compactus*が記載され（Cobbolt, 1859)、その後には*P. edwardsi*が報告された（Gulati, 1926）が、これらはなぜか無視され、もっぱらウェステルマン肺吸虫が人獣に寄生し病害を与えていると考えられてきた。

今回、インド東北部のマニプール州に分布する2種類の肺吸虫について、形態学的特徴を再検討し、また塩基配列を解読して、分子同定と系統関係の解析を行う機会を得た。その結果、これらはウェステルマン肺吸虫ではなく、スクリアビン肺吸虫とヒロクチ肺吸虫である事が確認された。これら2種の肺吸虫が、インドでどのような生活環を営み、人獣にどのような病害を与えているのか、検討したいと考えている。ウェステルマン肺吸虫の探索も続ける予定である。
［杉山　広、アチャリア・ラングシルジ（スリナカリンウイロート大学・タイ）、シャンティクマール・シン（シッキム医科大学・インド）］

Ⅲ．生理・生化学・分子生物学

1.　赤痢アメーバにおけるコレステロールの役割

赤痢アメーバの生育の必須因子であるコレステロールの取り込み機構と細胞内での役割を解明することを目的とし、細胞内のコレステロールの可視化を行った。まず赤痢アメーバ内でのコレステロールの局在を観察するために、遊離コレステロールを filipin で染色したところ、赤痢アメーバ内で遊離コレステロールは主にリソソームに蓄積しており、ヒトや他種生物とは異なる局在像を示した。また取込みの動態を NBD-cholesterol を用いてパルスチェイス実験を行ったところ、細胞内の小さな小胞に組み込まれ、次第にリソソームに送られることが分かった。さらに宿主のコレステロールにおける病原性の役割を調べるために、宿主細胞を Methyl-beta-cyclodextrin で処理を行い、宿主からコレステロールを減少させると、赤痢アメーバによる貪食効率が低下することが観察された。また、肝膿瘍から単離された病原株はリソソームならびに細胞内のコレステロール量が増大していることが分かった。よって、赤痢アメーバの病原性の理解にコレステロールの細胞内輸送の解析が重要であることを示した。
［中野由美子］

Ⅳ．免疫

1.　ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 胞子壁及び極管に対する抗体の検出のためのマイクロプレート酵素免疫染色法の改良工夫

ミクロスポリジア *E. cuniculi* の胞子壁及び極管に対するマイクロプレートを利用した高感度抗体測定法を改良工夫した。先ず、HF strain（genotype I）を RK-13 細胞（ATCC CCL-37）に感染馴化させ、感染 RK-13 セルシートから産生離脱した胞子を集めた（感染細胞を含む）。次に、約 4×10^6 の細胞外胞子（MEM 培地―10%牛胎児血清添加―に懸濁）を 96 穴のマイクロプレートの各ウエルに接種し、5%炭酸ガス下 35℃で 3 日間培養した。培養後 10%フォルマリン液で固定し 1 ウエル当り 100 以上の発芽胞子を含むプレートを試験に供した。被検血清中の抗体は、peroxidase 標識二次抗体あるいは protein A/G を利用したサンドイッチ酵素抗体法に基づき測定した。一次反応は被検血清を 50 倍から 2 倍階段希釈し、その 100 µl を各ウエルに添加して室温 1 時間行った。二次反応は酵素標識二次抗体あるいは protein A/G を 3,000～5,000 倍に希釈して同上条件下で行った。吸着酵素の発色にはアミノエチル・カルバゾール基質液を使い、胞子壁陽性の場合は、ウエル内のほとんどの胞子が褐色に全体的に濃染した。極管陽性例では胞子から突き出た赤褐色鞭毛様構造物として認められた。本法によって自然感染ウサギからの血清試料を測定した場合、多くは IgG 抗体価 1:3,000～1:100,000 を示した。胞子壁及び極管に対する抗体の同時測定のほか、IgG／IgM／IgA の分別測定が可能なため、血清疫学研究にあるいは臨床検査に有用な試験法と思われた。
［朝倉登喜子、古屋宏二］

2.　わが国の健常人及び HIV 感染者の血清におけるミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 胞子壁に対する IgG、IgM 及び IgA 抗体の検索

これまで、我々はミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* がわが国で飼育されているウサギ及びリスザルに高度に流行していることを血清疫学的に明らかにし、また、血清抗体陽性ウサギ及びリスザルから遺伝子 I 型及び III 型をそれぞれ分離した。しかし、動物の有病地における健常人への曝露影響については調査が十分に行われていなかったことから、高感度なマイクロプレート酵素免疫染色法を応用して血清疫学的研究を行った。地域住民（180 名）及び献血者（200 名）の血清中抗胞子壁抗体を調べたところ、50 倍以上の IgG 抗体は 2 名、IgA 抗体は 1 名、IgM 抗体は 4 名に認められた。けれども、抗体価は何れも 400 倍以下であり、活性も弱いことから血清学的意味は少ないと思われた。このように、健常人の抗胞子壁抗体保有率は予想より非常に低いことが明らかとなった。一方、CD4 細胞数 250/ul 以下の HIV 感染者（51 名）では IgG 抗体は 2 名、IgA 抗体は 0 名、IgM 抗体は 7 名に認められた。1 例は比較的高い IgG 1:800 の抗体価を示した。海外で本病が免疫不全の AIDS 患者で多発していることから、HIV 感染者については今後更に例数を増やし調査する必要性があると思われた。
［朝倉登喜子、小村麻子、古屋宏二、工藤伸一（北海道

立衛生研究所)、杉浦亙（エイズ研究センター)、東寛（北海道赤十字血液センター)］

3. わが国の健常人及び HIV 感染者の血清におけるミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 極管に対する IgM 抗体の検出

マイクロプレート酵素抗体染色法を応用して *Encephalitozoon cuniculi* 発芽胞子から突出した極管に対する健常人及び献血者の血中抗体を検索した。抗極管 IgG 抗体は健常人 380 名中 4 名に検出されたが何れも反応性は弱いと思われた。抗極管 IgA 抗体は全例で不検出であった。けれども、抗極管 IgM 抗体が 380 名中 138 名（36%）に検出された。20 歳より若い年齢群では 41 例中 24 例（59%）が陽性となり、年齢が上がるにつれ陽性者は有意に減る傾向を示した。抗極管 IgM 抗体は年齢が 30 歳以下で CD_4 細胞数が 250/ul 以下の 21 名の HIV 感染者には全く検出されなかった。以上の血清疫学的結果は、発芽した胞子から突出した極管と強く反応する液性の抗極管 IgM 抗体が健常人血清に存在していることを明らかに示していると共に、このような抗体は防御免疫の一端を担っているかもしれないことを示唆するものと思われた。

［小村麻子、朝倉登喜子、古屋宏二、工藤伸一（北海道立衛生研究所)、杉浦亙（エイズ研究センター)、東寛（北海道赤十字血液センター)］

4. マウス抗 *Encephalitozoon cuniculi* 極管モノクローナル抗体のエピトープ認識とイムノグロブリン･クラスの決定

前回、ハイブリドーマ技術によってマウス免疫脾細胞とミエローマ細胞 p3U1 との融合細胞から *E. cuniculi* 発芽胞子突出－極管と特異的に反応する３種類のモノクローナル抗体（MAb1、MAb2、MAb4）を作製したことを報告した。今回、２D―イムノブロッティングによるエピトープ認識部位に関する解析を更に進め、MAb1 及び MAb2 抗体は 52 kDa PTP1 とそのアイソフォーム及び 50 kDa 以下の低分子スメア様スポット群を認識するが、MAb4 抗体は 52 kDa PTP1 とそのアイソフォームのみを認識することが分かり、少なくとも *E. cuniculi* PTP1 上には“MAb1 あるいは MAb2 反応性”のエピトープと“MAb4 に反応性”のエピトープが存在していることを明らかにした。また、NaOH 処理試験とレクチン結合性試験によって、何れのモノクローナル抗体認識部位も糖質性のエピトープでなくタンパク質性のエピトープであることが判明した。また、これまで不明瞭であったこれらモノクローナル抗体の Ig クラスは全て IgE であることが決定され、*E. cuniculi* 感染の病態にアレルギー・免疫学的側面がある可能性が示唆された。

［古屋宏二、工藤伸一（北海道立衛生研究所)、三和茂（イムノバイオン株式会社)、小村麻子、泉山信司、八木田健司］

Ⅴ．検査・診断

1. 粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮法の開発

水道水を介したクリプトスポリジウム集団感染防止に向けて、検食の保存と同様のシステムとして浄水場等で 20L の水道水の 2 週間保存が勧奨されている。そこで、多量の水道水のろ過濃縮と、迅速なオーシストの回収を目的としたケーキろ過装置(粉体を重積してろ過層としたもの)の開発を行った。ケーキ層の素材には多孔質の微粒子を用い、粉体ケーキにより捕捉される粒子の粒径(半径）は粉体粒子の半径を r とした場合、 $r\times(2/3^{1/2}-1)$ で得られる。また、酸溶解性の粉体を用いることで、迅速な捕捉オーシストの回収を可能とした。その結果、濃縮試料は小型のケーキろ過層装置ごと冷蔵庫に保存することができる。本件は特許申請された。（特願 2006-211340）

［泉山信司、遠藤卓郎、大内一敏（東洋濾紙（株）技術センター)］

2. クリプトスポリジウムとジアルジア検出用 Lamp 法の交差反応性の検討

Lamp 法は複数のプライマーを使用することにより PCR 法に比べて特異性が高い利点があるが、実際の反応において全ての偽陽性が否定できるものではない。当該研究ではすでにクリプトスポリジウム並びにジアルジアを検出するプライマーセットを報告しているが、さらにプライマーの改良を行なった。河川水 DNA 抽出物由来の PCR 産物より作成したプラスミドに対してクリプトスポリジウム LAMP 試薬を用いたところ、プラスミドが 6×10^7copies/test という高濃度で増幅時間を長時間（約 60 分）とした場合に陽性反応を示すことが判明した。プラスミドの塩基配列と LAMP プライマーの配列関係を精査し、プライマーの配列に修正を加えることで、クリプトスポリジウム属との特異性を高めた新しい LAMP プライマーセットを構築した。旧プライマーセットと比較して、新プライマーセットは河川濃縮水由来プラスミド DNA との反応が最少化され、さらに主反応の反応性が向上した。ジアルジアの Lamp セットでは河川水に存在する *Peridinum* 属、*Octomitus* 属の藻類と反応しないことが確認された。加えて、その他の原虫として *Trichomonas*、

あるいはルーメン原虫を多量に含むウシの糞便由来DNAと反応しないことを確認した。いずれのプライマーセットも 0.4 個の（オー）シストからの検出が可能であった。

［泉山信司、百田隆祥（栄研化学生物化学研究所）］

3. Lamp-MPN 法の検討

Lamp 法は PCR 法に代わる国産の核酸増幅技術として期待されているが、専ら陽性・陰性の定性試験に用いられている。環境中の微生物試験への適用を考えた場合、単に定性的な存否判定では十分といえない。一般に、水中における *Cryptosporidium*、*Giardia*、細菌類等々の微生物の存在量は対数正規分布を示すものと考えられている。当該研究では Lamp 法における定量性の確立を目的として Lamp 法と MPN 法の組み合わせ試験を考案し、*Cryptosporidium* 並びに *Giardia* を用いて検討を行なった。少数のオーシスト並びにシストを用いて凍結融解とタンパク質溶解処理による鋳型調製を行なった後、Lamp 反応液と混合し、複数のチューブに分注した。Lamp 反応の結果はチューブごとに陽性・陰性が分かれ、MPN 計算が可能であった。Lamp 法の適用範囲の拡大が期待される。

［泉山信司、小村麻子］

4. 肺吸虫症の血清診断簡易キットの開発

肺吸虫症の簡便な免疫血清診断を目的に、免疫クロマトグラフィー法に基づく診断キットを作製し、本邦の肺吸虫症患者（ウェステルマン肺吸虫症と宮崎肺吸虫症）に適用可能であるか検討した。その結果、キットの作製に用いた抗原の由来種と肺吸虫症患者の原因種とが一致した場合には、的確な診断結果が得られる事が明らかとなった。一方、抗原の由来種と肺吸虫症の原因種とが異なる（異種の抗原で診断した）場合には、診断結果が一定しなかった。この場合、抽出粗抗原に替えてES抗原を用いると、非特異的な反応が減衰し、診断の特異性が上昇した。またプロテインAが抗IgGに替わる検出プローブとして使用できる事が明らかとなり、動物への本キット利用の道が開けた。現在、各種肺吸虫に由来するES抗原を調製中で、これを用いたキットを作製する予定である。また中性システインプロテアーゼなどのリコンビナント・タンパクも抗原とする予定で、性状解析を進めている。

［杉山　広、荒川京子、森嶋康之、川中正憲、銭　宝珍（浙江医学科学院・中国）］

5. アニサキス・アレルギー患者の診断と病態鑑別

魚食後の食物アレルギーは、その多くが魚介類に寄生するアニサキスを原因とすることが知られている。このようなアレルギー患者を正確に診断し、病態を鑑別して予後を判定するには、これに適したアレルゲンの調製が必要となる。そこで、標的分子として日本産アニサキスからクローニングされた21kDaのアレルゲン（いわゆるAni s 1）を選び、リコンビナント・タンパクの形で調製した。このアレルゲンに対する患者血清（13検体）の反応性をウエスタンブロットで調べたところ、IgEとIgGが共にリコンビナント・アレルゲンと反応したもの1検体、IgEのみが反応したもの1検体で、共に反応しないものが11検体あった。リコンビナント・アレルゲンに対するアイソタイプ別の反応性と、患者の病態との関係を詳細に比較検討すれば、アニサキス・アレルギーの診断や病態鑑別・予後判定がより正確になると考えられた。

［杉山　広、荒川京子、森嶋康之、川中正憲］

6. 包条虫属終宿主を対象とする糞便内DNA検査法の感度に関する検討

イヌの包条虫症（四類感染症）の病原体診断の一つに病原体の遺伝子の検出がある。これは糞便中に排泄される片節や虫卵等の遺伝子を対象とする糞便内DNAの検査であり、虫卵が含まれるパテント期の感染の場合は十分な感度を示すことが報告されている。しかしながら、プレパテント期の感染を診断した際の感度は明らかでない。そこで単包条虫実験感染動物から経時的に採取した糞便を用いて感度の評価を行った。糞便内DNAの抽出には市販の糞便専用カラム（ QIAamp DNA Stool Mini Kit, QIAGEN）を用い、12S rRNA領域を標的部位とするプライマーペア（P60.for/P375.rev）を用いて検出を試みたところ、感染翌日には早くも陽性を示したものの、その後は偽陰性が頻出し、感染27日後までの全感染期間を通じての感度は26%であった。プレパテント期の感染をより正確に診断するためにはDNAの抽出法を改善する必要がある。

［森嶋康之、杉山 広、川中正憲］

7. セルカリア皮膚炎の一例

47 歳，女。主訴：右手背の紅色結節。千葉県松戸市在住。6 月 3 日水田の除草作業を行った。同日より、右手背に紅色丘疹が出現したため、6 月 5 日みさと健和病院皮膚科受診。精査のため、6 月 6 日当科紹介受診。現症：右手背および指背に径1cm までの紫紅色丘疹と浮腫性紅斑が散在。紅斑中央部には刺し口様変化を認めた。病理組織所見：表皮および真皮乳頭層ら上層の著明な浮腫により水疱形成を認め、好中球と赤血球が浸潤。真皮中下

層～脂肪織内に付属器および血管周囲へのリンパ球を主とした細胞浸潤を認めた。虫体は認められなかった。検査所見：CRP 陽性。血算では特別な異常なし。日本住血吸虫セルカリアを用いた間接蛍光抗体法にて陽性。以上よりセルカリア皮膚炎と診断した。水田で作業をした患者の夫も手や下腿に同様の皮疹が同時期に出現していた。水田は近年農薬を使用せずカモ、ムクドリなどの鳥類が多く飛来しており、鳥類住血吸虫によるセルカリア皮膚炎と考えられた。

［河野志穂美・五十棲健（東京警察病院）、川中正憲、庄司道子（みさと健和病院）］

8. *in situ* hybridization による *Entamoeba histolytica* 膿瘍の検出・同定

昨年度、自由生活性アメーバに起因する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。自由生活性アメーバには *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。今年度は寄生性アメーバである赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* に起因する膿瘍を判別するため *in situ* hybridization のプローブを作製した。赤痢アメーバの rRNA 遺伝子（GenBank Acc No. X64142）を自由生活性アメーバと比較し、赤痢アメーバ特異的な領域（1038-1077bp, 1623-1662bp）に相当するプローブを作製した。その結果、固定した培養赤痢アメーバ細胞で特異的な染色像を得ることができ、一方この染色では自由生活性アメーバ特異的なプローブではシグナルは得られなかった。

［中野由美子、泉山信司、八木田健司］

9. マラリア原虫の薬剤耐性モニタリングに関する研究

熱帯熱マラリア原虫の分化増殖の測定、特に分裂体形成能を計測するために、フローサイトメトリー法(Flow cytometry,FCM)を適用し、現行のギムザ染色後に検鏡する方法と比較した。その結果、フローサイトメトリー法で計測したマラリア感染赤血球の蛍光強度の変化とギムザ染色後に顕微鏡を用いて観察計測した赤血球内の熱帯熱マラリア原虫の核数変化は、よく一致することがわかった。また、クロロキン存在下での分裂体形成経過の観察では、強い蛍光を発するマラリア感染赤血球（H-F1）のみが、クロロキンの薬剤作用と相関することがわかった。同調培養 16～24 時間における分裂体形成に対するクロロキンの抑制効果（EC50）は、FCM 及びギムザ法ともに、44 時間培養後に得られるパラシテミアを基準にした 50%増殖抑制効果とよく一致した。さらに FCM はメロゾイト数の計測を可能にし、マラリア原虫の赤血球内ライフサイクルが一周した際に放出されるメロゾイト数は、マラリア原虫の分化増殖能や赤内型マラリア原虫に対する薬剤作用を鋭敏に反映する指標となることが判明した。

［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効果

大型淡水性二枚貝のイケチョウガイを利用した下水処理水等の生物浄化システムを検討しており、本年度はフイールド試験に向けての予備試験を行った。設置予定の下水処理場最終沈殿地において、季節的な水質学的変動はあるものの、それらは貝の生存には影響せず周年にわたる飼育が可能と考えられた。沈殿地でオーバーフローする処理水の上昇圧に対して貝の排泄する糞便は沈降性であり、糞便中に取り込まれた原虫類は、処理水中より除去され得ることが示された。貝による処理水ろ過効率の試算として、沈殿地における処理水量約 1,600ｔ/日、貝のろ過速度 10Ｌ/時、貝の飼育用ケージ（貝 24 個体を収容）を 132 ケージ使用した場合、約 48%の処理水（760t）が貝によりろ過されることが示された。

［泉　敏彦（北海道立衛生研究所）、八木田健司］

2. 循環式浴槽における濁度と過マンガン酸カリウム消費量の推移に関する考察

浴槽水の水質基準は $KMnO_4$ 消費量（有機物汚染）が 25mg/L 以下、濁度が 5 度以下と規定されている。循環式浴槽システムでは有機物汚染対策として“生物ろ過”と称する微生物を繁殖させたろ過槽（活性汚泥層）を設置している。ところがこのろ過層は宿主アメーバの繁殖の場となり、ひいては最大の *Legionella* の供給源となっていることが指摘されている。当該研究では、現行の浴槽水の管理方法を遵守することで $KMnO_4$ 消費量はおよそ５～10mg/L と基準値よりもはるかに低い値をとることを数理モデルにより説明した。すなわち、不要な“生物ろ過”装置を設置することで、煩雑な掃除や洗浄のための余計な経費を掛けていると言うのが現状である。一方、濁度については低い除去能力のろ過装置の設置により基準値を満たすことが示され、浴槽システムの簡素化が宿主アメーバーレジオネラ問題の根本解決につながるものと確信する。現在、入浴施設の営業者に対する啓発活動を展開中である。

［遠藤卓郎、泉山信司、縣邦雄（アクアス（株）つくば総合研究所）］

3. 珪藻土ろ過と塩素管理の併用による循環浴槽水の微生物汚染制御

循環式浴槽におけるレジオネラ汚染問題はバイオフィルム問題と言い換えることができる。主にろ過装置において多量の微生物（細菌－宿主アメーバーレジオネラ）が発生することによる。そこで、使い捨てろ材を用いる珪藻土ろ過装置に着目し、その有効性を検討した。実験条件を、1）ろ材の毎日交換、2）浴槽水への適量の塩素（0.2～0.4 mg/L）注入、3）週 1 回の配管洗浄の励行としたところ、長期間（21 日間）にわたり宿主アメーバを含む微生物汚染が防げることが示された。今後は入浴施設への普及･啓発が重要と考える。

［杉山寛治・大畑克彦（静岡県環境衛生科学研究所）、八木田健司、泉山信司］

特許

水中浮遊粒子のろ過回収用フィルタならびにこれを用いた水中浮遊粒子のろ過回収方法および水質の管理方法（特願 2006-211340）

［遠藤卓郎、泉山 信司］

レファレンス業務

1. 衛生微生物技術協議会レファレンスセンター会議

第 27 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、大前比呂思］

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。

［八木田健司、泉山信司］

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）により実施している。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14検体の検査依頼を受けたが、抗体陽性は4件、陰性は10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抗原：1件、トキソカラ抗原：1件、犬糸状虫抗原：1件、ブタ回虫抗原陽性のケース：2件であった。

［荒川京子、杉山　広、森嶋康之、川中正憲］

国際協力関係業務

Ⅰ．アジア・太平洋地域における三日熱マラリアの疫学と対策に関する国際会議の共催

アジア・太平洋地域において、大きな問題となっており三日熱マラリアの研究や対策のネットワーク作りを進めるため、中国 CDC と共催して、上海にて国際会議を行った。中国、韓国、北朝鮮、インドネシア、フィリピン、タイ、カンボジア、ソロモン諸島国の９カ国から 14 研究機関、さらに WPRO、SEARO、EMRO 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。また、中国や韓国においては、一度マラリアの流行が終息した地域で、再興感染症として三日熱マラリアが問題となっていることが報告され、今後は、熱帯・温帯アジアとも、三日熱マラリアに注目したマラリア対策が重要となることがわかった。

越冬した感染蚊によって三日熱マラリアの流行がおきるアジアの温帯地方においては、媒介蚊の生息状況を定期的にモニタリングしていくことが、再流行の潜在的可能性を検討し、早期警戒を促すうえで重要である。また、熱帯のアジア・太平洋諸国で現在おきている劇的な疫学的変化は、既存の指標や監視体制では正確に捉えることはできず、今後、新しい疫学的指標やモニタリング手法の開発が望まれる。

［大前比呂思］

Ⅱ．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にとして、カンボジア王国や東チモール共和国の寄生虫症対策に協力した。カンボジアにおいては、乾季に１回行う集団治療を 10 年余り継続した結果、メコン住血吸虫の感染

率は１％以下となった。また、感染貝の生息は全く確認されず､近い将来､流行が終息する可能性も指摘された。ただし、国境を直接接しているラオスでは、メコン住血吸虫症対策が遅々として進んでいない。今後は、ラオスからの再侵入も危惧され、国際協力の強化が望まれる。
［大前比呂思］

研修業務

1. 平成 18 年度　特別課程ウイルスコース（国立保健医療科学院主催）にて、赤痢アメーバの ELISA 検査法等の実習を行った。

2. 平成 18 年度　特定研修新興再興感染症技術研修（国立保健医療科学院主催）にて、消化管寄生性原虫類の検査法に関する実習を行った。

3. 平成 18 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。

4. その他、レジオネラの宿主アメーバ検査法、キムチからの寄生虫検査法の実習等、地研からの要請に対して適宜行った。
［八木田健司、泉山信司］

5. 平成18年度特定研修新興再興感染症技術研修において寄生虫検査法に関する講義実習を行った。

6. 地方衛生研究所（青森県、大阪府）に対してエキノコックス症診断法の講義・実習を行った。
［川中正憲、杉山 広、森嶋康之］

7. 初期臨床研修中の研修医を対象とした感染症診療技術向上コースの中で、寄生虫症分野を担当した。特にわが国の診療現場で問題となる可能性がある寄生虫症に関して、診断検査法や疫学的対応を中心に概説した。

8. 希少感染症診断技術研修会において、マラリアに関する部分を担当した。日本及び世界的な疫学的状況変化と診断検査技術の進歩について概説した。また、輸入感染症として留意すべき点、及び今後わが国において再興感染症となる可能性についても考察した。

9. 血液スクリーニング検査向上コース（JICA 主催）において､マラリアに関する部分を担当した｡世界的な疫学的状況変化や診断法の進歩について概説するとともに、輸血感染症としての側面を症例報告もまじえながら解説した。
［大前比呂思］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1. Asakura T., Nakamura S., Ohta M., Une Y., Furuya K.: Genetically unique microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* strain type III isolated from squirrel monkeys. Parasitol. Int., 55, 159-162, 2006
2. Omura M, Furuya K., Kudo S., Sugiura W., Azuma H.: Detecting immunoglobulin M antibodies against microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tubes in sera from healthy and human immunodeficiency virus-infected persons in Japan. Clin. Vaccine Immunol., 14, 168-172, 2007
3. Izumi T., Yagita K., Endo T. and Ohyama T. Detection system of *Cryptosporidium parvum* oocysts by brackish water benthic shellfish (*Corbicula japonica*) as a biological indicator in river water. Arch Environ Contam Toxicol, 51, 559-566, 2006.
4. F. Kura, J. Amemura-Maekawa, K. Yagita, T. Endo, M. Ikeno, H. Tsuji, M. Taguchi, K. Kobayashi, E. Ishii and H. Watanabe.　Outobreak of Legionnaires' disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup5.　Epidemiol. Infect., 134, 385-391, 2006.
5. Katsuhiko Ohata, Kanji Sugiyama, Mitsuaki Suzuki, Rieko Shimogawara, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo : Growth of *Legionella* in Nonsterilized, Naturally Contaminated Bathing Water in a System that Circulates the Water.　IN Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition.　Eds. Nicholas P. Cianciotto et al.　2006 ASM Press, Washington, D.C.
6. Kanji Sugiyama, Katsuhiko Ohata, Mitsuaki Suzuki, Rieko Shimogawara, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo : Inhibition of *Legionella* Growth in Circulating Bathing Water by Filter Refreshment Method Using High Concentration Chlorine. IN Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition.　Eds. Nicholas P. Cianciotto et al.　2006 ASM Press, Washington, D.C.
7. Singh, T.S., Sugiyama, H., Rangsiruji, A. and Devi Kh. R.: Morphological and molecular characterizations of

Paragonimus heterotremus, the causative agent of human paragonimiasis in India. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 38 (Suppl. 1), 41-45, 2007.

8. Sugiyama, H., Morishima, Y., Binchai, S., Rangsiruji, A. and Ketsudat, P.: New form of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand: morphological characteristics and host susceptibility. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 38 (Suppl. 1), 46-50, 2007.
9. Binchai, S., Rangsiruji, A., Ketudat, P., Morishima, Y. and Sugiyama, H.: Molecular systematics of a new form of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 38 (Suppl. 1), 51-55, 2007.
10. Mitra, B.N., Kobayashi, S., Saito-Nakano, Y. and Nozaki, T. : *Entamoeba histolytica*: Differences in phagosome acidification and degradation between attenuated and virulent. Experimental Parasitolology 114, 57-61, 2006.
11. Chigusa,Y., Ohmae, H., Otake, H., Keang, H., Sinuon, M., Saem, C., Socheat, D. and Matsuda, H. : Effects of repeated praziquantel treatment on schistosomiasis mekongi morbidity as detected by ultrasonography. Parasitology Inernational 55, 261-265, 2006.
12. Kushida, S., Ohmae, H., Kamma, H., Totsuka, R., Matsumura, M., Takeuchi, A., Saiki, I., Yanagawa, T., Onizawa, K., Ishii, T. and Ohno, T. : Artificial cytokine storm combined with hyperthermia induces significant anti-tumor effect in mice inoculated with lewis lung carcinoma and B16 melanoma cells. International Journal of Hyperthermia 22, 699-712, 2006.
13. Sinuon, M., Tsuyuoka, R., Socheat, D., Odermatt, P., Ohmae, H., Matsuda, H., Montresor, A. and Palmer, K. : Control of *Schistosoma mekongi* in Cambodia: results of eight years of control activities in the two endemic provinces. Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 101, 34-39, 2007.
14. Nara, T., Iizumi, K., Ohmae, H., Tsubota, S., Inaba, Y., Tsubouchi, A., Tanabe, M., Kojima, S. and Aoki, T. : Antibody isotype responses to paramyosin, a vaccine candidate for schistosomiasis, and their correlations with resistance and fibrosis in patients infected with *Schistosoma japonicum* in Leyte, the Philippines. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 76, 384-391, 2007.
15. Mita, T., Tanabe, K., Takahashi, N., Tsukahara, T., Eto, H., Dysoley, L., Ohmae, H., Kita, K., Krudsood, S., Looareesuwan, S., Kaneko, A., Bjorkman, A. and Kobayakawa, T. Independent evolution of pyrimethamine resistance in *Plasmodium falciparum* isolates in Melanesia. Antimicrobiologic Agents and Chemotherapy 51, 1071-1077, 2007.

2. 和文発表

1. 古屋宏二、遠藤卓郎：クリプトスポリジウム症、健康な子ども、5 月号、28－29、2006.
2. 中村進一、宇根由美、佐藤宏、林谷秀樹、岩田剛敏、古屋宏二、馬場智成、飯田奈都子、大田真莉子、西川香織、野村靖夫：法定検定直後のペット用サル類の病原体保有状況、ＪＶＭ獣医畜産新報、59: 302－304, 2006.
3. 古屋宏二：エンセファリトゾーン症に関する最近の疫学状況と血清診断、エキゾチックペット研究会誌、8: 7－11, 2006.
4. 大橋英二、古屋宏二：ウサギのエンセファリトゾーン症の血清診断と治療法の検討、エキゾチックペット研究会誌、8: 57－59、2006.
5. 八木田健司、泉山信司：生活用水の病原性アメーバ汚染とその健康影響―水系環境のアメーバ汚染, モダンメディア, 52: 252-259, 2006.
6. 遠藤卓郎：提言－新寄生虫事情－ 食品衛生研究. 56(6), 5, 2006.
7. 遠藤卓郎：Ⅲ.物－15.健康関連微生物－15.4 原虫・寄生虫－15.4.1 種類と性状. 水環境ハンドブック. pp.736(453-457), 2006.
8. 遠藤卓郎、黒木俊郎：第 6 章 生物的因子と健康. 環境衛生科学. pp.439(159-184), 2006.
9. 遠藤卓郎、泉山信司、黒木俊郎、橋本 温、小田琢也他：水道の病原微生物対策 金子光美編著 丸善(株) 2 章 原虫、3 章 細菌、 6 章 緊急時の対応. pp.9-69, 158-163,239-247, 2006.
10. 遠藤卓郎、泉山信司、八木田健司：生活用水系環境のアメーバ汚染、化学療法の領域 23(4): 579-582、2007
11. 遠藤卓郎、泉山信司、八木田健司：水泳プールを介したクリプトスポリジウム症感染、化学療法の領域 23(S-1): 148-152, 2007.
12. 川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之：神奈川

県におけるアライグマの駆除とアライグマ回虫の調査．Clinical Parasitology, 17, 57-59, 2006.

13. 平野敬之、増本久人、池添博士、杉元昌志、松﨑祐己、森田満雄、杉山　広、森嶋康之、川中正憲：平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例について．Clinical Parasitology, 17, 60-62, 2006.
14. 杉山　広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之、増本久人、池添博士：平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例：原因の寄生虫学的精査．Clinical Parasitology, 17, 63-66, 2006.
15. 安里龍二、平良勝也、大野 惇、久高 潤、糸数清正、森嶋康之、荒川京子、杉山　広、川中正憲：沖縄県における広東住血線虫感染の危険因子に関する研究．Clinical Parasitology, 17, 70-72, 2006.
16. 太田伸生、赤尾信明、有薗直樹、山田　稔、内川隆一、手越達也、吉田彩子、川中正憲、杉山　広：輸入キムチから検出された寄生虫卵．　Clinical Parasitology, 17, 153-155, 2006.
17. 杉山　広、森嶋康之、荒川京子、川中正憲、平野敬之、増本久人、舩津丸貞幸、藤原義行、池添博士、杉元昌志、松﨑祐己、森田満雄：2004 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例について. 病原微生物検出情報 27, 277-278, 2006.
18. 杉山　広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之、増本久人、池添博士：食中毒事例の原因調査で佐賀県に分布を見出したウェステルマン肺吸虫. 獣医寄生虫学会誌, 5(2), 34, 2006.
19. 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
20. 大前比呂思、 遠藤卓郎、 長谷山路夫、 新妻淳、 飯塚信二、 津田良夫：検疫感染症としてのマラリアをどう捉えるか　Clinical Parasitology 17，127-130, 2006.
21. 大前比呂思：肝吸虫と住血吸虫　－寄生虫 と発癌 －　G.I. Research 14，34-40, 2006.

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1. Singh, T.S.and Sugiyama, H.: Paragonimiasis: an emerging food borne parasitic zoonosis in North East India. Annual Conference of the International Medical Sciences Academy, Lahore, 1-3 October, 2006.
2. Qian, B-Z., Sugiyama, H., Waikagul, J. and Zhu, Z-H.：*Paragonimus* in Zhejiang: Morphology and Molecular Biology.　The seventh Japan-China International Symposium on Health Sciences, Shizuoka, 5-6 November 2006.
3. Sugiyama, H., Morishima, Y., Binchai, S., Rangsiruji, A. and Ketsudat, P.: New form of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand: morphological characteristics and host susceptibility. The fifth seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses, Bangkok, 28-30 November, 2006.
4. Binchai, S., Rangsiruji, A., Ketudat, P., Morishima, Y. and Sugiyama, H.: Molecular systematics of a new form of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand. The fifth seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses, Bangkok, 28-30 November, 2006.
5. Singh, T.S., Sugiyama, H. and Rangsiruji, A.: *Paragonimus* and paragonimiasis in India. The fifth seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses, Bangkok, 28-30 November, 2006.
6. Singh, T.S., Sugiyama, H., Rangsiruji, A. and Devi Kh. R.: Morphological and molecular characterizations of *Paragonimus heterotremus*, the causative agent of human paragonimiasis in India. Joint International Tropical Medicine Meeting 2006, Bangkok, 29 November - 1 December, 2006.
7. Saito-Nakano, Y., Membrane traffic pathways associated with virulence in the enteric protozoan parasite. *Entamoeba histolytica.* 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress. Kyoto, Japan. June, 2006.
8. Asahi, H., Omura M., Izumiyama, S. and Ohmae, H., Identification of components of intraerythrocytic Plasmodium falciparum that interact with growth-promoting agents.　11th International Congress of Parasitology. Glasgow, UK. August, 2006.
9. Ohmae, H., Haseyama, H., Tsuda, Y. and Endo, T., Recent trends of malaria in Japan.　International Conference on Vivax Malaria in Asia and Pacific Area. Shanghai, China.　January, 2007.
10. Ohmae, H., Kamei, K., Nakazawa, M. and Bokote`e, B., Dynamic change of malaria epidemiology and limitation of present indicators in the Solomons. International Conference on Vivax Malaria in Asia and Pacific Area. Shanghai, China.　January, 2007.
11. Saito-Nakano, Y., Kamei, K., Iwagami, M., Komaki-Yasuda, K., Kawazu, S., Kano, S., Tanabe, K.,

Ohmae, H. and Endo, T., Genetic polymorphisms of drug resistant gene in Southeast Asia through imported isolates of *Plasmodium falciparum*. The 1st Thailand-Japan Joint Form of Infectious Diseases. Bangkok, Thailand. January, 2007. (Invited speaker).

2. 国内学会

1. 宇根有美、中村進一、大田真莉子、古屋宏二：国内におけるリスザル *Saimiri sciureus* のエンセファリトゾーン感染症、第 66 回日本寄生虫学会東日本支部大会、平成 18 年 10 月、東京
2. 朝倉登喜子、古屋宏二、泉山信司、八木田健司、中村進一、大田真莉子、宇根有美：リスザル由来ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 遺伝子 III 型のサブタイピング、第 66 回日本寄生虫学会東日本支部大会、平成 18 年 10 月、東京
3. 八木田健司、泉山信司、林 森太郎、高 橋 均、遠藤 卓郎：*In situ* hybridization によるアメーバ性脳炎の鑑別診断法、第 39 回日本原生動物学会大会、平成 18 年 11 月、佐賀
4. 八木田健司、泉山信司、小村麻子、亀岡洋祐 、遠藤 卓郎：*Acanthamoeba* 属の DNA 分類－ミトコンドリア DNA と 18SrDNA によるタイピング、第 76 回日本寄生虫学会大会、平成 19 年 3 月、大阪
5. 高岡紀子、太刀川貴子、八木田健司、遠藤卓郎、松原正男：早期診断によって視機能良好で治癒したアカントアメーバ角膜炎の一例、第 66 回日本寄生虫学会東日本支部大会、平成 18 年、10 月、東京
6. 黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、三宅芳枝、宇根有美、林谷秀樹、中臺文、森哲、黒尾正樹、片山亮、鳥羽通久、森口一、遠藤卓郎：国内に生息するヘビにおけるクリプトスポリジウムの保有、第 57 回全国水道研究発表会、平成 18 年 5 月、長崎
7. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司：クリプトスポリジウム等の原虫類による水系汚染の検査にかかる感染研の支援体制、水環境学会シンポジウム、平成 18 年 9 月、東京
8. 泉山信司、小村麻子、八木田健司、遠藤卓郎：*Cryptosporidium* の分子疫学、日本原生動物学会、平成 18 年 11 月、佐賀
9. 泉山信司、山中俊治、小野更生、遠藤卓郎：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 環境技術学会、 平成 18 年 9 月、滋賀
10. 杉山 広、森嶋康之、村田浩一、川中正憲：東京・神奈川を流れる多摩川での大平肺吸虫の検出. 第 75 回日本寄生虫学会大会、2006 年 5 月、弘前
11. 平野敬之、増本久人、池添博士、杉元昌志、松﨑祐己、森田満雄、杉山 広、森嶋康之、川中正憲：平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例について. 第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
12. 杉山 広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之、増本久人、池添博士：平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例：原因の寄生虫学的精査. 第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
13. 川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之：神奈川県におけるアライグマの駆除とアライグマ回虫の調査. 第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
14. 安里龍二、平良勝也、大野 惇、久高 潤、糸数清正、森嶋康之、荒川京子、杉山 広、川中正憲：沖縄県における広東住血線虫感染の危険因子に関する研究. 第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
15. 太田伸生、赤尾信明、有薗直樹、山田 稔、内川隆一、手越達也、吉田彩子、川中正憲、杉山 広：輸入キムチから検出された寄生虫卵. 第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
16. 杉山 広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之、増本久人、池添博士：食中毒事例の原因調査で佐賀県に分布を見出したウェステルマン肺吸虫. 第 142 回日本獣医学会学術集会、2006 年 9 月、山口
17. 角田高枝、古江裕志、金子 勇、永井信浩、霜田重雄、森 宗昌、六本木隆、桑原英眞、本間 学、川中正憲、杉山 広 :在日外国人固有の食習慣に起因した肺吸虫症の一例. 第 60 回国立病院総合医学会、2006 年 9 月、京都
18. 小山洋伸、遠藤大昌、小林 隆、照屋正則、兼子 晋、竹中芳治、田中穂積、三木健司、小林 薫、森田恒治、清水誠一郎、杉山 広：S 状結腸癌術後に肝腫瘤像を呈した肝毛細虫症の一例. 第 803 回外科集談会、2006 年 11 月、東京
19. 杉山 広、平野敬之、増本久人、池添博士、山中和貴、川上 泰、森嶋康之、川中正憲：佐賀県のウェステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫：食中毒事例の原因調査をきっかけに新たに見出された分布地. 第 76 回日本寄生虫学会大会、2007 年 3 月、大阪
20. 井上貴史、野中成晃、水野文子、森嶋康之、片倉賢、奥祐三郎：北海道のキツネ Vulpes vulpes のミトコンドリア DNA による系統解析、日本哺乳類学会 2006 年度大会、2006 年 10 月、京都
21. 河野志穂美、五十棲健、川中正憲、庄司道子：セルカリア皮膚炎の１例、第 106 回日本皮膚科学会総会、2007

年 4 月、横浜

22. 中野由美子 : 赤痢アメーバの生育に必要なコレステロールの細胞内動態 (Distribution and transport of cholesterol-rich membrane domains in *Entamoeba histolytica*) 第 75 回日本寄生虫学会大会 2006 年 5 月、弘前
23. Asahi, H., Ohmae, H., Williams, D., and Stadecker, MJ Immune responses to novel schistosome egg antigen, SmEP25, in murine *Schistosoma mansoni* infection. 第 75 回日本寄生虫学会大会 2006 年 5 月、弘前
24. 大前比呂思、 亀井喜世子、中澤港、山内太郎、 Bernard Bakote'e : ソロモン諸島におけるマラリア感染状況の変化　第 47 回日本熱帯医学会　2006 年 10 月、長崎
25. 陳甜甜、 仁科朝彦、 久兼直人、 大前比呂思、 石川洋文：ワークショップ：マラリアの疫学と予防　W10-4 クロロキン薬剤耐性を考慮した熱帯熱マラリア伝播モデルの構成：ソロモン諸島を対象として 第 47 回日本熱帯医学会　2006 年 10 月、長崎
26. 勝田啓子、石川洋文、栗原考次、大前比呂思 : マラリア感染に対するヒトの抵抗力を考慮したモデル構築とその統計的評価　日本計算機統計学会　第 20 回シンポジウム 2006 年 10 月、 東京
27. 美田敏宏、田辺和裕、大前比呂思、北潔、小早川隆敏 ： Independent unique evolution of pyrimethamine resistance of *P. falciparum* in Melanesia.　第５回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム　2006 年 10 月、大阪
28. 中野由美子、亀井喜世子、石上盛敏、駒木-安田加奈子、河津信一郎、狩野繁之、田辺和裕、大前比呂思、遠藤卓郎 ： 東南アジアにおける 2000 年以前のクロロキン耐性遺伝子の多型と分布　第 66 回寄生虫学会東日本支部大会 2006 年 11 月、東京
29. 三浦彰子、 新妻淳、 大神田実、 大前比呂思：マラリア感染蚊からの効率的な遺伝子検出法の検討　第９回日本検疫医学会　2007 年１月、名古屋
30. 朝日博子、泉山信司: 赤内型熱帯熱マラリア原虫に対する脂質増殖因子の作用機序　第 76 回日本寄生虫学会　2007 年３月、大阪
31. 中野由美子：赤痢アメーバの細胞膜代謝におけるコレステロールの役割. 第 76 回日本寄生虫学会　2007 年３月、大阪

7. 感 染 病 理 部

部 長　佐 多　徹太郎

概　要

1. 人事等

本年度末の感染病理部の現員は 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 19 年 3 月 31 日に第一室の尾崎泰子主任研究官が退職し、また、第二室の原嶋綾子が定年退職となった。第二室の後補充はないので、感染病理部の定員は 15 名、現員は 14 名となった。内訳は、部長 1 名、室長 4 名、主任研究官 7 名、研究官 2 名となった。第一室の後任は平成 19 年度の採用となる。非常勤職員として盛　公江を平成 18 年 5 月 1 日付けで採用した。また、現在の非常勤職員としては、戸山庁舎の電子顕微鏡室に斉藤典子、田中恵子、村山庁舎の電子顕微鏡室に波多野煜持、片岡紀代が所全体の業務に対応し、戸山庁舎では、ほかに松石みゆき、奥田 薫、天野朱実子、村山庁舎では藤野美穂子が業務を補助している。

2. 感染病理部の研究業務

感染病理部で行われた研究・業務の概要は次のとおりである。

Ⅰ. 感染病理に関する研究
1. ヒト病理検体におけるウイルス感染症に関する研究
2. Real-time PCR を用いたウイルスの網羅的検出法の確立
3. 日本におけるカポジ肉腫の臨床病理学的検討
4. 鳥インフルエンザ剖検肺の病理学的解析
5. 輸入狂犬病例の解析
6. カンボジアにおける上咽頭癌発生と EBV 感染との関連に関する病理学的調査
7. 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. 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
2. 独自の大腸菌内ウイルスゲノム改変系を駆使した HSV 病原性因子の解析
3. 成人 T 細胞白血病（ATL）モデル動物の作製
4. モルモットを用いたサイトメガロウイルス(CMV)関連難聴の病理学的研究
5. ラット継代 SARS-CoV を用いた SARS 発症動物モデルの作製
6. ウエストナイルウイルスの抗原解析
7. ウエストナイルウイルス高病原性機序の解明
8. HIV/SIV に関する研究

Ⅲ. ワクチンに関する研究
1. アジュバント併用経鼻インフルエンザワクチンの開発
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
6. 種痘後の副反応評価動物モデルの構築のための病理学的研究

Ⅳ. プリオンに関する研究
1. BSE 脳内接種サルの組織学的検索
2. ウシ海綿状脳症（BSE）の病理診断に関する研究
3. 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
4. ヒトプリオン病の早期診断系の開発

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. 国際協力関係業務への参加状況

Ⅷ. 品質管理に関する業務への参加状況
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ている。2006 年度、人体由来の検体数は 61 例であった。検索の結果、EB ウイルス 5 例、ヒトヘルペスウイルス 8 型 16 例、他に国内 36 年ぶりの発症となった狂犬病例、ベトナムの鳥インフルエンザ例などを分子生物学的、免疫組織化学的に検索を行った。［佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎］

2．Real-time PCR を用いたウイルスの網羅的検出法の確立

臨床検体において多種類のウイルスを同時に、かつ高感度に検出できる検査系の開発を目指し、real-time PCR を用いた網羅的検出法の確立を試みた。5'-FAM, 3'-TAMRA の蛍光標識プローブを使った TaqMan PCR システムを用い、ヒトに感染し病原性を持つといわれる約 90 種類のウイルスを検出する real-time(RT-)PCR を個々に立ち上げた。これを 96 穴プレート上に配分し、ウイルスを網羅的に検出する系を立ち上げた。ウイルス感染細胞を検体として反応を行ったところ、交差反応なく、各ウイルスを特異的に検出することができた。今後、実用化に向けて、特異性、感度などをさらに検証する。［片野晴隆、佐多徹太郎、加納基史(研究生)］

3．日本におけるカポジ肉腫の臨床病理学的検討

1995 年から 2005 年 11 月までにコンサルテーションされたカポジ肉腫（KS）39 症例につき、年齢、性別、発症部位、病期、HIV 感染、KSHV 感染の有無、genotype などを検討した。平均発症年齢は 49.6 歳、HIV 陽性率は 89%であった。HIV 感染者では全員が男性であり、HIV 非感染者では高齢の女性が多い。皮膚病変の組織学的病期は patch 11 例 plaque12 例 nodular 11 例 であった。免疫組織学的検索では全例が KSHV 陽性であった。近年では早期発見例が増えており KS の認知の広がりと早期診断が可能になったことが窺えた。［菅野隆行、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎］

4．鳥インフルエンザ剖検肺の病理学的解析

ベトナム高病原性 H5N1 型鳥インフルエンザ感染症により死亡した 3 症例について、ホルマリン固定パラフィン包埋肺標本の一部（下気道）を病理学的手法により解析した。発症 6 日後の１症例のみにおいてインフルエンザ A 型抗原が免疫組織化学で検出された。抗原陽性の細胞を同定するために種々の細胞マーカー蛋白の抗体を用いて蛍光二重染色 A し、共焦点レーザー顕微鏡で解析した。インフルエンザ抗原陽性細胞の多くは肺胞上皮細胞であった。一部気管支上皮細胞においてもインフルエンザ抗原が検出された。また肺胞マクロファージからも検出 A された。また CD31 あるいは CD34 陽性の血管内皮細胞にも感染する可能性があることを示唆する結果も得られた。［中島典子、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎］

5．輸入狂犬病例の解析

2006 年 11 月に 2 例のフィリピンに由来する輸入狂犬病患者が国内で 36 年ぶりに発生し、感染研に診断依頼があった。臨床症状より狂犬病が疑われ、唾液の RT-PCR とともに、後頚部皮膚生検組織の病理診断を依頼され、狂犬病ウイルス抗原を真皮内末梢神経に証明した。患者の死後、剖検に出張参加した。剖検材料を検討した結果、全身の神経組織中に狂犬病ウイルス遺伝子とウイルス抗原の存在が認められた。Realtime RT-PCR による狂犬病ウイルスのコピー数に比べ組織中の炎症反応および組織障害の程度も乏しいことが分かった。［飛梅　実、長谷川秀樹、佐藤由子、片野晴隆、中島典子、佐多徹太郎、井上　智・山田康雄(獣医科学部)、中嶋建介(国際協力室)、山本舜悟・岩崎千尋・大野博司・二宮　清(洛和会音羽病院)、高橋華子・相楽裕子・藤田せつ子・林　宏行・吉田幸子(横浜市立市民病院)］

6．カンボジアにおける上咽頭癌発生と EBV 感染との関連に関する病理学的調査

東南アジア地域における各種感染症の病理、疫学調査の一環として、カンボジアにおける上咽頭癌患者 9 例(男性 5 例、女性 4 例：28～72 歳）を対象にして、EBV との関連を病理学的に検討した。同国では、上咽頭癌患者が多く、臨床的にも深刻な問題となっている。方法は、ホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いて、in situ hybridization 法により EBV ゲノム（EBER）を直接検出した。結果は、5 例（55.6%）で陽性を示した。病理組織学的所見は、扁平上皮癌が主体で、1 例で未分化癌を示した。以上の成績から、カンボジアにおける上咽頭癌の発生要因として、EBV 感染が深く関わっていることが推察された。［阿部賢治、佐藤由子、佐多徹太郎、Didier Monchy(パスツール研(カンボジア))、Jean Marc Reynes(パスツール研(カンボジア))］

7．ウイルス肝炎に関する研究

(1) 東南アジアに流行する HCV バリアントに関する分子疫学

タイ南部からカンボジア、ベトナム一帯にかけて、

HCV のゲノタイプ 6 に属すバリアントが流行していることが知られている。世界的に見てもこの地域特有の分布を示す。そこで、ベトナム南部地域を中心として、HCV の分離とその分子疫学、臨床、感染病理学的特徴の解明を行っている。今年度は、210 例の HCV 持続感染患者から、5 ' UTR-core 領域の HCV ゲノムを分離して、更に分子系統樹解析を行ない、その結果からゲノタイプを同定した。6 型に属すバリアントは、70%にも及んだ。また 5 ' UTR-core 領域と NS5B 領域のゲノタイプ成績の食い違いが約 5.5%で存在した。現在、一部症例から分離された 6 型バリアントの full sequence を試みている。得られた HCV Vietnamese isolate は、データベースに登録・公開した。［阿部賢治、Phiet Hoang Pham（ホーチミン医薬大消化器科)、Trinh Thi Ngoc(バックマイ病院熱医臨床研消化器科)、Xuan Lien（パスツール研(カンボジア))］

(2)ベトナム小児における急性および劇症肝炎の要因

東南アジアでは、臨床的に非 B 非 C 型肝炎と診断される症例が多い。そこで、ベトナムの小児でしばしば認められる非 B 非 C 型急性および劇症肝炎の成因を探った。結果は、IgM HAV 抗体が急性肝炎では 18/26（69.2%）、劇症肝炎では 1/ 7（14.3%）で陽性を示した。血中 HAV RNA が急性肝炎 5/26（19.2%）、劇症肝炎 2/7（28.6%）で検出された。さらに HAV ベトナム株の VP1 全領域の塩基配列を決定し、データベースに登録・公開した。VP1-2A 結合領域の分子系統樹解析により、7 株からなるベトナム由来 HAV は、全株ゲノタイプ IA に属したが、タイなどの近隣諸国由来株とは異なった集簇を形成した。この HAV ベトナム株の遺伝的特徴は、初の報告である。同国における小児の劇症肝炎の要因として、HAV が多く関わっていることが示された。［阿部賢治、Le Phuc Hoang（ホーチミン第一小児病院消化器科)、Khanh Truong Huu (ホーチミン第一小児病院感染症科)］

(3)HBV カンボジア株の分子ウイルス学的特徴

カンボジアは、肝炎ウイルス浸淫国とされているが、その実態は不明である。そこで、同国に流行する HBV の分子疫学的特徴を解析した。16 例中 11 例（69%）でゲノタイプ C1、5 例(31%)でゲノタイプ B1 を示した。また 3 例において、3,215 bp からなる full genome sequence を分離し、データベースに登録（AB115551、AB117758、AB117759）公開した。[阿部賢治、Tran Thien Tuan Huy(協力研究員)、Amadou Alpha Sall(パスツール研(カンボジア))、Jean Marc Reynes (パスツール研(カンボジア))］

(4)HBV ゲノタイプ C1 と C2 の迅速鑑別診断法の確立

HBV アジア株の主要なゲノタイプである C は、ベトナム、タイ、ミャンマーに広く分布する株（C1）と日本、韓国、中国に多い株（C2）に大別できることを、我々は初めて報告した。そこで、この 2 型に各々特異的な塩基配列を見出して、PCR 法による迅速・簡便な鑑別診断法を確立した。［阿部賢治、Tran Thien Tuan Huy(協力研究員)］

(5)成因不明劇症肝炎とエリスロウイルス B19 の関連

小児における劇症肝炎は重篤な疾患であり、高い死亡率を示す。しかし、その多くは成因が不明である。そこで、その成因を探った。対象としたのは、小児を主体とした劇症肝炎 28 例とそのコントロール（胆道閉鎖症）19 例である。結果は、肝組織内 B19 DNA が劇症肝炎 10/28（35.7%）に対して、胆道閉鎖症でも 7/19（36.8%）を示し、両群に有意差は認められなかった。しかし、肝内 B19 DNA 陽性者を対象に B19 mRNA を検索したところ、前者では全例に検出されたのに対して、後者では 1 例のみであった。さらに、ほぼ全領域（4561 base）からなる B19 塩基配列を決定し、データベース上に登録・公開した。分子系統樹解析により、NS1 領域において 3 群からなる集簇を形成し、劇症肝炎と胆道閉鎖症は異なった群に各々属した。また NS1 領域では、各群で特有のアミノ酸配列を示した。以上の成績は、B19 感染と劇症肝炎の関連を示唆すると考える。［阿部賢治、木内哲也(名大移植外科)、枝元良広(国立国際医療セ外科)、田中紘一(京大移植外科)］

Ⅱ．ウイルス感染の発症機序に関する研究

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、GFP-PML 発現細胞株を用いて in vitro における HCMV の新規検出系を開発してきた。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。今回、GFP-PML を発現しさらにウイルス分離が可能な細胞株の確立を試み、THP-1 由来の新規細胞株 TH/33 を確立し、この解析プロトコールを検討した。[後藤希代子(協力研究員)、片野晴隆、佐多徹太郎]

2. 独自の大腸菌内ウイルスゲノム改変系を駆使した HSV 病原性因子の解析

近年、単純ヘルペスウイルス（HSV）は基礎分野のみでなく、遺伝子治療ベクターとしても注目されている。いずれにおいても必須となるのは HSV 遺伝子の改変、つまり組換えウイルスの作製である。しかしながら、従来のその過程は煩雑であり、HSV 研究の大きな壁となっていた。我々はこの壁を打破するべく、感染性 HSV 遺伝子全長の大腸菌への保持を試み、成功した。更に、あらゆる変異がより確実に導入可能な大腸菌内での組換え系もいくつか考案し、現在も試行中である。この大腸菌を元に、我々はいくつかの遺伝子をターゲットとして実際、組換えウイルスを作製し解析中である。[田中道子、川口 寧(客員研究員)]

3. 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。本モデルマウスは高齢になると T 細胞性白血病、リンパ腫を発症した。また発症した白血病細胞は免疫不全マウスへの移植が可能で短期間のうちに白血病、リンパ腫を再現した。これらモデルマウスは 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)、長嶋和郎(北大)、山本美江(獣医科学部)、松田潤一郎(獣医科学部)、倉田　毅、佐多徹太郎］

4. モルモットを用いたサイトメガロウイルス(CMV)関連難聴の病理学的研究

聴覚障害は先天性 CMV 感染症の中でも最も頻度の高いものである。CMV による先天性難聴の発症機構を解明することを目的に、モルモットサイトメガロウイルス(GPCMV)の水平および垂直感染モデルにおける GPCMV 感染細胞の局在を免疫組織化学により検討した。その結果、水平および垂直感染ともに、内耳における GPCMV 感染細胞の局在は外リンパ液領域と神経組織に限られ、コルチ器などの感覚器細胞を含む内リンパ液領域への感染は見られなかった。これらの実験結果から、GPCMV 感染における難聴のメカニズムとして、コルチ器周辺の出血等による循環障害、および、神経節の破壊による神経伝導障害が考えられた。[片野晴隆、佐藤由子、佐多徹太郎、倉田 毅、筒井祥博(浜松医大)、前田明彦(高知大)、井上直樹(ウイルス一部)、野沢直樹(ウイルス一部)、野村恭也(東大)]

5. ラット継代 SARS-CoV を用いた SARS 発症動物モデルの作製

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、ラット継代ウイルスを用いて SARS 発症動物モデルの作出を試みた。半年齢と 4 週齢の動物を用いて感染実験を行ったところ、半年齢動物で SARS 類似の呼吸器症状、病理像を確認した。このことから病原性発揮の宿主因子として加齢が関与することが in vivo で明らかとなった。また、肺におけるウイルス量は若齢、成熟動物で差が無いにもかかわらず、炎症性サイトカインの発現が半年齢動物で高かったことから、半年齢動物では過剰な炎症性サイトカイン発現による炎症亢進の結果、病態が悪化すると考えられた。［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(ウイルス一部)、西條政幸(ウイルス一部)、森川 茂(ウイルス一部)］

6. ウエストナイルウイルスの抗原解析

WNV は日本脳炎ウイルス（JEV）と同一血清型群の近縁ウイルスであるため、両ウイルス抗原の異同を解析することは重要である。そこで、フラビウイルス交叉性及び WNV 又は JEV 特異的中和単クローン抗体を用いて、抗原性を検討した。ビリオン構造を崩壊させる界面活性剤処理でフラビ共通抗原は破壊されたが、WNV 中和抗原は維持された。一方、JEV 中和抗原を瓦解させる EDTA 処理では WNV の交叉性・中和抗原とも維持されていた。これらの抗体は免疫ブロットで WNV E 蛋白を認識したことから、WNV にはリニアー中和エピトープの存在する可能性が考えられた。［小島朝人、石川豊数(阪大微研)、佐多徹太郎］

7. ウエストナイルウイルス高病原性機序の解明

現在、ウエストナイルウイルス（WNV）の日本への侵入は認められていない。しかし、日本国内での流行に備えて対応が必要である。そこで、WNV の病態解明、開発した治療薬あるいはワクチンを評価するための動物モデルの作製を試みた。病態比較のため、JEV 感染実験も同時に行った。BALB/c マウスに WNV を感染させた結果、マウスは削痩、沈鬱などの臨床症状を示した。組織学的検索で、これらのマウスの一部に脳炎が見られ、免疫組織化学法により神経細胞に WNV 抗原が検出された。また一部のマウスでは脳炎ではなく腸管病変が見られ、ヒトの病変とは異なる結果が得られた。しかし、今後、神経病変機序を解析する上で、全てのマウスに脳炎

を引き起こすよう動物モデル作製に改善が必要であることが示唆された。[岩田奈織子、永田典代、長谷川秀樹、原嶋綾子、波多野煜持(臨時職員)、佐藤由子、小島朝人、佐多徹太郎]

8. 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

SIV が単球由来細胞の非存在下で神経・グリア細胞にどのように作用するかについて神経・グリア細胞のみから構成されるサル胎仔脳由来前駆細胞培養系を用いて解析した。具体的には VSVG でシュードタイピングした SIVΔE/vsvg を感染（single round infection）させた後、神経・グリア細胞に誘導されるサイトカイン、ケモカイン、シグナル伝達系（MAP キナーゼ系）、アポトーシス関連蛋白の誘導について解析した。感染 24 時間後より SIV 由来蛋白の発現が確認され、培養上清中の MCP-1 値が IP-10 に先立って増加した。細胞中の TNFα－RNA 値は 48 時間後にコントロールと比較して高値となったが、蛋白レベルでは検出感度以下であった。MAPK シグナル伝達系では活性型 ERK が経時的に増加するのがわかった。SIVΔenv/vsvg 感染細胞では、アポトーシス関連蛋白である p53 蛋白の発現と TUNEL 陽性細胞の増加が認められた。[中島典子、吉田洋明(実習生)、佐多徹太郎]

(2) HIV-1 の逆転写、ゲノム組換え機構の解析

HIV-1 の逆転写、ゲノム組換えにおける宿主 topoisomerase I の解析を通じて、出芽における Gag 蛋白の酸化を見出した。ウイルス粒子形成において、Gag タンパク質間にジスルフィド結合が生じ、ダイマー、さらにマルチマー形成を検出した。酸化を低下させる Gag システイン残基ミュータントウイルスは感染性が 10 倍程度低下した。Gag の酸化は感染性において重要な役割を担い、粒子中の genomic RNA へのニック形成などを通じ組換え、変異発生のメカニズムに大きく関与すると考えられた。［高橋秀宗、北川善紀(HS 財団 RR)、飛梅 実］

(3) HIV-1 のゲノム RNA 核外輸送機構の解析

HIV-1 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）分子プローブを使って観察可能とし、HIV-1 Rev の核外輸送を阻害するが、それ以外の核内蛋白の核外輸送は阻害しない薬剤のスクリーニング系を開発することを目的とした。MEK を内在性コントロールとしておくことより、Rev に特異的に作用する薬剤がスクリーニングできるようになった。また恒常活性型 Ran の存在により FRET 値を高めることができ、さらに阻害因子を使用して Rev の機能阻害を評価できる系であることを示した。一方 Rev と恒常活性型 Ran を同じベクターから発現させることにより Rev と Crm1 の会合に由来する高い FRET 値を得ることができ、フローサイトメトリーによるスクリーニング能を向上させた。［飛梅 実、北川善紀(HS 財団 RR)、松田道行(京大院医)、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

ヒト抗レトロウイルス宿主蛋白 APOBEC3G（A3G）は、ウイルス感染の際、ウイルス DNA に G→A 変異を与えて感染性を失活するが、HIV-1 は自身の Vif 蛋白によりその機能を相殺する。臨床分離株由来 Vif 蛋白がサブタイプ別に異なる抗 A3G 活性を示すか否を検討したところ、サブタイプの違いにより、即ち C > (A/G) > B > A >A/E の順で、差異ある感染増強性・G→A 抑制活性を示した。このことから、HIV-1 Vif 蛋白はサブタイプ依存的にレベルの異なる抗 A3G 活性を有することが示唆された。この結果を更なる実験系により確認できれば、それはサブタイプにより HIV-1 の伝播性に強弱がある可能性を内包することとなる。[徳永研三、木ノ本正信(流動研究員)、坂本優子・巽 正志(エイズ研究センター) 、志村まり・石坂幸人(国立国際医療センター)、佐多徹太郎]

(5) APOBEC3 ファミリーによるレトロウイルス及び LINE-1 レトロトランスポゾン抑制効果

ヒトゲノムの 17%を占める非 LTR 型レトロトランスポゾン LINE-1（L1）は各種遺伝子疾患の原因遺伝子と言われている。抗レトロウイルス宿主因子 APOBEC3G を含むヒト APOBEC3（A3）ファミリーがヒト L1 に対して自然免疫活性を示すか否かを検討するため、今回、A3A から A3H までの 7 種類の A3 ファミリー蛋白のクローニングを行い、その抗レトロウイルス活性及びレトロ転位抑制効果を検討した。その結果、7 種類全てのヒト A3 ファミリー蛋白が、実際に L1 レトロ転移抑制効果を示すこと、その活性は抗レトロウイルス活性や細胞内局在性と相関しないこと、また A3G については L1 の逆転写の段階で抑制的に機能している可能性があること等を明らかにした。［木ノ本正信(流動研究員)、菅野隆行、志村まり・石坂幸人(国立国際医療センター) 、佐多徹太郎、徳永研三］

(6)マウス細胞を利用した HIV-1 複製に関与する宿主因子の検索

HIV-1 複製の各段階に必須の宿主因子は数多く報告されてはいるがまだ完全に理解するには至っていない。本研究ではマウス細胞を感染の標的とし、既知のヒト型宿主因子をマウス細胞に導入することにより、endogenous なマウス型因子に対して、ヒト型因子が感染性にどの程度影響を与えるかについて検討した。今回検討を行った 5 つのヒト宿主因子、LEDGF/p75、DDX3、p32、CRM1、RIP は、マウス型の各因子と塩基配列が異なることから活性の違いが予想されたが、これらの因子の過剰発現はマウス細胞における HIV-1 複製にほとんど影響を及ぼさなかった。したがってマウス細胞においてはこれらの蛋白のホモログが充分機能している可能性が推察された。［木ノ本正信(流動研究員)、岸上哲士(理研発生再生科学総合研究センター)、佐多徹太郎、徳永研三］

(7)HIV-1 Vpr による DNA 二重鎖切断誘導

HIV-1 感染による DNA 二重鎖切断（Double Strand Breaks; DSBs）誘導の可能性を検討したところ、in vitro 実験系において DSBs が認められた。次に HIV-1 Vpr 蛋白強発現細胞および Vpr リコンビナント蛋白を用いた実験系においても DSBs が認められ、一方で Vpr の変異型レンチウイルスでは DSBs が著しく抑制されることから、Vpr が DSBs の責任因子の一つであることが示唆された。Vpr 自体にヌクレアーゼ活性は認められなかったが、Vpr は DNA（2 本鎖、1 本鎖）に結合し、特に Vpr C 末端領域が DNA 結合の責任領域であることを認めた。また、C 末端領域を欠失した Vpr は DSBs の誘導能を抑制したことから、Vpr の DNA 結合は、DSBs の必要因子として機能していることが示唆された。［立和名博昭・志村まり・中井智嘉子(国立国際医療センター)、徳永研三、滝沢由政(国立国際医療センター)、佐多徹太郎、胡桃坂仁志(早大理工情報生命工学)、石坂幸人(国立国際医療センター)］

(8)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＋および 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．アジュバント併用経鼻インフルエンザワクチンの開発

アジュバント併用経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発を行っている。アジュバントとして Toll like receptor 3（TLR3）のリガンドである合成二重鎖 RNA を用いることにより気道粘膜に交叉反応性の高い分泌型 IgA 抗体を誘導し変異株に対しても防御効果が得られた。インフルエンザのどの株がパンデミックを起こすかわからない状況で交叉防御能のある粘膜ワクチンは有用である。［長谷川秀樹、一戸猛志(研究生)、川口 晶(研究生)、千葉 丈(東京理科大)、田村慎一(客員研究員)、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

遺伝子導入細胞による組換えワクチン開発では、培地添加牛胎児血清（FBS）由来の牛ウイルス性下痢症ウイルス（BVDV）否定試験が求められる。そこで、FBS 中の BVDV RNA の調査を継続して実施した。直接法或いは T/A クローニング法による遺伝子解析では、米国市販ワクチンと同一塩基配列の BVDV RNA を含む FBS は見出されず、1 例を除く全てが 1 型に分類された。この FBS の 1 例では 1 型と 2 型の RNA が検出された。感受性細胞を入手し、感染性ウイルスの有無を調査しているが、これまで感染性 BVDV の迷入を示唆する結果は得られていない。［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）ワクチン開発のために、中和抗体を誘導するウイルス様粒子（VLP）産生細胞の樹立を目的とした。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後、粒子形態と中和エピトープについて調べた。最も VLP 産生効率の高いシグナルシークエンスから得られた WNV VLP は、平衡蔗糖密度勾配遠

心法で比重＝1.16 及び 1.11 の画分に二相性ピークを示すことが判明した。それぞれのピークにある VLP は形態上、異なってはいるが強い中和活性を有するモノクローナル抗体を使用した ELISA へ同様に反応し、中和エピトープを有すると考えられた。さらに、濃縮した VLP を BALB/c マウスに免疫した血清は中和活性を示した。［高橋秀宗、田中道子、前田才恵(慶応大)、小島朝人、佐多徹太郎、高崎智彦(ウイルス第一部)］

4．おたふくかぜワクチンに関する研究―乾燥弱毒生おたふくかぜワクチンの神経毒力試験における問題点―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―

弱毒生おたふくかぜワクチンの品質管理試験の一つである、神経毒力試験法の改良と開発を目的としてマーモセット科サルにおける、ムンプスウイルス野外分離株（Odate 株）脳内接種 10 日目の感染局在とそれに伴う組織病変について病理学的に解析した。その結果、脳室と脈絡叢の上衣細胞とその周囲の神経膠細胞にウイルス抗原陽性細胞が存在し、これに伴う脳室周囲炎と脈絡膜炎、髄膜炎を組織学的に確認した。その他の臓器においてウイルス抗原は検出されなかった。これらの組織病変はこれまで我々が行った、サルを用いた Odate 株脳内接種による感染実験の結果と同質の病変であり、感受性については同等と考えられた。［永田典代、原嶋綾子、佐多徹太郎、木所 稔・加藤 篤(ウイルス第三部)、斉加志津子(千葉県衛研)］

5．ポリオワクチンに関する研究―ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス（TgPVR21）を用いた Sabin 株由来不活化ポリオワクチン（IPV）の免疫効果に関する研究

開発中の Sabin 株由来 IPV（sIPV）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。免疫―攻撃実験を行うための基礎検討として、14 週齢の TgPVR21 に 2 型、3 型強毒株を 10^6TCID_{50}/2μl/mouse 経鼻投与したが、いずれも 10 匹中 1 匹で発症が認められただけであった。これは、TgPVR21 のポリオウイルス 2，3 型に対する感受性が 1 型より低いためと考えられる。2，3 型の免疫効果を in vivo で調べるためには接種方法の改良あるいは他の TgPVR の系統を選択する必要がある。［永田典代、清水博之・武田直和・小西恭子(ウイルス第二部)、安部 忍((財)日本ポリオ研究所)］

6．種痘後の副反応評価動物モデルの構築のための病理学的研究

乾燥細胞培養痘そうワクチン LC16m8 の安全性リスク評価の一環として、本来は接種禁忌または要注意対象である湿疹またはアトピー性皮膚炎患者およびその既往歴者に対する安全性リスク評価を想定した種痘性湿疹リスク評価動物モデルの構築を試みている。その病理学的解析のための基礎検討として、これまで我々が実施したポックスウイルス感染実験後の動物の皮膚病変を病理学的に再検討した。その結果、サル、ウサギとも皮膚病変におけるポックスウイルス抗原陽性細胞は残存した表皮、ときに毛根、汗腺を含む上皮細胞、表皮直下に浸潤した組織球であった。また、痂皮の壊死部は陰性であった。また、封入体を含む細胞、ウイルス抗原の検出時期は限定されていると考えられた。［永田典代、原嶋綾子、佐藤由子、長谷川秀樹、佐多徹太郎、西條政幸・森川 茂(ウイルス第一部)、網 康至・須崎百合子(動物管理室)］

Ⅳ．プリオンに関する研究

1．BSE 脳内接種サルの組織学的検索

BSE サンプルを脳内接種されたサルについて各種臓器を免疫組織学的検索を行った。その結果、vCJD と同様の所見が得られた。［飛梅 実、佐藤由子、盛 公江(臨時職員)、佐多徹太郎］

2．ウシ海綿状脳症（BSE）の病理診断に関する研究

昨年度から引き続き、ウシ海綿状脳症（BSE）のホルマリン固定ギ酸処理パラフィン包埋脳組織切片から異常型プリオン蛋白質を検出するために、免疫組織化学の高感度化を目的とする immunoAT-tailing（IAT）法の開発において、oligo(dA-dT)標識抗体の物性評価と調製法の標準化を行った。F(ab')2 を還元して oligo(dA-dT)を標識した Fab'-AT と IgG を還元して oligo(dA-dT)を標識した IgG-AT の粒径は、それぞれ平均 7.8 nm、11.2 nm(37℃)であった。また、それら oligo(dA-dT)標識抗体を用いた IAT 法による ELISA では、常法を 1 とした場合、Fab'-AT により 16 倍、IgG-AT により 32 倍の感度向上を認めた。IgG-AT は調製条件によって oligo(dA-dT)標識数の異なる IgG が生成されるため、IgG-AT の品質管理が不可欠である。そこで、IgG に対する oligo(dA-dT)の標識数を定量する方法を確立した。［中島典子、盛 公江(臨時職員)、花木賢一(東大・疾患生命工学セ研究基盤)、佐多徹太郎］

3. 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、松田潤一郎(医薬基盤研)］

4. ヒトプリオン病の早期診断系の開発

クロイツフェルトヤコブ病（CJD）に代表されるプリオン病の診断は、脳組織中よりの異常型プリオンの検出により確定されるが、生検は患者への負担が大きい。CJD では髄液中へ細胞内のシグナル伝達分子である 14-3-3 蛋白質が特異的に放出されることが分かっており、我々はウエスタンブロット法を用いた髄液中 14-3-3 蛋白質濃度測定法を開発し、各病院からの検査依頼に応じている。またこの検査法をさらに簡便かつ迅速、高精度にするためエライザ法を用いた系の開発を現在行っている。［飛梅 実］

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

平成 18 年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 269 検体で、その内訳は感染研内部 142 検体、外部との共同研究 14 検体、外部のみ 113 検体であった。そのうち免疫電顕は 16 検体であった。また、中学生向け食中毒予防教育ビデオ用に NHK に写真を提供した。

また、見学者の対応は 9 日、総勢 137 名にのぼった。内訳は外国 33 名、厚労省等中央省庁関係者 44 名、学生 6 名、国会関係者 24 名、外部見学者 30 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

1. 戸山庁舎透過型電子顕微鏡の運用

平成 18 年度の総依頼件数は 22 件で、EPON 包埋検体数 19 検体（173 ブロック）、ネガティブ染色検体数 50 検体であった。ネガティブ染色としては主に HCV 粒子、HPV－VLP、プリオンタンパクの配列を有する合成ペプチドについて行った。サル由来骨髄感染細胞ではフォーミーウイルス粒子が観察された。狂犬病患者の脳（京都、横浜）から狂犬病ウイルスが観察された。HIV 粒子中におけるコア、gag 及び env 蛋白の局在の観察（免疫電顕）は引き続き行っている。［田中恵子(臨時職員)、佐多徹太郎］

2. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡の運用

本年度の総依頼件数は 15 件であり、透過電子顕微鏡利用は 15 件、走査電子顕微鏡は 2 件であった（2 件重複）。依頼者は感染病理部の他、細菌第二部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、エイズセンターであり、昨年度と件数はほぼ変わらない。論文掲載件数は 2 件であった。このほか、数件の外部からの電子顕微鏡写真提供の依頼があった。［片岡紀代・波多野煜持(臨時職員)、永田典代、佐多徹太郎］

Ⅶ．国際協力関係業務への参加状況

参加者	種別	項目	期間
阿部賢治	共同研究	ベトナム・ホーチミン医科薬科大学病院、ホーチミン第一小児病院、チョーライ病院、パスツール研究所での病理、血清、ウイルス、遺伝子診断技術の現地指導	2007.6.29-7.16 2007.3.9-3.16
徳永研三	研修	ベトナム研修員への講義（国立感染症研究所・JICA）	2007.3.13-

Ⅷ. 品質管理に関する業務への参加状況

1. 検定検査

(1) おたふくかぜワクチン神経毒力試験の病理試験を 1 ロット行った。最初の試験で通常と異なる病変が得られたので再試験を実施した。再試験で異常病変は再現性があり、本ロットは不合格と判定した。
［永田典代、岩田奈織子、菅野隆行、飛梅 実、徳永研三、長谷川秀樹、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎］

(2) 肺炎球菌ワクチンの異常毒性否定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、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎］

(3) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構より、医療品製造所の GMP 調査における専門的見解の提示のた

めの同行を依頼され、平成 18 年 11 月 28 日から 12 月 1 日まで GMP 査察に同行した。［永田典代］

2．行政検査

2006 年度には７例の BSE 擬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、1 例の BSE 陽性を摘発した。また、岡山県食肉衛生検査所の協力により、諸臓器の検索を行うことができた。［佐藤由子、盛　公江(臨時職員)、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) Tachiwana H, Shimura M, Nakai-Murakami C, Tokunaga K, Takizawa Y, Sata T, Kurumizaka H, Ishizaka Y: HIV-1 Vpr induces DNA double-strand breaks. Cancer Res 66: 627-631, 2006.

2) Maeda M, Sawa H, Tobiume M, Tokunaga K, Hasegawa H, Ichinohe T, Sata T, Moriyama M, Hall WW, Kurata T, Takahashi H: Tristetraprolin inhibits HIV-1 production by binding to genomic RNA. Microb Infect 8: 2647-2656, 2006.

3) Ueno T, Eizuru Y, Katano H, Kurata T, Sata T, Irie S, Ogawa-Goto K: Novel real-time monitoring system for human cytomegalovirus-infected cells in vitro that uses a green fluorescent protein-PML-expressing cell line. Antimicrob Agents Chemother 50: 2806-2813, 2006.

4) Kato A, Yamamoto M, Ohno T, Tanaka M, Nishiyama Y, Kawaguchi Y: Herpes simplex virus 1-encoded protein kinase UL13 phosphorylates viral Us3 protein kinase and regulates nuclear localization of viral envelopment factors UL34 and UL31. J Virol 80: 1476-1486, 2006.

5) Hasegawa H, Sawa H, Lewis M, Orba Y, Sheehy N, Yamamoto Y, Ichinohe T, Tsunetsugu-Yokota Y, Katano H, Takahashi H, Matsuda J, Sata T, Kurata T, Nagashima K, Hall WW: Development of Thymus-Derived T-cell Leukemia/Lymphoma in Mice Transgenic for the Tax gene of Human T-Lymphotropic Virus Type-I (HTLV-I). Nat Med 12: 466-472, 2006.

6) Takahashi H, Maeda M, Sawa H, Hasegawa H, Moriyama M, Sata T, Hall WW, Kurata T: Dicer and positive charge of proteins decrease the stability of RNA containing the AU-rich element of GM-CSF. Biochem Biophys Res Commun 340: 807-814, 2006.

7) Huy TTT, 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: Characteristic of hepatitis B virus in Ghana: Full length genome sequences indicates the endemicity of genotype E in West Africa. J Med Virol 78: 178-184, 2006.

8) Ichinohe T, Ito S, Kawaguchi A, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Moriyama M, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H: Protection against influenza virus infection by intranasal vaccine with Surfclam Powder as a mucosal adjuvant. J Med Virol 78: 954-963, 2006.

9) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S: Monkeypox Highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, that lacks expression of B5R membrane protein protects monkeys from monkeypox. J Virol 80: 5179-5188, 2006.

10) Satoh M, Kaneko A, Kokaze A, Katano H, Sata T: Seroprevalence of human herpesvirus 8 in the Vanuatu islands in eastern Melanesia. Jpn J Infect Dis 59: 63-65, 2006.

11) Iwata N, Sato Y, Higuchi Y, Nohtomi K, Nagata N, Hasegawa H, Tobiume M, Nakamura Y, Hagiwara K, Furuoka H, Horiuchi M, Yamakawa Y, Sata T: Distribution of PrPSc in Cattle with Bovine Spongiform Encephalopathy Slaughtered at Abattoirs in Japan. Jpn J Infect Dis 59: 100-107, 2006.

12) Asahi-Ozaki Y, Itamura S, Ichinohe T, Strong P, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Moriyama M, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H: Intranasal administration of adjuvant-combined recombinant influenza virus HA vaccine protects mice from the lethal H5N1 virus infection. Microb Infect 8: 2706-2714, 2006.

13) 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. Adv Exp Med Biol 581: 515-518, 2006.

14) Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Mizutani T, Morikawa S, Tashiro M, Suzuki T, Taguchi F, Takemori T, Miyamura T, Tsunetsugu-Yokota Y: Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Adv

Exp Med Biol 581: 593-596, 2006.

15) Kamachi K, Sota M, Tamai Y, Nagata N, Konda T, Inoue T, Top EM, Arakawa Y: Plasmid pBP136 from Bordetella pertussis represents an ancestral form of IncP-1beta plasmids without accessory mobile elements. Microbiology 152: 3477-3484, 2006.

16) 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.

17) Arita M, Nagata N, Sata T, Miyamura T, Shimizu H: Quantitative analysis of poliomyelitis-like paralysis in mice induced by a poliovirus replicon. J Gen Virol 87: 3317-3327, 2006.

18) 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.

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

20) 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.

21) Huy TTT, Ushijima H, Sata T, Abe K: Genomic characterization of HBV genotype F in Bolivia: Genotype F subgenotypes correlate with geographic distribution and T1858 variant. Arch Virol 151: 589-597, 2006.

22) Abe K, Li T-C, 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 Tropical Med and Public Health 37: 90-95, 2006.

23) Abe Y, Matsubara D, Gatanaga H, Oka S, Kimura S, Sasao Y, Saitoh K, Fujii T, Sato Y, Sata T, Katano H: Distinct expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded proteins in Kaposi's sarcoma and multicentric Castleman's disease. Pathol Int 56: 617-624, 2006.

24) Asahi-Ozaki Y, Sato Y, Kanno T, Sata T, Katano H: Quantitative analysis of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) in KSHV-associated diseases. J Infect Dis 193: 773-782, 2006.

25) Dewan MZ, Terunuma H, Toi M, Tanaka Y, Katano H, Deng X, Abe H, Nakasone T, Mori N, Sata T, Yamamoto N: Potential role of natural killer cells in controlling growth and infiltration of AIDS-associated primary effusion lymphoma cells. Cancer Sci 97: 1381-1387, 2006.

26) Hishima T, Oyaizu N, Fujii T, Tachikawa N, Ajisawa A, Negishi M, Nakamura T, Iwamoto A, Hayashi Y, Matsubara D, Sasao Y, Kimura S, Kikuchi Y, Teruya K, Yasuoka A, Oka S, Saito K, Mori S, Funata N, Sata T, Katano H: Decrease in Epstein-Barr virus-positive AIDS-related lymphoma in the era of highly active antiretroviral therapy. Microb Infect 8: 1301-1307, 2006.

27) 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.

28) Kanno T, Sato Y, Sata T, Katano H: Expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded K10/10.1 protein in tissues and its interaction with poly(A)-binding protein. Virology 352: 100-109, 2006.

29) Minoda H, Usui N, Sata T, Katano H, Serizawa H, Okada S: Human Herpesvirus-8 in Kaposi's Sarcoma of the Conjunctiva in a Patient with AIDS. Jpn J Ophthalmol 50: 7-11, 2006.

30) Yanagisawa Y, Sato Y, Asahi-Ozaki Y, Ito E, Honma R, Imai J, Kanno T, Kano M, Akiyama H, Sata T, Shinkai-Ouchi F, Yamakawa Y, Watanabe S, Katano H: Effusion and solid lymphomas have distinctive gene and protein expression profiles in an animal model of

primary effusion lymphoma. J Pathol 209: 464-473, 2006.

31) Dewan MZ, Uchihara J, 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.

32) Yamada F, Ueda F, Ochiai Y, Mochizuki M, Shoji H, Ogawa-Goto K, Sata T, Ogasawara K, Fujima A, Hondo R: Invasion assay of Listeria monocytogenes using Vero and Caco-2 cells. J Microbiol Methods 66: 96-103, 2006.

33) Ishak R, Martins RN, Machado LF, Vallinoto AC, Lobato L, Sata T, Ishak MO: The descriptive and molecular epidemiology of HHV-8 among population groups of the Amazon region of Brazil. Braz J Infect Dis 9: 436, 2005.

34) Mori S, Takeuchi T, Enomoto Y, Kondo K, Sato K, Ono F, Iwata N, Sata T, Kanda T: Biodistribution of a low dose of intravenously administered AAV-2, 10, and 11 vectors to cynomolgus monkeys. Jpn J Infect Dis 59: 285-293, 2006.

2．和文発表

1) 田中道子、佐藤由子、佐多徹太郎：ヘルペスウイルス感染症の病理．日本臨床増刊号 64: 49-54, 2006.

2) 菅野隆行、片野晴隆、佐多徹太郎：KSHV の感染と増殖機構．ヘルペスウイルス学―基礎・臨床研究の進歩．日本臨床増刊号 64: 547-551, 2006.

3) 尾崎泰子、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎：KSHV 感染症の診断．ヘルペスウイルス学―基礎・臨床研究の進歩．日本臨床増刊号 64: 621-624, 2006.

4) 片野晴隆、佐藤由子、佐多徹太郎：カポジ肉腫．ヘルペスウイルス学―基礎・臨床研究の進歩．日本臨床増刊号 64: 668-672, 2006.

5) 佐多徹太郎：実践バイオテロ対策マニュアル．感染症 212：18-23, 2006.

Ⅱ．学 会 発 表

1．国際学会

1) Tachiwana H, Nakai-Murakami C, Hoshino S, Shimura M, Taguchi T, Kurumizaka H, Tokunaga K, Sata T, and Ishizaka Y: HIV-1 Vpr induces DA double-strand breaks. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, May 2006, New York, USA.

2) Nakajima N, Sata T: Simian immunodeficiency virus infection in simian fetal brain progenitor cells and microglial cells. 7th International Simposium on NeuroVirology, May 2006, Philadelphia, USA.

3) Hasegawa H: Development and characterisation of a model of adult T-cell Leukemia/Lymphoma (ATLL) in mice. HTLV European Research Network, May 2006, Verona, Italy.

4) Katano H, Sato Y, Tsutsui Y, Sata T, Maeda A, Nomura Y, Kurata T: Pathogenesis of guinea pig cytomegalovirus-associated labyrinthitis in a guinea pig model. 31th International Herpesvirus Workshop, July 2006, Seattle, USA.

5) Shimura M., Toyoda Y, Kinomoto M, Tachiwana H, Tokunaga K, Kurumizaka H, Yoda K, Yanagida M, Sata T, Ishizaka Y: HIV-1 Vpr Causes Aberrant Sister Chromatid Separation. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, July 2006, Kyoto, Japan.

6) Ueno T, Katano H, Eizuru Y, Kurata T, Sata T, Irie S, Ogawa-Goto K: A novel real-time monitoring system for HCMV-infected cells in vitro using a GFP-PML-expressing cell line. 31st International Herpesvirus Workshop, July 2006, Seattle, USA.

7) Ueno T, Eizuru Y, Katano H, Kurata T, Sata T, Irie S, Ogawa-Goto K: Establishment of a novel drug susceptibility test using a GFP-PML imaging assay. 31st International Herpesvirus Workshop, July 2006, Seattle, USA.

8) Hasegawa H, Ichinohe T, Tamura S, Komase K, Ishikawa T, Strayer D, Carter W, Mitchell W, Sata T, Kurata T: The TLR3 agonist, PolyI:PolyC12U, provides nasal adjuvant activity to a vaccine directed against highly pathogenic H5N1 avian influenza virus. Influenza Vaccine for the World, October 2006, Vienna, Austria.

9) Kinomoto M, Shimura M, Ishizaka Y, Sata T, Tokunaga K: Differential inhibitory activities of APOBEC3 family proteins on retroviruses and LINE-1 retrotransposon. 3rd Dominique Dormont International Conference on "Host pathogen interactions in chronic infections," December 2006, Bordeaux, France.

10) Hasegawa H, Ichinohe T, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Ami Y, Suzaki Y, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata

T: Intranasal immunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist, PolyI:PolyC_{12}U protects cynomolgus monkey against HPIV challenge. Keyston symposium, December 2006, Singapore.

11) Ichinohe T, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T, Hasegawa H: Intranasal immunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist, PolyI:PolyC_{12}U protects mice against homologous and hetelorogous challenge. Keyston symposium, December 2006, Singapore.

12) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Harashima A, Sato Y, Fukushi S, Saijo M, Morikawa S, Sata T: Animal models of severe acute respiratory syndrome using rodent-passaged SARS-CoV. Keystone Symposia: Respiratory viruses of animal causing disease in humans, December 2006, Singapore.

2．国内学会

1) 田口 崇、Gruss OJ、木ノ本正信、志村まり、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 期染色体の異常と Ran の機能解析．第 23 回染色体ワークショップ（広島）2006 年 1 月

2) 徳永研三：HIV セミナー．神戸理化学研究所・発生再生科学総合研究センターセミナー（神戸）2006 年 3 月

3) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎：SARS コロナウイルス感染動物モデルにおける肺病変．第 95 回日本病理学会総会（東京）2006 年 4 月

4) 片野晴隆、森 茂郎、佐多徹太郎：HIV インテグレーションにより発症した STAT3 関連リンパ腫．第 95 回日本病理学会総会（東京）2006 年 4 月

5) 片野晴隆、比島恒和、小柳津直樹、藤井丈士、林 幸子、松原大祐、笹尾ゆき、斉藤 澄、森 茂郎、船田信顕、佐多徹太郎：エイズ関連リンパ腫の臨床病理学的解析．第 95 回日本病理学会総会（東京）2006 年 4 月

6) 菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆：カポジ肉腫の臨床病理学的検討．第 95 回日本病理学会総会（東京）2006 年 4 月

7) 藤原ゆり、寺嶋一夫、片野晴隆、横島一彦、中溝宗永、劉愛民、横山宗伯、恩田宗彦、石渡俊行、八木聡明、杉崎祐一、内藤善哉：濾胞樹状細胞肉腫に認めた MTRS と ER の意義．第 95 回日本病理学会総会（東京）2006 年 4 月

8) 坂元一葉、比島恒和、林 幸子、根岸昌功、片野晴隆、堀口慎一郎、船田信顕：Multicentric Castleman's disease（MCD）を背景に発症した HHV-8-associated plasmablastic lymphoma の一例．第 95 回日本病理学会総会（東京）2006 年 4 月

9) 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：成人 T 細胞白血病（ATL）モデルマウスの解析．第 95 回日本病理学会学術集会（東京）2006 年 4 月

10) 片野晴隆：エイズ関連リンパ腫における EBV 陽性率の減少．第 3 回 EB ウイルス研究会（名古屋）2006 年 6 月

11) 片野晴隆：HHV-8 とリンパ増殖性疾患．第 13 回ヘルペス感染症フォーラム（札幌）2006 年 8 月

12) 永田典代、清水博之、安部 忍、長谷川秀樹、佐多徹太郎、倉田 毅：ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス（TgPVR21）を用いた Sabin 株由来不活化ポリオワクチン（IPV）の免疫効果に関する研究. 第 10 回日本ワクチン学会総会（大阪）2006 年 10 月

13) 一戸猛志、田村慎一、板村繁之、小田切孝人、田代眞人、千葉 丈、倉田 毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：アジュバント併用経鼻 H5N1 高病原性鳥インフルエンザワクチンの交叉防御効果の検討．第 10 回日本ワクチン学会学術集会（大阪）2006 年 10 月

14) 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：宿主因子 APOBEC3G に対する HIV-1 Vif の抑制活性の多様性. 第 54 回日本ウイルス学会総会（名古屋）2006 年 11 月

15) 徳永研三、木ノ本正信、志村まり、石坂幸人、佐多徹太郎：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．第 54 回日本ウイルス学会総会（名古屋）2006 年 11 月

16) 木ノ本正信、岸上哲士、佐多徹太郎、徳永研三：マウス細胞を利用した HIV-1 複製に関与する宿主因子の検索．第 54 回日本ウイルス学会総会（名古屋）2006 年 11 月

17) 木ノ本正信、阿部賢治、鈴木哲朗、倉田 毅、佐多徹太郎、徳永研三：G 型肝炎ウイルス（GBV-C/HGV）産生系の樹立．第 54 回日本ウイルス学会総会（名古屋）2006 年 11 月

18) 木ノ本正信、岸上哲士、佐多徹太郎、片野晴隆、徳永研三：KSHV と HIV-1 の重感染における分子機構についての研究．第 54 回日本ウイルス学会総会（名

古屋）2006 年 11 月

19) 上野智規、片野晴隆、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 モニタリング法．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

20) 飛梅 実、小島朝人、佐多徹太郎：HIV-1 の膜融合部位の感染性に与える影響についての解析．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

21) 吉田洋明、中島典子、佐多徹太郎：SIV 感染によりミクログリア、神経・グリア細胞に誘導されるサイトカイン・ケモカインの解析．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

22) 花木賢一、中島典子、大岡静衣、野本明男、佐多徹太郎：Oligo(dA-dT)標識抗体の調整と診断法への応用．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

23) 田中道子、川口 寧、佐多徹太郎：HSV-1 UL7 の解析．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

24) 川口 晶、一戸猛史、澤 洋文、岡田義昭、千葉 丈、倉田 毅、佐多徹太郎、William W.Hall、長谷川秀樹：成人 T 細胞白血病リンパ腫(ATLL)モデルマウスにおけるケモカインの発現とその機能解析．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

25) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川 茂、佐藤由子、佐多徹太郎：マウス、ラット馴化 SARS-CoV を用いた SARS 発症動物モデルの作製. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

26) 長谷川秀樹、一戸猛志、網 康至、永田典代、川口晶、岩田奈織子、須崎百合子、田村慎一、二宮 愛、今井正樹、小田切孝人、田代眞人、倉田 毅、佐多徹太郎：カニクイザルを用いた高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)経鼻ワクチンによる感染防御．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

27) 一戸猛志、伊藤智史、田村慎一、二宮 愛、今井正樹、小田切孝人、田代眞人、千葉 丈、倉田 毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：自然免疫による高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)の感染抑制効果．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

28) 一戸猛志、田村慎一、二宮 愛、今井正樹、小田切孝人、田代眞人、千葉 丈、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交叉防御効果の検討．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

29) 西條政幸、網 康至、須崎百合子、永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、倉根一郎、佐多徹太郎、倉田 毅、森川 茂：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．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

30) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川 茂、佐藤由子、佐多徹太郎：マウス、ラット馴化 SARS-CoV を用いた SARS 発症動物モデルの作製. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

31) 有田峰太郎、永田典代、佐多徹太郎、脇田隆字、清水博之：ポリオ様麻痺の発症に関する定量的解析．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

32) 田口文広、永田典代、岩田奈織子、網 康至：呼吸器系細菌と SARS ウイルスとの混合感染によるマウスの重症肺炎に関する研究．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

33) 木所 稔、西條政幸、網 康至、須崎百合子、永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、志田 利、田代眞人、佐多徹太郎、倉根一郎、倉田 毅、森川 茂：改良型痘そうワクチン株 m8Δ のカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

34) 高橋秀宗、前田才恵、田中道子、佐多徹太郎、小島朝人：ウエストナイルウイルスサブユニットワクチンの開発　第 54 回日本ウイルス学会総会. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

35) 北川善紀、前田才恵、佐多徹太郎、高橋秀宗：HIV-1 出芽以降における Gag 蛋白のジスルフィド結合形成．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

36) 片野晴隆、佐藤由子、筒井祥博、佐多徹太郎、前田明彦、野沢直樹、井上直樹、倉田 毅：モルモットサイトメガロウイルスを用いた実験的ウイルス性内耳障害．第 54 回日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

37) 加納基史、佐多徹太郎、片野晴隆：Real-time PCR を用いたウイルスの網羅的検出法の確立．第 54 回

日本ウイルス学会学術集会（名古屋）2006 年 11 月

38) 志村まり、豊田雄介、木ノ本正信、徳永研三、依田欣哉、柳田充弘、佐多徹太郎、石坂幸人：HIV-1 Vpr による姉妹染色分体の早期分離異常．第 29 回日本分子生物学会（名古屋）2006 年 12 月

39) 木ノ本正信、志村まり、石坂幸人、佐多徹太郎、徳永研三：ヒトレトロトランスポゾン LINE-1 に対する DNA 編集酵素 APOBEC3 の抑制効果. 第 29 回日本分子生物学会（名古屋）2006 年 12 月

8．免　疫　部

部長　小林和夫

概　　要

当部は感染症における病原体―宿主関係を宿主応答の視点から制圧研究を推進している。「研究室で得られた研究成果を医療や社会に還元し、すなわち、translational research（橋渡し研究）を推進し、健康増進や感染症による健康被害の減少」を究極の目標として、部員一同、邁進している。また、国立感染症研究所において、免疫部は感染免疫の学問領域から所内横断的協力体制に、加えて、人材育成や国際化に対応するため、研修や国際協力にも参加している。

免疫部では、ウイルス、細菌、原虫・寄生虫やプリオンなど、多種多様な病原体感染症に関する研究、さらに、免疫担当細胞の発生や分化に関する研究を実施した。また、品質管理に関する業務、国際協力関係業務、研修業務や共同大型利用機器管理にも寄与した。

免疫部で実施された研究・業務の概要は以下のとおりである。

調査・研究
I. ウイルス感染症
１．HIV の増殖制御と病態に関する研究
２．インフルエンザに関する研究
３．C 型肝炎ウイルス感染に関する研究
II. 細菌感染症
１．抗酸菌感染症に関する研究
２．歯周病菌の病原性因子に関する研究
３．劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究
４．細菌の運動性に関する分子機序
５．破傷風毒素の神経受容体に関する研究
III. 原虫・寄生虫感染症
１．内蔵リューシュマニア症の防御免疫に関する研究
２．マラリアの感染防御に関する研究
３．マンソン住血吸虫感染防御に関する研究
IV. プリオン病
１．異常プリオン蛋白質に関する研究
V. 骨髄不全症に関する研究
１．難治性疾患の造血幹細胞に関する研究
VI. 免疫機能に関する研究
１．プレ B 細胞受容体の機能に関する研究
２．カドヘリン遺伝子欠損マウスにおけるＢ細胞分化および抗体応答に関する研究
品質管理に関する業務
国際協力関係業務
研修業務
共同大型利用機器管理

人事異動では、平成 18 年 7 月に小林和夫が大阪市立大学大学院医学研究科から免疫部長として採用された。また、平成 19 年 2 月に大原直也が長崎大学大学院医歯薬学総合研究科から第四研究室長、平成 19 年 3 月に岡部真裕子が大阪大学大学院生命機能研究科から第四研究室研究員として採用された。

業　　績

調査・研究

I. ウイルス感染症

１．HIV の増殖制御と病態に関する研究

（１）nef 遺伝子特異的な shRNA を用いた HIV-1 増殖制御

3’LTR に重複する Nef 遺伝子の 366 番目の領域の small hairpin (sh)Nef366 発現レンチウイルスを作製した。Lenti shNef366 は RNA interference(RNAi)効果により T 細胞での HIV-1 増殖を抑制した。そこで慢性 HIV 感染者で欠如している Gag 特異的 CD4 陽性 T 細胞の増殖が HIV 増殖抑制によって回復するかどうかを検討した結果、Lenti shNef366 による HIV 増殖抑制は血中ウイルス量の高い慢性 HIV 感染者の Gag 特異的 CD4 陽性 T 細胞の増殖を回復させることが明らかとなり、Lenti ウイルスを用いた遺伝子治療の有用性が示唆された。［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)、井上純一郎 (東大医科学研究所・ウイルス制御)、横田恭子］

（２）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

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として、minimal IFN-γプロモーターの下流に ß-lactamase を発現するレンチウイルスを作製した。

この系は、蛍光を発する CCF2-AM 基質が ß-lactamase に切断されて蛍光波長が変化することを利用して(FRET)生細胞で IFN-γプロモーター活性を解析するものである。実際、自発的に増殖する IFN-γ持続産生 CD4 陽性 T 細胞クローンにこのレンチウイルスを感染させ、FRET と組合わせた多重染色 FACS 解析が可能であることが明らかとなった。［山本拓也(東大医科研博士課程・研究生)、水越文徳(エイズ予防財団リサーチレジデント)、立川　愛 (東大医科研・先端医療研究センター・感染症)、岩本愛吉 (東大医科研・先端医療研究センター・感染症)、井上純一郎(東大医科研・ウイルス制御)、横田恭子］

（３）HIV-Nef 発現による免疫不全発症の解明

HIV-Nef 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 陽性 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、T 細胞遊走活性障害、また、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 陽性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 陽性 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、加地友弘 (協力研究員)、竹森利忠 (理研)］

２．インフルエンザに関する研究

（１）高病原性鳥インフルエンザ（H5NI）の研究に有用なモノクローナル抗体の作製

H5N1 型インフルエンザのワクチン品質管理あるいは診断に有用なモノクローナル抗体を作製するため、UV 照射あるいはホルマリンで不活化したワクチン株（NIBRG-14：ベトナム由来）ウイルス精製粒子をマウスに 3 回免疫した。ELISA で NIBRG-14 に反応して PR8(H1N1)に反応しないクローンを選択し、最終的に H5 型 HA に特異的に反応するクローン 6 個と NA に反応するクローン 1 個を樹立した。HA に反応するクローン 6 個のうち、2 つはクレードの異なるインドネシア由来ウイルス株には反応せず、クレード１特異的抗体と考えられる。［横田恭子、大西和夫、高橋宜聖、平山中巳、阿戸　学、大島正道、光木裕也 (東京医歯大博士課程・研究生)、水越文徳 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、山本拓也(東大医科研博士課程・研究生)、小林和夫］

（２）新型インフルエンザ用ワクチンが惹起する感染防御機構の解析

新型インフルエンザ用ワクチン（NIBRG-14）が惹起する感染防御機構を明らかにする目的で、NIBRG-14 ワクチン接種マウスから、血清とリンパ節細胞を調製し、様々な組み合わせで先天的リンパ球欠損（scid）マウスに移入した。その結果、リンパ球を移入した scid マウスでは、強毒株の攻撃実験に対するマウス生存率の改善が認められない一方で、血清を移入した scid マウスは完全に耐過することが明らかとなった。またヘマグルチニンとノイラミニダーゼのみが異なる PR8 の不活化全粒子を接種したマウス血清では、感染防御効果が付与されないことから、ヘマグルチニンあるいはノイラミニダーゼに対する血清抗体が感染防御に必須な因子であることが判明した。［高橋宜聖、阿戸　学、二宮　愛 (ウイルス第三部)、小田切孝人 (ウイルス第三部)、田代眞人 (ウイルス第三部)、小林和夫］

（３）新型インフルエンザ用ワクチンが惹起する感染防御抗体の作用機構の解析

新型インフルエンザ用ワクチン（NIBRG-14）を接種したマウスでは、従来の中和試験で測定した中和抗体価と生体内での感染防御抗体価とのずれが報告されているものの、その原因は明らかにされていない。本研究では、蛍光標識ウイルス粒子を用いて、ウイルス粒子の細胞付着を定量する方法を確立し、感染防御抗体による細胞付着の阻害効果を検討した。その結果、NIBRG-14 ワクチンが惹起する感染防御抗体は、ウイルス粒子の細胞付着をほとんど阻害しないことが判明した。しかし、血清に含まれる熱失活性の因子により、付着阻害活性が増強されたことから、試験管内の中和抗体価と生体内での感染防御抗体価の相違は、この因子の有無に起因する可能性が示唆された。［高橋宜聖、原ゆかり (実習生)、二宮　愛 (ウイルス第三部)、小田切孝人 (ウイルス第三部)、田代眞人(ウイルス第三部)、小林和夫］

（４）組換えヘマグルチニンタンパクを用いたインフルエンザウイルス特異的な B 細胞応答の解析

インフルエンザウイルスに対する防御免疫反応では、

液性免疫が中心的な役割を担う。しかし、これまでインフルエンザウイルスに特異的な B 細胞応答を追跡する技術が未整備であり、インフルエンザウイルス感染後、あるいはインフルエンザワクチン接種後に誘導される B 細胞応答の詳細は不明である。本研究では、バキュロウイルス発現系を用いて NIBRG-14 (H5N1)と PR8 (H1N1) の組換えヘマグルチニンタンパクを作製し、ヘマグルチニンに特異的な B 細胞応答を解析する技術を開発した。その結果、免疫原性が弱いとされる NIBRG-14 ワクチンを接種したマウスでも、PR8 と同程度の B 細胞応答を誘導することが判明した。[高橋宜聖、北原玄太 (実習生)、小林和夫]

（５）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解析するため、ワクチン投与後のマウス各臓器白血球数と血中サイトカイン濃度を測定した。その結果、全粒子ワクチン投与後の末梢血中白血球減少は T 細胞、B 細胞および顆粒球分画で検出された。同力価の HA ワクチンと全粒子ワクチンの投与比較においては、全粒子ワクチン群のみに、白血球減少と血中インターフェロンアルファ（IFN-α）濃度の著しい上昇を認めた。さらに、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 IFN-αを介して起こることが示された。現在、白血球の移動臓器及び、IFN-α産生を誘導するウイルス分子を検索中である。[論文投稿中][阿戸　学、高橋宜聖、藤猪英樹 (協力研究員)、加地友弘 (協力研究員)、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 (理研)]

（６）インフルエンザウイルス感染に対する宿主抵抗因子に関する研究

インフルエンザウイルス感染に際し肺胞上皮由来人細胞株 A549 は感受性であり感染ウイルスを排除できずに死滅する。しかし気管上皮由来細胞株 NCI-H292 は２４時間で感染ウイルスを排除し回復する。ウイルス感染により interferon（IFN）をはじめ宿主側抵抗遺伝子が誘導される状況を網羅的に解析した。細胞によるウイルス感染に対する反応性の違いを宿主抵抗因子の観点から検討している。[大島正道、戸高玲子(臨時職員)、清水一史(日大医学部ゲノムセンター)、清水洋子(日大医学部ゲノムセンター、協力研究員)、鈴木和男(千葉大学大学院、科学技術特別研究員)、河内正治(国立国際医療センター、協力研究員)]

３．C 型肝炎ウイルス感染に見られる short RNA に関する研究

C 型肝炎患者血液中及び肝組織内に HCV ウイルス short RNA が存在しその量比がウイルスの感染性、活動性と逆相関することを明らかにし発表した。この short RNA 産生維持機構の解析を通してウイルス複製のメカニズムを解析し、効率よいウイルス細胞培養系を確立する。C 型肝炎治療におけるインターフェロン（IFN）の治療効果判定に short RNA が有用か調べた。short RNA の量比はウイルスの感染性、活動性と逆相関し IFN 治療効果判定の正解率は 77.1%であった。short RNA は治療効果判定の有用な基準となることが明らかとなった。現在 Short RNA の産生メカニズムについて検討中である。[大島正道、戸高玲子(臨時職員)、清水洋子 (日大医学部ゲノムセンター、協力研究員)、土方美奈子 (国立国際医療センター)、吉倉廣 (CODEX)]

II. 細菌感染症

１．抗酸菌感染症に関する研究

（１）スメグマ菌（*Mycobacterium smegmatis*）由来のプロモーターの有用性の検討

以前にクローニングしたプロモーターの有用性について検討した。このプロモーターと種々の抗酸菌由来のプロモーター（HSP60 プロモーター、G13 プロモーターなど）の BCG における IFN-γや IL-2 発現について検討したところ、我々がクローニングしたプロモーターは、BCG 由来の HSP60 プロモーターとほぼ同程度のプロモーター活性を認めた。G13 プロモーターなどより強い活性を示した。このことは、同一プラスミド内に同じプロモーターで２種類の蛋白を大量に発現することが困難であること、また、プラスミドを混合して投与すると、発現量が抑えられることから、同一プラスミド内に、２種類の蛋白遺伝子を HSP60 プロモーターとこのプロモーターを用いることにより、二つの蛋白を同時に大量に発現できることが可能になると思われる。[谷山忠義]

（２）抗酸菌による骨侵襲の分子機構

骨結核の病態および BCG ワクチン接種による骨炎が生じるメカニズムを明らかにするため、BCG 感染による破骨細胞分化への影響を調べた。破骨細胞の分化初期に BCG が感染するとその分化は抑制され、その際破骨細胞分化において中心的な役割を果たす c-fos の上昇が認めら

れず、また細胞表面マーカーの発現パターンは変化した。しかし破骨細胞分化を正に制御する IL-6、MCP-1、RANTES、TNF-αの産生は認められた。分化初期における BCG 感染による破骨細胞分化の抑制は分化の方向性が変化したことによることが示唆された。［大原直也、吉村満美子 (大阪市大)、内藤真理子、庄子幹郎、吉村篤利、佛坂斉祉、中山浩二 (長崎大)］

（３）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。現在、細菌ゲノムの異なる部位に挿入され、ペプチドを発現する変異株を作成し、変異株のライブラリーを作成中である。これら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(理研)］

（４）抗酸菌細胞壁病原因子

結核菌の主な宿主標的細胞はマクロファ-ジであるが、結核菌細胞壁病原因子（trehalose dimycolate：TDM）---マクロファ-ジ関係でマクロファ-ジスカベンジャー受容体は TDM 刺激による炎症性サイトカイン産生を負の制御していた。すなわち、マクロファ-ジスカベンジャー受容体は結核菌による過度の炎症を制御し、病変形成を修飾する可能性を示唆する。［小林和夫、尾関百合子 (大阪市立大学大学院医学研究科)］

（５）潜在性結核菌感染

多くの活動性結核は潜在性結核菌感染に起因する。潜在性結核菌感染者は全世界の人口で約 30%であり、結核対策に重要である。潜在性結核菌の生物学的特性を脂質代謝から解析し、その結果、結核菌由来脂肪酸合成酵素が関与していた。脂肪酸合成酵素（KasB）は潜在性結核菌感染の治療標的候補である。［小林和夫、藤原永年(大阪市立大学大学院医学研究科)、William R. Jacobs (Albert Einstein College of Medicine, New York)］

潜在性結核菌感染における結核菌は代謝の低下した休眠状態であり、菌由来多機能分子である抗酸菌 DNA 結合分子 1（MDP1）が細胞壁合成に低濃度で増強、高濃度で抑制を示し、休眠状態（高濃度）における MDP1 の役割が判明した［小林和夫、松本壮吉 (大阪市立大学大学院医学研究科)］

（６）新規結核診断法の開発

新規結核補助診断法確立のため、抗酸菌遺伝子 Ag85a を組み込んだアデノウイルスベクターをヒト抗原提示細胞に感染させ、抗酸菌遺伝子産物に対する T 細胞免疫反応を測定する系を検討した。その結果、末梢血単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（IFN-γ）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、ヒト末梢血単核球の細胞亜群を組み合わせ、樹状細胞にアデノウイルスベクターで抗酸菌抗原を導入することにより、CD8 陽性 T 細胞による抗原特異的 IFN-γ産生応答を測定することが可能であることが示唆された。［論文投稿中］［阿戸　学、藤猪英樹(協力研究員)、竹森利忠(理研)］

（７）*Mycobacterium avium* complex（MAC）感染症の血清診断

非結核性抗酸菌症において最頻原因菌の MAC は環境菌であるため、MAC 感染症は「臨床所見（画像、経過）および微生物学的検査」を総合的に考慮し診断される。このため、確定診断に長期間（3 ヵ月以上）を要することが多い。MAC 特異的細胞壁糖脂質蛋白質抗原（GPL）に対し、宿主が血清抗体産生を示し、血清診断（所要時間：約 3 時間）に有用であることを示した。現在、診断キットを試作し、多施設臨床試験が進行中である。［小林和夫、北田清悟、前倉亮治(独立行政法人国立病院機構刀根山病院)］

（８）MAC 特異的細胞壁糖脂質蛋白質（GPL）合成系

GPL は MAC 血清型を規定している細胞壁成分であるが、その合成系は未解明な点が多い。*M. intracellulare* serotype 7 由来の GPL は MAC 共通なコア部分（fatty acyl-D-Phe-D-allo-Thr-D-Ala-L-alaninol ） と 糖 鎖 部 分（ hexose → rhamnose → rhamnose → rhamnose → 6-deoxy talose）から構成され、分子量は 1,874 であった。特徴として、糖鎖部分に rhamnose が豊富、すなわち、合成系に

rhamnose 転移酵素（*rtfA* 遺伝子）群が関与していた。GPL の病原性、また、薬剤標的候補の可能性を探索する予定である。［小林和夫、藤原永年 (大阪市立大学大学院医学研究科)、中田　登 (ハンセン病研究センター)、前田伸司 (結核予防会結核研究所)］

２．歯周病菌（*Porphyromonas gingivalis*）の病原性因子に関する研究

（１）*Porphyromonas gingivalis*33277 株ゲノムの塩基配列の決定

P. gingivalis 33277 株ゲノムの全塩基配列 2,354,886 塩基対を決定した。ゲノムサイズはすでに決定されている W83 株とほぼ同じであり、GC 比にも差は無かった。rRNA オペロン数は 4 個で 2,091 個の ORF を抽出した。33277 株 ORF の 12.8%は W83 株ゲノムには存在しなかった。また 33277 株と W83 株ゲノム間には全領域にわたり多数の再構成が生じており、ゲノム構造に大きな相違があった。［大原直也、内藤真理子、庄子幹郎、中山浩次 (長崎大)、中山恵介、林　哲也 (宮崎大)、平川秀樹、久原　哲 (九州大)、山下敦士、服部正平 (北里大)、吉村文信 (愛知学院大)］

（２）ECF シグマ因子の解析

嫌気性である *P. gingivalis* の環境ストレスに対するトレランス機構を解析する目的で同菌が持つ６種の ECF シグマ因子それぞれの遺伝破壊株を作製し解析した。その結果、いずれのシグマ因子も必須ではなく、いずれの欠損株も同様に発育した。その中で PG1318 遺伝子破壊株のみが黒色色素産生性が顕著に低下しており、同菌の主要な病原性因子であるプロテアーゼ Kgp、Rgp の活性化に密接に関連していることが示唆された。［大原直也、菊池有一郎、上田青海、平井　要、柴田幸永、藤村節夫 (松本歯大)、中山浩次 (長崎大)］

（３）TPR ドメイン蛋白質の研究

Tetratricopeptide repeat (TPR)ドメインは細菌からヒトに至るまで存在し、蛋白質間相互作用モジュールとしての役割を果たす。病原細菌における病原性因子との関連性を明らかにするため、*P. gingivalis* の TPR ドメイン蛋白質 PG1385 遺伝子破壊株を作製した。同破壊株の集落性状および培養下での発育速度は野生株と同様であったが、マウスにおける病原性は顕著に低下し、TPR ドメイン蛋白質が同菌の病原性因子と相互作用することが示唆された。［大原直也、吉村満美子 (大阪市大)、近藤好夫、庄子幹郎、雪竹英治、内藤真理子、中山浩次、藤原　卓 (長崎大)］

３．劇症型溶血性レンサ球菌感染における宿主防御機構修飾

A 群溶血性レンサ球菌（GAS）の劇症型感染は致死率の高い病態を形成する。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、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、好中球による劇症型菌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。また、劇症株が好中球のケモカインに対する遊走を阻害することが判明した。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および遊走阻害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 (理研)］

４．細菌の運動性に関する分子機序

多くの細菌はべん毛と呼ばれる運動器官を持つ。この超分子構造体は 20 数種類のタンパク質で構成され、細胞質内で合成されたのち先端まで運ばれて連続的に重合し伸長する。べん毛基部にはそのための輸送装置が存在し、ATP の加水分解エネルギーを利用してタンパク質を送り出している。FliI はべん毛の輸送に関わる ATPase である。本研究では *Salmonella typhimurium* を用い、FliI の N 末領域について変異体を作成し、FliI の活性抑制因子である FliH との相互作用領域を同定することで FliH の FliI 活性調節機構モデルを提唱した。また調節因子による制御だけでなく、FliI 自身の N 末側領域が積極的に C 末側の ATPase 活性を自己制御するメカニズムを持つことを示唆している。［岡部真裕子、南野　徹、難波啓一 (阪大)、May Kihara (Yale 大学)］

５．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、末梢運動神経末端の神経筋接合部で受容体と特異的に結合し、神経細胞内に取り込まれ、逆行性輸送により、神経節を飛び越えて中枢神経細胞内に再度取り込まれ、ここで神経生理機能活性を消失させ、宿主の呼吸筋の痙攣麻痺を誘導し、宿主を死に至

らしめる強毒な細菌毒素蛋白である。この T.Tn の神経細胞表面受容体蛋白分子は未だに同定されていない。実験は、この受容体分子の分離同定を目的としている。T.Tn と結合する可能性のある神経細胞株として、以下 3 種を用いた実験が行われている。初めに NSC-34（マウス運動神経系細胞株）はトロント大学 Cashman 教授より供与を受け、次に HT22 細胞株は米国ソーク研究所 Schubert 教授了解の下、国立精神神経研究センター木村英雄先生からの分与、3 番目に SN56 細胞株はボストン大学 Blusztajn 教授より供与を受けた。後者 2 種の細胞株もマウス由来で、HT22 はミトコンドリア外膜に発現する蛋白が細胞膜上にも発現しているとの報告があるもので、SN56 はコリン作動性の神経系の細胞株で、いずれも傍証的には T,Tn との結合の可能性の高い細胞株である。これまでの実験結果では、T.Tn の直接的な結合性は認められていない。これには、さまざまな要因が原因として考えられ、現在この要因の検討と共に、結合性がさらに調べられている。［平山中己］

III. 原虫・寄生虫感染症

１．内蔵リューシュマニア症における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CD4 陽性 T 細胞から抑制性サイトカイン IL-10 の産生が亢進し、肝臓においても肉芽腫反応や T 細胞免疫応答が遅延するなど、感染感受性の亢進が認められた。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)］

２．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結果から確認された。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 (理研)］

３．マンソン住血吸虫感染防御に関する研究

国際寄生虫感染症として、住血吸虫症はマラリアに次いで重要である。本研究は、マンソン住血吸虫症に対する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。既に海外の報告で、本虫の幼虫弱毒化方法として、放射線照射と UV 照射の２方法がある。両方法ともマウスの系で本虫感染を約 60%防御するが、これ以上の効果は得られていない。本研究では新たな幼虫弱毒化方法として DNA 合成阻害剤を用いた。実験は、感染幼虫を in vitro で DNA 合成阻害剤と共に培養し、これをマウスに感作させる系で、感染防御効果を調べた。結果は約 70%の防御効果があった。この効果を強める目的で、アジュバントの併用を試みた。アジュバントとしてはヒトへの使用を前提とし、BCG, PPD, 水酸化アルミニウムゲル、市販サポニン、FK565(藤沢製薬)等を用いた。結果は、市販サポニンに免疫増強効果が認められ、80%近く防御した。単独アジュバントでの免疫増強効果はこれ以上得られず、現在 2 種類のアジュバント混合実験を実施している。また、新たな弱毒化感作方法として、感染幼虫とこれらのアジュバントを直接混ぜ、これを用いた感作実験を行った。結果はいずれのアジュバントにも弱毒化効果は認められなかった。［平山中己、朝日博子 (寄生動物部)、吉成正裕 (横浜市立大学)、金澤　保 (産業医科大学)、南　陸彦 (横浜市立大学)］

IV. プリオン病

１．異常プリオン蛋白質の免疫系における増殖・伝播機構の研究

異常プリオン蛋白質を経口摂取した動物において海綿状脳症（TSE）が発症する過程に、神経系と共に免疫系が関与することが知られている。本研究は、免疫系と神経系に共通した異常プリオン蛋白質形成機構の解明を目的とし、BILL カドヘリンと S100 蛋白質群に焦点を当てて検討している。マウス神経芽細胞(ScN2a)を用いた異常プリオン蛋白質形成 *in vitro* 実験系では、形成される異常プリオン蛋白質の量は免疫系に発現する分子である BILL カドヘリンと S100A8 で抑制され、S100A9 で促進された。S100B では変化がなかったが、これは ScN2a に内在的に発現する S100B のためと考えられた。また、こ

れまで例のない免疫系細胞株（Ｂ細胞、樹状細胞、マクロファージ等）を用いた異常プリオン蛋白質増殖 *in vitro* システムの構築を進めている。［大西和夫、山口沙由里(臨時職員)］

V．骨髄不全症に関する研究

１．難治性疾患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明らかにするために、Translin 遺伝子欠損マウス(TSN-KO)に認められる造血異常の詳細な解析を行った。その結果、TSN-KO マウスの骨髄では加齢に伴って幼若な骨髄系細胞とＢリンパ系細胞が骨髄から消失していた。しかし、造血幹細胞(Lin-Sca1+ c-Kit+)と前駆細胞、さらに間葉系幹細胞が急激に増加するという結果が得られた。また、この現象は骨髄細胞自身によるものではなく、骨髄を取り囲む微小環境（Niche）の影響に起因するものであった。実際、海綿骨の異所的な形成と骨芽細胞数の増加が認められた。以上の結果は、Niche 本体である骨芽細胞や stroma 細胞において、Translin 蛋白が造血幹細胞の複製と分化の振り分けに関与していることを意味している。本研究で得られる成果は、造血に係わる難治性疾患の基盤的研究と医療分野への応用に発展する可能性を示唆している。［石田礼子、福田裕子(臨時職員)、中原一彦 (大学評価･学位授与機構)、葛西正孝］

VI. 免疫機能に関する研究

１．プレ B 細胞受容体の機能に関する研究

プレ B 細胞受容体は抗体重鎖と代替軽鎖からなり、Ｂ前駆細胞に発現して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。我々はこの受容体のうち非免疫グロブリン（non-Ig）領域が受容体活性化に重要な働きを担うことを明らかにしてきた。Non-Ig 領域は結晶法による立体構造解析が困難であるため、ホモロジーモデリングおよび分子動力学法による解析を行っている。これまでの結果は、１）λ5 と VpreB の non-Ig ドメインは２つの突起状構造を形成する、２）その２つの突起は特異的な電荷の分布を持つ、３）分子動力学法によるシミュレーションでは電荷分布に依存した強い相互作用が存在する、ことを示唆した。今後さらに詳細な検討を行い、抗体分子の抗原認識多様性発生機構の理解に寄与する。［大西和夫、Lill Martensson (Babraham Institute, UK)、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection Biology, Germany)、藤本浩文 (放射能管理室)］

２．カドヘリン遺伝子欠損マウスにおけるＢ細胞後期分化および抗体応答に関する研究

BILL カドヘリンは分化過程特異的に B 細胞に発現すると共に腸管上皮細胞や肺などの粘膜免疫組織にも発現する。本研究ではＢ細胞後期分化における BILL カドヘリンの機能を知る目的で BILL カドヘリン遺伝子欠損（ＫＯ）マウスにおける２次抗体応答を中心に解析した。その結果、１）ＫＯマウスの NP-CG 抗原に対する一次抗体応答において、胚中心 B 細胞数、IgG1 抗体価、親和性成熟は野生型（ＷＴ）と変わらなかった、２）二次抗体応答においてＫＯマウスの抗 NP 総 IgG1 抗体価および高親和性抗体価はＷＴに比べて著しく低下したことから、BILL カドヘリンは一次抗体応答過程には関与せず、二次抗体応答での抗体産生細胞分化という非常に特異的な分化段階で機能することが示唆された。［論文投稿中］［窪田真澄 (筑波大学大学院生命環境科学)、高橋宜聖、清水健之 (札幌医科大学)、柳沢有紀、沼田　治 (筑波大学大学院生命環境科学)、小林和夫、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection Biology, Germany)、大西和夫］

品質管理に関する業務

I. 急性 A 型ウイルス肝炎（HAV）診断薬承認前審査業務

HAV 抗体体外診断薬の承認前検査２件について昨年度に引き続き審査を行なった。また、HAV 抗体国内血清パネルの整備を進めており、特に、2006 年 7 月末に滋賀県米原市で発生した HAV 集団感染に際して、感染研倫理委員会の承認を受けて抗HAV-IgM抗体陽性血清の収集を行った。滋賀県健康推進課、滋賀県衛生科学センター、長浜保健所および医療機関の協力を得て、合計 14 名分の抗 HAV-IgM 抗体陽性血清を収集することができた。急性 A 型ウイルス肝炎の発生報告数は年々減少傾向にあり、HAV 抗体陽性血清の確保が困難になってきている。今後さらに HAV 抗体陽性血清をインフォームドコンセントの上、提供を受け、その品質を管理して HAV 抗体国内血清パネルの整備を続ける予定である。［大西和夫、山口沙由里 (臨時職員)、小林和夫］

国際協力関係業務

I. Dr. Jenn-Tyang Chang（国立Cheng-Kung大学、台湾）の研修受入

台湾CDCからの依頼により、Jenn-Tyang Chang医師（国立Cheng-Kung大学医学部）を2006年8月09-31日まで受入、感染免疫学を研修した。［横田恭子、谷山忠義、大島正道、阿戸　学、前田伸司 (結核予防会結核研究所)、小林和夫］

Ⅱ．長崎大学熱帯医学研究所JICA研修員

長崎大学熱帯医学研究所JICA研修員として２名（ギニア共和国およびモザンビーク共和国：各１名）に「結核やHIV感染症」を2006年12月8日、講義した。［小林和夫］

Ⅲ．JICAベトナム社会主義共和国研修員

「感染症の脅威や制圧戦略」に関し、2007年3月14日、講義した。［小林和夫］

研修業務

I．兵庫県立姫路東高等学校研修

医学、獣医学や生物学領域に進学を考えている高校生に、2006 年 10 月 25 日、講義や施設見学を実施した。［小林和夫］

Ⅱ．医師卒後臨床研修

医師卒後臨床研修として「結核など抗酸菌感染症」に関し、2006 年 12 月 11 日、講義した。［小林和夫］

共同大型利用機器管理

平成１８年度細胞自動解析装置の使用は、523 回、1215 時間でその内訳は感染研 498 回、1157 時間、感染研以外の研究機関 25 回、58 時間であった。機器の使用に関して予約の管理を行い、利用申請書を適切に保存した。また、機器使用者が、円滑に実験を遂行できるよう、機器を適正に管理・保全し、故障等のトラブルには早急に対処した。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(臨時職員)、高橋宜聖、小林和夫］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Hasegawa, H., Sawa, H. Lewis, M.J., Orba, Y., Sheehy, N., Yamamoto, Y., Ichinohe, T., Tsunetsugu-Yokota, Y., Katano, H., Takahashi, H., Matsuda, J., Sata, T., Kurata, T., Nagashima, K., and Hall, W.W. Development of thymus-Derived T-cell leukemia/lymphoma in mice transgenic for the tax gene of human T-lymphotropic virus type-I (HTLV-I). Nat. Med. 12: 466-471, 2006.

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

3) Ishii, K., Hasegawa, H., Nagata, N., Mizutani, T., Morikawa, S., Tashiro, M., Suzuki, T., Taguchi, F., Takemori, T., Miyamura, T., Tsunetsugu-Yokota, Y. Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Adv. Exp. Med. Biol. 581: 593-596, 2006.

4) Yamamoto, T., Miyoshi, H., Yamamoto, N., Yamamoto, N., Inoue, J-I, 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 108: 3305-3312, 2006.

5) Yamamoto, T., Isogai, M., Ohtake, K., Tsunetsugu-Yokota, Y. High and inducible expression of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Nef by adenovirus vector does not disturb potent antigen-presentation by monocyte-derived dendritic cells. Microbes Infect. 8: 2522-2530, 2006.

6) Sugawara, I., Udagawa, T., 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 87: 94-101, 2007.

7) Shimizu, Y.K., Hijikata, M., Oshima, M., K. Shimizu, Yoshikura, H. Detection of 5’ side subgenome of hepatitis C virus terminating at nucleotide 384 in patients’ plasma and liver tissues. J. Viral Hepatis 13: 746-755, 2006.

8) Rulli, S.J., Jr., Muriaux, D, Nagashima, K., Mirro, J., Oshima, M., Baumann, J.G., Rein, A. Mutant murine leukemia virus Gag proteins lacking proline at the N-terminus of the capsid domain block infectivity in virions containing wild-type Gag. Virology 347: 364-371, 2006.

9) Ato, M., Maroof, A., Zubairi, S., Nakano, H., Kakiuchi, T., Kaye, P.M. 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.

10) Ozeki, Y., Tsutsui, H., Kawada, N., Suzuki, H., Kataoka, M., Kodama, T., Yano, I., Kaneda, K., Kobayashi, K. Macrophage scavenger receptor down-regulates

mycobacterial cord factor-induced proinflammatory cytokine production by alveolar and hepatic macrophages. Microb. Pathog. 40: 171-176, 2006.

11) Fujiwara, N., Nakata, N., Maeda, S., Naka, T., Doe, M., Yano, I., Kobayashi, K. Structural characterization of a specific glycopeptidolipid containing a novel N-acyl-deoxy sugar from *Mycobacterium intracellulare* serotype 7 and genetic analysis of its glycosylation pathway. J. Bacteriol. 189: 1099-1108, 2007.

12) Takahashi, T., Nishizawa, Y., Hato, F., Shintaku, H., Maeda, N., Fujiwara, N., Inaba, M.,. Kobayashi, K., Kitagawa, S. 2007. Neutrophil-activating activity and platelet-activating factor synthesis in cytokine-stimulated endothelial cells: reduced activity in growth-arrested cells. Microvasc. Res. 73: 29-34, 2007.

13) Ohtaka-Maruyama, C., Miwa, A., Kawano, H., Kasai, M., Okado, H. Spatial and temporal expression of RP58, a novel zinc finger transcriptional repressor, in mouse brain. J Comp Neurol. 502: 1098-1108, 2007.

14) Tsunetsugu-Yokota, Y., Ato, M., Takahashi, Y., Hashimoto, S, -I., Kaji, T., Kuraoka, M., Yamamoto, K., Mitsuki, Y., Yamamoto, T., Ohshima, M., Ohnishi, K., Takemori, T. Formalin-treated UV-inactivated SARS coronavirus vaccine retains its immunogenicity and promotes Th2-type immune responses. Jpn. J. Infect. Dis. 60: 106-112, 2007.

15) Nagawa, F., Kishishita, N., Shimizu, K., Hirose, S., Miyoshi, M., Nezu, J., Nishimura, T., Nishizumi, H., Takahashi, Y., Hashimoto, S., Takeuchi, M., Miyajima, A., Takemori, T., Otsuka, A. J., Sakano, H. Antigen receptor genes of the agnathan lamprey are assembled by a process involving copy choice/template shift. Nat. Immunol. 8: 206-213, 2006.

16) Nakajima-Adachi, H., Ebihara, A., Kikuchi, A., Ishida, T., Sasaki, K., Hirano, K., Watanabe, H., Asai, K., Takahashi, Y., Kanamori, Y., Shimojo, N., Matsuda, H., Kohno, Y., Hachimura, S., Kaminogawa, S. Food antigen intake develops reversible enteropathy in T cell receptor transgenic mice. J. Allergy Clin. Immunol. 117: 1125-1132, 2006

２．和文発表

1) 阿戸　学：インフルエンザウイルス感染による末梢白血球減少の機序．臨床免疫・アレルギー科 46:208-213, 2006.

2) 阿戸　学、小林和夫：結核の免疫．呼吸器６．結核・非結核性抗酸菌症（露口泉夫　編）．新しい診断と治療の ABC. 最新医学　別冊. 大阪：最新医学社. 55-63、2006.

3) 小林和夫：感染症の現状と制圧戦略．都市問題研究 58：20-32、2006.

4) 高橋宜聖：免疫記憶を担うリンパ球とその機能を操る分子メカニズム．蛋白質・核酸・酵素　52：31-36、2007.

5) 高橋宜聖：抗体産生経路の多様性とその生理的意義．化学と生物　45：27-33、2007.

II. 学　会　発　表

1．国際学会

1) Kasai, M. Negative regulation of stem cell self-renewal and osteoblast formation. Keystone Symposia Conference Stem Cell Interactions with their Microenvironmental Niche. Keystone, Colorado, USA, March, 2007.

2．国内学会

1) 光木裕也、大島正道、山本拓也、高木弘隆、森川　茂、山岡昇司、永井美之、大西和夫、横田（恒次）恭子：SARS-CoV spike に対する中和抗体のエスケープ変異ウイルスの単離と感染防御に重要な抗体エピトープの同定．第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月、名古屋.

2) 水越文徳、山本拓也、光木裕也、立川(川名)愛、横田 (恒次) 恭子：抗原の糖鎖による樹状細胞の cross-presentation の影響. 第 36 回日本免疫学会総会、2006 年 12 月、大阪.

3) 大原直也：細菌による破骨細胞分化の制御．ワークショック骨と感染症研究の新展開. 第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.

4) 内藤真理子、大原直也、庄子幹郎、中山恵介、吉村文信、林　哲也、中山浩次：*Porphyromonas gingivalis* ATCC33277 株の全ゲノム塩基配列決定．第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.

5) 近藤好夫、吉村満美子、大原直也、庄子幹郎、雪竹英治、内藤真理子、藤原　卓、中山浩次：*Porphyromonas gingivalis* の TPR ドメイン蛋白質欠損株の解析．第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.

6) 菊池有一郎、大原直也、上田青海、平井　要、柴田幸永、中山浩次、藤村節夫：*Porphyromonas gingivalis*

ECF シグマ因子群の遺伝子挿入変異株の作製．第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.

7) 藤原永年、中田　登、前田伸司、中　　崇、矢野郁也、小林和夫：2007．*Mycobacterium intracellulare* serotype 16 由来特異糖ペプチド脂質の糖鎖構造と合成遺伝子の解析．第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.
8) 松本壮吉、奥山めぐみ、尾関百合子、内藤真理子、西内由紀子、藤原永年、吉村満美子、和田崇之、小林和夫：結核菌の細胞壁合成における mycobacterial DNA-binding protein 1（MDP1）の役割．第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.
9) 平山幸雄、吉村満美子、尾関百合子、菅原　勇、青木俊明、和田崇之、西内由紀子、小林和夫、松本壮吉：2007．抗酸菌の増殖に対するヒアルロン酸の作用．第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.
10) 奥山めぐみ、川崎昌則、松本　真、小林和夫、松本壮吉：新規抗結核薬 OPC-67683 の抗菌活性に関わる分子同定の試み．第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.
11) 仁木　誠、吉村満美子、和田崇之、小林和夫、松本壮吉：休眠期抗酸菌の薬剤抵抗性における MDP1 の役割. 第 80 回日本細菌学会総会､2007 年 3 月､大阪.
12) 尾関百合子、小林和夫、松本壮吉：2007．BCG 感染における STAT6 の役割. 第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.
13) 岡部真裕子：べん毛輸送装置タンパク質 FliI の N 末側領域による ATPase 活性調節機構．第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪.
14) 岡部真裕子、南野　徹、難波啓一、May Kihara．：N-terminal region of the flagellar type III protein export ATPase FliI regulates its ATPase activity．2006 年度べん毛研究交流会．2007 年 3 月、広島.
15) 阿戸　学、Maroof A.、Zubairi S.、中野英樹、垣内史堂、Kaye P.M.：*Leishmania donovani* 感染感受性マウスにおける IL-10 産生 T 細胞の誘導．第 75 回日本寄生虫学会大会、2006 年 4 月、弘前.
16) 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.
17) 大西和夫、山口沙由里：BILL カドヘリン(cadherin-17) 遺伝子欠損マウスにおけるプリオン病発症遅延（II）．第 28 回日本分子生物学会 2006 フォーラム、2006 年 12 月、名古屋.
18) 大西和夫､藤本浩文：Homology modeling and molecular dynamics simulation of preB cell receptor. 第 36 回日本免疫学会総会、2006 年 12 月、大阪.
19) 加地友弘、高橋宜聖、橋本修一、竹森利忠：Pathways for memory B cells.第 36 回日本免疫学会総会、2006 年 12 月、大阪.
20) 梅田幸子、明間洋子、倉岡雅征、山田潔、橋口昌章、勢渉、高橋宜聖、戸塚護、高津聖志、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏志：CD3-IL-2R+ Peyer’s patch cells respond to poly I:C stimuli and secrete IL-5．第 36 回日本免疫学会総会、2006 年 12 月、大阪.
21) 柳橋　努、細野　朗、津田真人、八村敏志、高橋宜聖、平山和宏、伊藤喜久治、高橋恭子、上野川修一：無菌・コンベンショナルマウスの比較による大腸部位における IgA 産生に腸内細菌が与える影響について．第２回日本食品免疫学会、2006 年 10 月、東京.

9．生 物 活 性 物 質 部

部 長　上 原 至 雅

概　要

当部は、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 18 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）、政策創薬総合研究事業、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（タンパク 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」（主任研究者：上原至雅）を行い、厚生労働科学研究事業の（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 5 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、国立感染症熱帯病医学研究所、国立小児病院の院長をはじめ医師・研究者との情報交換を行い、ベトナム保健省において治療プロトコルが承認され、8 月 10 日キックオフ会議においてスタートした。また、これに関連して、厚生労働科学研究費補助金（特別研究事業）「インフルエンザ（H5N1）の死因となる急性肺障害（ARDS）の病態解析とモデル動物の作製に関する研究」も行い、今後の研究への足がかりとした。

上原は、厚生労働省の薬事・食品衛生審議会臨時委員として医薬品第二部会員及び日本薬局方調査会調査員、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員などの任をつとめた。

国際交流の一環として、新見室長は、ヒューマンサイエンス振興財団「外国の研究機関等への委託研究事業」および「外国人研究者招へい事業」（新興・再興感染症研究事業プログラム、主任研究者：上原至雅）により、ニュージーランド、オタゴ大学分子微生物学研究室（RD Cannon 主任教授）と「真菌の薬剤排出ポンプ CaCdr1p の阻害」の共同研究を行うとともに、同大学の Dr AR Holmes を招へいして研究打ち合わせを行った。また日本学術振興会「外国人招へい研究者（短期）」により、Dr E Lamping (ニュージーランド、オタゴ大学)を招へいし、「日和見真菌 *Aspergillus fumigatus* の薬剤耐性機構」の共同研究を行った。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、Hien 所長(ベトナム国立感染症熱帯病医学研究)、David Jayne 顧問教授(英国・ケンブリッジ大学アッデンブルック病院)、David Scott 教授(英国・ケンブリッジ大学アッデンブルッグ病院)、Niels Rasmussen 教授(デンマークコペンハーゲン大学病院)、Ulrich Specks 教授(米国・メイヨ大学健康科学センター)、 Jim Koopman 教授(米国・ミシガン大学)、Niels Becker 教授(濠・オーストラリア国立大学)、Tony Wheatle 教授(ニュージーランドオタゴ大学)、R. Hoffman 教授(Cancer Inst. & Univ. of California, USA、Mautsu-Tag 博士(National Synchrotron Rad. Res. Center, Taiwan)、R. Tilley 博士(University of Wellington, New Zealand)、T. Nan 博士(Albert-Ludwig University Freiburg, Germany) 、K. Koenig 教授(IBMT, Germany)、S. Jheon 教授(ソウル大医学部)David J Philp 研究員(濠・オーストラリア国立大学)を招へいし、国際研究交流を推進した。

人事異動では、平成 19 年 3 月末日に上原至雅部長と鈴木和男室長が定年退官し、野口耕司主任研究官が辞職し共立薬科大学の准教授に転出した。

以下に本年度の主な調査・研究の業績を記す。

業　績

調査・研究

Ⅰ. 新しい活性評価系とスクリーニング及び生物活性物質の研究

1.　酵母の薬剤排出ポンプ阻害剤の探索

真菌の ABC タンパク質は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細胞外に汲み出すため菌は耐性化する。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ール剤に高度耐性化した株を用いて、特定の排出ポンプを阻害する活性物質を探索した。

［新見昌一、高野幸枝、田辺公一、上原至雅、足立恭子・池永 裕(海洋バイオテクノロジー研究所)］

2.　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

癌細胞の足場非依存性増殖を抑制する物質として MEK 阻害剤 hypothemycin を同定した。最近 hypothemycin は 46 種のキナーゼに保存されている Cys へ結合することが報告された。PKD には標的 Cys があり試験管内で阻害される。しかし hypothemycin 処理細胞では ERK リン酸化は低下したが PKD 自己リン酸化は変わらず、細胞内では選択的に MEK が阻害されると考えられた。また BRAF 変異を持つ癌細胞は感受性が高かった。hypothemycin は RAF 下流の MEK、ERK、p90RSK を阻害する。BRAF 変異癌の増殖抑制には BRAF よりも MEK 阻害の方が有効であり、さらに複数箇所の阻害が効果的である可能性が示された。

［深澤秀輔、小沢友希(東京理科大学)、上原至雅］

(2) セスキテルペンによる mTOR 阻害

ある種のセスキテルペンが mTOR 経路を遮断することを発見した。細胞をセスキテルペンで処理すると S6R のリン酸化が低下した。S6R のリン酸化酵素であり mTOR の標的である p70S6K のリン酸化を調べると、ラパマイシンは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 T389 を選択的に抑制した。またセスキテルペン処理により mTOR 蛋白量は急速に減少した。以上からセスキテルペンはラパマイシンとは異なる機序で mTOR 経路を阻害することが明らかとなった。

［深澤秀輔、池田好美(共立薬科大学)、上原至雅］

(3) 足場非依存性増殖阻害活性を持つ anicequol の作用機作に関する研究

anicequol はステロイド骨格類似構造をもつので、他の生理活性物質のステロイド、ステロール類の DLD 細胞に対する足場非依存的増殖阻害活性を検索したところ、25-hydroxycholesterol が DLD 細胞の足場非依存的増殖を選択性高く阻害することを見いだした。いくつかの生理活性を比較した結果、25-hydroxycholesterol との分子薬理メカニズムの類似性が示唆された。

［上原至雅、長塚俊弥(東京理科大学)、野口耕司、深澤秀輔］

(4) 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 156 検体の評価を行った。その結果、有効と判定されたのは 9 検体であった。このうち、EGFR のプロテインキナーゼに選択性を認めたのが 3 化合物、VEGFR1 (Flt-1)のプロテインキナーゼ阻害活性が認められたのが 6 化合物であった。VEGFR 阻害剤のうち 2 つの化合物は特に選択性が高く、今後の開発が期待される。

［上原至雅、福山まり、深澤秀輔、矢守隆夫（癌研）］

(5) Nek11 の生理機能に関する研究

我々が同定し解析を進めているヒト新規蛋白質リン酸化酵素 Nek11 は、核小体に局在し、細胞周期やストレス反応に関わることが示唆されてきた。マウスのホモログもクローニングしたが、このヒトとマウスの Nek11 の細胞での過剰発現は、核形態の異常や細胞死を引き起こし、また逆に、RNA 干渉法でマウス Nek11 の発現を NIH3T3 細胞で抑制すると、顕著な細胞死が引き起こされることが判明した。これらの知見から、哺乳類の Nek11 が、細胞の維持に重要な生理機能を持つことが推測された。

［野口耕司、深澤秀輔、村上裕子、上原至雅］

3. 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) C型肝炎ウイルスの阻害剤のスクリーニング

近年開発されたC型肝炎ウイルスの培養細胞への感染系を用いて薬剤のスクリーニングを行った。感染した細胞の培養液中の HCV RNA を簡易な定量 real time PCR 法を用いて定量する方法で、構造および作用が既知の化合物約 200 の HCV 阻害活性を調べた。その結果、PKC 阻害剤であるビスインドリルマレイミド、エストロゲン受容体のアンタゴニストであるタモキシフェンが、HCV 阻害活性を持つことが知られるサイクロスポリン A と同等の活性を示した。その他天然物からも数個同程度の阻害活性のある化合物を見つけた。これらの化合物の阻害活性についてさらに詳細な検討を開始した。

［村上裕子、野口耕司、山越智、鈴木哲朗（ウイルス第二部）、上原至雅、深澤秀輔］

(2) C 型肝炎ウイルスコア蛋白質、NS4B、NS5A に結合する宿主蛋白質の解析

昨年に引き続き、タグをつけたウイルス蛋白質を免疫沈降し、相互作用をする宿主蛋白質を同定するための条件を検討した。これまで報告されているように、C 型肝炎ウイルス蛋白質の大部分は HeLa 細胞に発現させた場合にも細胞内膜画分に存在することがわかった。しかしながらこれまでの 3xFLAG のタグを用いた免疫沈降だけでは、バックグランドの問題が大きくマススペクトロメトリーによる解析には不向きであった。そこで、3xFLAG の下流に 3xHA タグをつけ、連続的に抗タグ抗体で免疫沈降することでその問題を回避した。現在、試料を多量に調整し同定を行っている。

[山越　智、橋本ゆき、村上裕子、野口耕司、上原至雅、深澤秀輔]

(3) 抗 EB ウイルス剤の探索

EB ウイルスの EBNA-1 は、ウイルスゲノムの ori に存在する認識配列に結合し、DNA 複製、転写、ウイルス DNA の娘細胞への均等分配に関与する。*in vitro* で EBNA-1 の DNA への特異的な結合を阻害する化合物のスクリーニングを以下の ELISA 系を構築し行った。ビオチン化した EBNA-1 結合 DNA 断片、FLAG タグをつけた EBNA-1 DNA 結合領域、化合物を混合し、インキュベーション後、アビジンコートした 96 穴プレートに吸着させた。洗浄後、HRP 標識の抗 FLAG 抗体を加え発色させた。AnalytiCon 社微生物代謝産物、植物代謝産物ライブラリーからいくつかの阻害剤の候補が見つかった。

[山越　智、野口耕司、橋本ゆき、村上裕子、上原至雅、深澤秀輔]

(4) HHV8 の蛋白質 LANA と宿主蛋白質 Brd4 の相互作用についての解析

昨年までに HHV8 の蛋白質 LANA と宿主蛋白質 Brd4 が結合すること及びその結合に重要なアミノ酸領域を明らかにした。また、Brd4 は PTEFb と結合して RNApolII による転写を安定化することが報告されているが、LANA が細胞内で Brd4 および PTEFb と複合体を形成することを見出した。そこで LANA と Brd4 との相互作用が細胞内の転写に及ぼす影響について、ルシフェラーゼ遺伝子の発現を指標に検討したところ、LANA と Brd4 との相互作用により E2F 及び AP-1 による転写が活性化されることが示唆された。

［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) *Aspergillus fumigatus* 薬剤耐性遺伝子のクローニング

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の異種タンパク発現系を用い、*Aspergillus fumigatus* の ATP binding cassette（ABC）輸送体 *AfuMDR1*、*AfuMDR2*、*AfuMDR4* およびアゾール剤標的遺伝子 *AfuERG11A* と *AfuERG11B* をクローニングした。その過程で、それまで明らかにされていなかった個々の輸送体遺伝子についての転写開始点と

終止点を同定し、それぞれの遺伝子の 5'mRNA に翻訳されない短い翻訳枠が複数あるという極めて重要な知見を得た。この翻訳枠の存在は真核生物の mRNA では比較的珍しく、下流の遺伝子の発現調節をしていると見られている。*A. fumigatus* に見いだしたものも同様の役割をもつ可能性があると考えている。

［田辺公一、上原至雅、新見昌一、Erwin Lamping、Brian C. Monk、Richard D. Cannon（オタゴ大学）］

(2) 出芽酵母 ABC タンパク質と阻害剤との相互作用部位の検討

出芽酵母の ABC タンパク質 Pdr5p を高発現している *S. cerevisiae* 株において、基質である抗真菌薬 fluconazole と FK506 を含む寒天培地上で培養し、FK506 に非感受性化するような遺伝子変異をもつクローンを計 33 株単離した。単離したクローンの ORF の部分だけを再び親株に遺伝子導入し ORF 上の変異によって FK506 に非感受性化していることを表現型解析によって確認した。その結果、単離した株の 80%以上が予想どおり PDR5 ORF に遺伝子変異を有していた。しかも、遺伝子変異のほとんどは一箇所のみの点変異であったことから、この実験手法が非常に効率のよい変異導入方法であることが明らかとなった。これらの遺伝子変異株の薬剤感受性を調べたところ、ほぼ全ての株において Pdr5p の機能は低下しておらず、単離した遺伝子変異が FK506 による阻害効果にのみ関わる部位であることが示唆された。

［田辺公一、冨山　進、高野幸枝、上原至雅、新見昌一］

(3) キメラタンパク質を用いた真菌 ABC タンパク質の基質認識メカニズムの解明

Candida albicans の ABC タンパク質、CaCdr1p と CaCdr2p のドメインを交換したキメラタンパク質を出芽酵母に発現させて、機能解析を行った。NBD は基質認識には関与せず、oligomycin に対する ABC タンパク質 ATPase 感受性は TMD が関係していることを明らかにし、CaCdr1p の N 末端側 TMD に Nigericin、Monensin、Bafilomycin A1 の基質認識部位が存在することが示唆された。さらに、CaCdr2p 由来の TMD1 と CaCdr1p 由来の TMD2 を有するキメラタンパク質は、イトラコナゾール、ケトコナゾールの排出活性が特異的に低下し、逆に CaCdr1p 由来の TMD1 と CaCdr2p 由来の TMD2 を有するキメラタンパク質は、Rhodamine 6G の排出活性が特異的に低下した。そこで TMD1 と TMD2 間の相互作用、基質認識についてのモデルを提唱した。

［田辺公一、岡和田敦、高野幸枝、上原至雅、新見昌一］

(4) *C. 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ている。破壊株が取得できなかった遺伝子 21 種類について、メチオニンの添加により遺伝子発現を抑制できる株を作製した。取得できた発現抑制株のうち、発現抑制によって生育できなくなった遺伝子は 2 種類であった。この 2 種類の遺伝子は新しい抗真菌剤スクリーニングの標的分子として期待できる。

［梅山　隆、臺　由紀、上原至雅、新見昌一］

(5) *C. albicans* の *CDC28* 発現抑制による細胞伸長および転写因子の解析

サイクリン依存性プロテインキナーゼ *CDC28* の *MET3* 置換株を作製した。メチオニンとシステインの添加により、検出限界以下まで抑制されることをウェスタン解析によって確認した。*CDC28* の発現抑制によって、細胞の肥大および極端な伸長を観察でき、*CDC28* が細胞の形態維持に必要であることが示唆された。形態維持に関与する様々な転写因子の発現やリン酸化を調べるために、*MET3* 置換株において各転写因子の C 末端に HA タグを付加した株を作製した。その結果、*CDC28* の発現を抑制すると、Efg1p, Nrg1p, Rbf1p, Rim101p, Fkh2p および Tec1p の発現が顕著に低下することが明らかとなり、これらの転写因子が細胞の肥大や極端な伸長にかかわること示唆された。

［梅山　隆、金子亜希、新見昌一、上原至雅］

(6) 細胞壁構生合成に関わる *CaBIG1* の機能解析

細胞壁は、ヒトと真菌の大きな相違点であるため、かつてより抗真菌剤スクリーニングのいいターゲットとして研究されてきている。出芽酵母 *S. cerevisiae* の *BIG1* は、細胞壁の構成成分 β1,6 グルカンの生合成に関与していると予想される遺伝子である。*C. albicans* に存在している *BIG1* の相同遺伝子 *CaBIG1* の遺伝子破壊より、病原性との関連性を調べた。遺伝子破壊により菌糸生育の遅れが観察でき、マウスへの病原性も顕著に低下した。その原因として、臓器への定着率の低下および、臓器内の菌糸への形態変換効率の低下が挙げられる。β1,6 グルカン生合成経路が、真菌の生育および病原性発揮に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

［梅山　隆、金子亜希、平井明香、上原至雅、新見昌一、

渡辺浩史・東雅之（大阪市大・工）］

(7) *C. albicans* の新しい転写抑制因子 Tcc1p の解析

C. albicans の Tup1p は酵母形から菌糸形への形態変換を抑制している転写因子であると考えられている。Tup1p と相互作用するタンパク質を新たに同定するために、タンデムアフィニティー精製を行った。その結果、相互作用するタンパク質を 2 種類同定し、1 つは予想されていた転写因子 Ssn6p であり、もう 1 つは機能未知のタンパクであった。この機能未知のタンパクを Tup1p-complex component=Tcc1p と命名した。*TCC1* 遺伝子を破壊すると、*TUP1* 遺伝子破壊株と同様、細胞の伸長が観察された。また、マウスへの病原性の低下が確認できた。

［梅山　隆、金子亜希、臺　由紀、山越　智、新見昌一、上原至雅］

(8) *C. 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。しかしながら、遺伝子破壊株の播種性カンジダ症モデルマウスにおける病原性は親株と同等であった。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）］

(9) 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

カイコガ幼虫感染実験系を用いて *C. albicans* の病原因子を検索した。一連のプロテインフォスファターゼ破壊株の中で、*CaPTC1* 破壊株が著しい病原性の低下を示した。この結果はマウスモデル感染実験においても再現性が得られた。*CaPTC1* 破壊株は寒天培地上で菌糸形成が阻害され、Protease 産生能の低下、マウス腎臓への定着率の低下などを示した。従って、これらが複合して *C. albicans* の病原性の低下につながったと考えられる。

［花岡　希、新見昌一、普後　晋（東京農工大院・連合農学・生物生産）］

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（細菌第一部）、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

昨年にひきつづき、*C. albicans* 培養外液より精製したマンノプロテインβ-グルカン複合体 (CAWS)のマンノプロテイ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 を腹腔内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、可溶性 ICAM-1 量、炎症性サイトカイン産生についても同様の傾向を認めた。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して生体による CAWS の認識、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（ミシガン大学医学部病理）］

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い、染色体マップを特定し Man-1 と命名した｡本領域に含まれる遺伝子の解析の検討を開始した。

［鈴木和男、大川原明子、濱野慶朋（東京労災病院)］

(3) 川崎病類似マウス系統的動脈炎モデルによる人工免疫グロブリンの治療効果の評価

川崎病類似マウス系統的動脈炎モデルマウスによりマウス型人工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、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（東邦大・医・大橋)、三浦典子・大野尚仁（東京薬大・薬)、山下潤二・土田和徳・金城義明・金子健二（日本製薬)］

(4) ウシアルブミン(BSA)誘導 MPO-ANCA 関連糸球体腎炎の発症

昨年にひきつづき、確立した 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における活性化好中球が関わりを検討し､半月体形成性腎炎の治療法開発のための有用モデル利用が可能となった。

［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)］

(5) MPO-ANCA の血管内皮細胞への直接作用

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。この反応は、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。また、QD 標識抗体の移動解析によっても腎糸球体への移行が観察された。

［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)、星野昭芳・山本健二（国立国際医療センター)､荒谷康昭(横浜市大･木原生物研)、中山俊憲（千葉大・院医)］

(6) 活性化好中球における CD69 分子の表面局在

活性化好中球の細胞膜表面に CD69 分子が表出することを確認したことから、CD69 欠損マウスを用いて活性化好中球が関与する CAWS 誘導による血管炎の発症について検討した。CD69 欠損マウスでは発症が抑制され、血小板機能との連動についても解析した。

［鈴木和男、長尾朋和、野津朋子、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)］

(7) 肺血管内皮細胞の ICAM-1 機能に影響するペプチド

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ことから､マウス血管内皮細胞の初代培養細胞を用い、*in vitro* で好中球の機能との関連を検討した。ICAM-1 の発現を抑制あるいは活性化するインテグリンホモログの合成ペプチドをスクリーニングし、数種の候補ペプチドが挙がった。これらのペプチドは､炎症局所で作動する好中球によって活性化される接着分子を調節する可能性が示唆された。

［鈴木和男、大川原明子、野津朋子、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)、本多裕之・大河内美奈（名古屋大院工)］

(8) SCG/Kj マウスの MPO-ANCA 結合部位エピトープ解析

ヒト 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。MPO-ANCA 関連血管炎を発症する血管炎モデルマウスである SCG/K j マウスの MPO-ANCA のエピトープ解析を行った。その結果、ヒトとことなり Ha、Hb での反応性は弱かったが、中心部での反応性が高かった。

［鈴木和男、富澤一夫、田之倉優（東大院農生科・応生化）］

(9) 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。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、いずれも有意な予後改善効果を得た。

［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）］

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。また、QD を用いた *in vivo* でのバイオイメージング解析も行った。

［鈴木 和男、長尾 朋和、星野昭芳・山本健二（国立国際医療センター）］

(2) Quantum Dot(QD)標識抗体による活性化好中球表面への MPO の表出の解析

昨年度にひきつづき、直径 4 ナノメートル前後の超微粒子 QD により MPO 抗体を標識し、活性化好中球表面への MPO の表出をマウスモデルおよび血管炎患者好中球において解析した。

［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

昨年度 LECT2 トランスジェニックマウス（BALB/c 背景）を用いた解析で、同マウスでは、*C. albicans* の感染に感受性が高くなっていることが示唆された。今年度は LECT2 遺伝子欠損マウスにおける感受性を調べた。その結果、尾静脈からの *C. albicans* の投与により、野生型との生存率を比べたところ感受性が低くなっていることが示唆され、LECT2 が *Candida albicans* 感染防御に関与することが考えられた。

［山越　智、梅山　隆、新見昌一、鈴木和男、奥村彰規（日大）］

(2) 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も検討した。

［山越　智、鈴木和男、輿水洋平・大富美智子（東邦大・理）］

Ⅵ．ゲノム情報に基づく創薬と薬剤耐性に関する研究

1. ゲノム情報に基づく創薬に関する研究

(1) *Nocardia farcinica* IFM 10152 のシデロフォア nocobactin に関して

nocobactin の生合成遺伝子と推定される *nbtA*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F*, *G*, *H*, *S*, *T* に関して、これらの遺伝子全てを *Streptomyces avermitilis* に導入し、nocobactin の異種発現を試みた。その結果、nocobactin 生合成の初発物質であるサリチル酸の生産を確認し、サリチル酸の誘導体と考えられる化合物の生産も確認された。この誘導体に関しては現在解析中である。

［星野泰隆、石川 淳、池田治生（北里生命研）、尾仲宏康（富山県立大）］

(2) nocobactin の絶対配置の決定

NMR 分析ならびに加水分解物のキラル HPLC 分析により nocobactin の絶対配置を決定した。また、脂肪酸鎖長が異なる 2 種類の nocobactin（炭素数 12 あるいは 14）の絶対配置は、同一のものであることも証明した。

［星野泰隆、石川 淳、深井俊夫（東邦大）、五十嵐康弘（富山県立大）］

(3) *Nocardia* おける遺伝子解析系の開発

pNV18 および pNV19 は、当研究室で開発された *Nocardia* 属において唯一の実用的なクローニングベクターであるが、その利用価値をより高めるために、pAL5000 由来配列中の *Eco*RI ならびに *Sal*I/*Hin*cII 部位を部位特異的変異導入によって削除した。この改良により、pNV18 および pNV19 のクローニングサイトは、6 箇所から 9 箇所へと増加した。

［千葉和宏、石川 淳］

(4) *Nocardia* の病原因子の探索

N. farcinica IFM 10152 のゲノム上には、結核菌の抗原

蛋白質として知られている Ag85 のホモログ遺伝子が 14 個存在する。これらの遺伝子と *Nocardia* の病原性との関係を明らかにし、創薬ターゲットの発見あるいは診断法の開発に応用するため、遺伝子破壊株の作製を行なった。現在、病原性、抗原性との関係を検討中である。
［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* の完全ゲノム塩基配列を決定した。*S. griseus* の染色体は 8.55Mb の線状分子であり、7,138 個のタンパク質コード遺伝子、6 コピーのリボゾーム RNA 遺伝子、66 個の tRNA 遺伝子を含んでいた。
［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（北里生命研）］

2. 薬剤耐性に関する研究

(1) *N. farcinica* IFM 10152 における monooxygenase のリファンピシン耐性への関与

N. 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。この遺伝子を大腸菌で大量発現させ、リファンピシンの変換反応を行い、変換物の単離・精製を行った。その結果、変換物の分子量は 16（酸素原子 1 個分）増加しており、抗菌活性はリファンピシンより大幅に減少していることが判明した。以上のことから、本酵素がリファンピシン耐性に関与していることが示唆された。変換物の化学構造に関しては現在解析中である。
［星野泰隆、石川淳］

(2) 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 株から実験室的に得た 39 株のアルベカシン高度耐性化株について、耐性化に関与する要因を探索したところ、39 株のうち 3 株に二機能酵素遺伝子の直前に位置する ORF における欠失が見出された。これらの領域を含む断片を *E. coli* にクローニングしたところ、欠失を含む断片は欠失を含まない断片に比べ約二倍のアミノグリコシド耐性を与えた。以上の結果から、二機能酵素遺伝子直前の ORF は耐性化にある程度の関連をもっていると考えられた。
［勝又義法、石野敬子、石川淳］

Ⅶ. 新興・再興感染症拠点形成プログラム

(1) 拠点形成プログラム

ア. 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、本年度は、5 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った。また申請していたベトナム保健省にプロトコルは承認された。
［鈴木和男、工藤宏一郎（国立国際医療センター）］

イ. ハノイの国立三病院との連携

昨年度にひきつづき、ハノイの国立三病院との連携を深めた。特に、Hien 所長（ハノイ・国立感染症熱帯医学研究所：旧熱帯医学研究所）を感染研に招へいし、インフルエンザの現状のセミナーで講演いただき、感染研をはじめ関係する研究者が現地情報を直接聞く機会となった。
［鈴木和男］

(2) 感染症シミュレーション

ア. 感染症流行モデルの研究

本年度はハブの位置にワクチンを接種すると流行の拡大を阻止することが出来るかを検討した。リンク構造を変えた場合に、パンデミックインフルエンザなどの感染症流行を終焉させることができるのであるか。潜伏期間が異なればリンクの制限をどうのように変えればよいのか。ある機関に感染症対策の情報がうまく伝達されないとき、つまり，リンク構造の変更が一部うまくいかなかったときどうなるのか。感染症のリスクアセスメントのためには，このような知見が必要である．このため，モデルの数理的な研究を行った。
［鈴木和男、大島正道（免疫部）、安田英典（城西大学）、山本健二（国立国際医療センター）、吉倉廣（厚生労働省）］

イ. 感染症リスクアセスメント研究

本年度は、パンデミックインフルエンザなどの感染症のシミュレーションによる研究を行い、潜伏期間等の感染症のパラメータとリスクの変動の関係等を調査し、リスクの特徴を検討した。
［鈴木和男、大島正道（免疫部）、安田英典（城西大学）、山本健二（国立国際医療センター）、吉倉廣（厚生労働省）］

ウ．感染症シミュレーションのための国際会議

１６、１７年度に行い好評であった国際会議を日英米、欧州、オーストラリア、およびアジア枠として日本発の国際会議として発展させ、モデリング、シミュレーションの研究の発信の場として定着させることができた。本年度は、「International Symposium on Trends in Transmission Models for Infectious Diseases -2006 - Role of Modeling in Infectious Disease Control -」を開催し実質的な国際情報交換の場としてリードし、国際研究者の期待に応えることができた。

［鈴木和男、大島正道（免疫部）、安田英典（城西大学）、山本健二（国立国際医療センター）、吉倉廣（厚生労働省）］

(3) インフルエンザＨ５N1 に関する研究

インフルエンザ（Ｈ５Ｎ１）の死因となる急性肺障害（ARDS）の病態解析とモデル動物の作製に関する研究を行い、予備的検討し、急性の ARDS モデル動物の準備が整い、次年度以後の研究への足がかりとした。

［鈴木和男、大島正道（免疫部）、河内正治・前原康宏（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) 輸入真菌症の国内発生状況

コクシジオイデス症およびヒストプラスマ症がその後も恒常的に発生し、本年度はコクシジオイデス症４例、ヒストプラスマ症４例のほか、パラコクシジオイデス症、マルネッフェイ型ペニシリウム症も各１例見られた。潜在的ヒストプラスマ症患者を検索する目的で行った結核疑診例の抗ヒストプラスマ抗体検査では、113 例中 9 名（8.0%）が陽性を呈し、内１例で病理組織学的にヒストプラスマ症が確認された。

(2) ヒストプラスマの国内検出の試み

26 ヶ所の洞窟・風穴から採取されたコウモリ・グアノ 94 サンプルの菌相解析を継続して行ったが、全てのサンプルから検出されなかった。しかしながら、88%の洞窟からトリコスポロンが分離された。本菌は夏型過敏性肺臓炎の原因抗原であることから、入洞に伴う呼吸器症状は本菌が関与している可能性が改めて示された。

(3) ヒストプラスマ症診断法の開発

ヒストプラスマ症診断のための新規抗原抽出法を確立し、得られた抽出物から新規抗原候補タンパク質の検索を行った。

(4) アスペルギルス症診断法の開発

病理細胞診検体に FISH 法を応用することにより、アスペルギルス属における菌種レベルでの正確な判別が可能となることが推測された。

(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。この検出系は*Coccidioides immitis*と*C. posadasii*を明確に区別することもできる。さらにLUXプライマーを用いたrealtime PCRによって、高感度検出および2つの近縁種の区別が迅速簡便に行うことができる系を開発した。

(6) 深在性真菌症の国内発生状況

悪性腫瘍患者における真菌感染症の実態を日本病理学会の剖検輯報をもとに調査した。白血病患者のアスペルギルス感染頻度が高く増加しているが、消化器癌や呼吸器癌に真菌感染症を合併する患者実数が実際には多いことが明らかになった。

(7) 健康危険情報

カナダ･ブリティッシュコロンビア州のバンクーバー島東岸地方における病原真菌 *Cryptococcus gattii* のアウトブレーク情報を入手し、厚生労働省健康危機管理調整室に健康危険情報として通報した。

［上原至雅、鈴木和男、新見昌一、梅山　隆、亀井克彦・西村和子・佐野文子（千葉大真菌医学研究センター）、菊池　賢（順天堂大医学部）、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）、上 昌広（東京大学医科学研究所）、杉田 隆（明治薬科大学）］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Holmes AR, Tsao S, Ong S-W, Lamping E, Niimi K, Monk BC, Niimi M, Kaneko A, and Cannon RD. Heterozygosity and functional allelic variation in the *Candida albicans* efflux pump genes *CDR1* and *CDR2*. Molecular Microbiology, 62, 170-186, 2006.

2) Kaneko A, Umeyama T, Utena-Abe Y, Yamagoe S, Niimi M, Uehara Y. Tcc1p, a novel protein containing tetratrico

peptide repeat motif, interacts with CaTup1p to regulate morphological transition and virulence in *Candida albicans*. Eukaryotic Cell, 5, 1894-1905, 2006.

3) Holmes AR, Tsao S, Lamping E, Niimi K, Monk BC, Tanabe K, Niimi M and Cannon RD. Amino acid residue affecting drug pump function in *Candida albicans*. Japanese Journal of Medical Mycology, 47, 275-281, 2006.
4) Umeyama T, Kaneko A, Niimi M, Uehara Y. Repression of *CDC28* reduces the expression of the morphology-related transcription factors, Efg1p, Nrg1p, Rbf1p, Rim101p, Fkh2p, and Tec1p, and induces cell elongation in *Candida albicans*. Yeast, 23, 537-552, 2006.
5) Murayama SY, Negishi Y, Umeyama T, Kaneko A, Oura T, Niimi M, Ubukata K, Kajiwara S. Construction and functional analysis of fatty acid desaturase gene disruptants in *Candida albicans.* Microbiology, 152, 1551-1558, 2006.
6) Umeyama T, Sano A, Kamei K, Niimi M Nishimura K and Uehara Y. Novel approach to designing primers for identification and distinction of the human pathogenic fungi *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii* by PCR amplification. Journal of Clinical Microbiology 44, 1859-1862, 2006.
7) Umeyama T, Kaneko A, Watanabe H, Hirai A, Uehara Y, Niimi M and Azuma M. Deletion of the Ca*BIG1* gene reduces β-1, 6-glucan synthesis, filamentation, adhesion, and virulence in *Candida albicans*. Infection and Immunity, 74, 2373-2381, 2006.
8) Niimi, K., Maki, K., Ikeda, F., Holmes A. R., Lamping, E., Niimi, M., Monk, B. C., and Cannon, R. D. Overexpression of *Candida albicans CDR1, CDR2,* or *MDR1* does not produce significant changes in echinocandin susceptibility. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 50, 1148-1155, 2006.
9) Shimazu, T., Komatsu, Y., Nakayama, K-I., Fukazawa, H., Horinouchi, S., and Yoshida, M. : Regulation of SV40 large T-antigen stability by reversible acetylation. Oncogene 25, 7391-7400, 2006.
10) Murakami, Y., Yamagoe, S., Noguchi, K., Takebe, Y., Takahashi, N., Uehara, Y., and Fukazawa, H.: Ets-1-dependent expression of vascular endothelial growth factor receptors is activated by latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus through interaction with daxx. J Biol Chem 281, 28113-28121, 2006.
11) Masumi, A., Fukazawa, H., Shimazu, T., Yoshida, M., Ozato, K., Komuro, K., and Yamaguchi, K.: Nucleolin is involved in interferon regulatory factor-2-dependent transcriptional activation. Oncogene 25, 5113-5124, 2006.
12) Nakamura, H., Sasaki, Y., Uno, M., Yoshikawa, T., Asano, T., Ban, H. S., Fukazawa, H., Shibuya, M., and Uehara, Y.: Synthesis and biological evaluation of benzamides and benzamidines as selective inhibitors of VEGFR tyrosine kinases. Bioorg Med Chem Lett 16, 5127-5131, 2006.
13) Noguchi, K., Vassilev, A., Ghosh, S., Yates, JL., and DePamphilis, ML.: The BAH domain facilitates the ability of human Orc1 protein to activate replication origins in vivo. EMBO J 25, 5372-5382 2006.
14) DePamphilis, ML., Blow, JJ., Ghosh, S., Saha, T., Noguchi, K., and Vassilev, A.: Regulating the licensing of DNA replication origins in metazoa. Curr Opin Cell Biol 18, 231-239, 2006.
15) Yumura, W., Itabashi, M., Okawara, A., Tomizawa, K., Yamashita, J., Kaneshiro, Y., Nihei, H., and Suzuki, K. : A novel mouse model for MPO-ANCA-associated glomerulonephritis. Microbiol.Immunol. 50: 149-157, 2006
16) Hamano, Y., Tsukamoto, K., Abe, M., Sun, G.D., Zhang, D., Fujii, H., Matsuoka, S., Tanaka, M., Ishida-Okawara, A., Tachikawa, H., Nishimura, H., Tokunaka, K., Hino, O., Hirose, S., and Suzuki, K.: Genetic dissection of vasculitis: myeloperoxidase-specific antineutrophil cytoplasmic antibody production, and related traits in spontaneous crescentic glomerulonephritis-forming/kinjoh mice. J. Immunology. 176:3662-3673, 2006.
17) Miura, N., Harada, T., Shinohara, H., Kurihara, K., Adachi, Y., Ishida-Okawara, A., Oharaseki, T., Takahashi, K., Naoe, S., Suzuki, K., and Ohno, N. : Lethal and severe coronary arteritis in DBA/2 mice induced by fungal pathogen, CAWS, *Candida albicans* water-soluble fraction. Atherosclerosis. 186: 310-320, 2006
18) Fujimoto, S., Uezono, S., Hisanaga, S., Fukudome, K., Kobayashi, S., Suzuki, K., Hashimoto, H., Nakao, H., and Nunoi, H. : Incidence of ANCA-associated primary renal vasculitis in Miyazaki Prefecture: The first population-based, retrospective epidemiological survey in Japan. Clinical Journal of American Society of Nephrology. 1: 1016-1022, 2006.
19) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Ishida-Okawara, A., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H. : Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to host defense against *Cryptococcus neoformans*. J. Med. Microbiol. 55: 1291-1299, 2006.

20) Shinohara, H., Nagi-Miura, N., Ishibashi, K., Adachi, Y., Ishida-Okawara, A., Oharaseki, T., Takahashi, K., Naoe, S., Suzuki, K., and Ohno, N. : Beta-mannosyl linkages negatively regulate anaphylaxis and vasculitis inmice, induced by CAWS, fungal PAMPS composed of mannoprotein-beta-glucancomplex secreted by Candida albicans. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 29, 1854-1861., 2006

21) Persad, AS., Kameoka, Y., Kanda, S., Niho, Y., and Suzuki, K. : Arginine to Cysteine Mutation (R499C) Found in a Japanese Patient with Complete Myeloperoxidase Deficiency. Gene Expression 13: 67-71, 2006.

22) Nagao, T., Matsumura, M., Mabuchi, A., Ishida-Okawara, A., Koshio, O., Minamitani, H., and Suzuki, K. : Up-regulation of adhesion molecule expression in glomerular endothelial cells by anti-myeloperoxidase antibody. Neprol. Dialysis Transplant. 22: 77-87, 2007.

23) Ishikawa, J., Chiba, K. Kurita, H. and Satoh, H.: Contribution of *rpoB2* RNA polymerase β subunit gene to rifampin resistance in *Nocardia* species. Antimicrobiol. Agents Chemother. 50: 1342-1346, 2006.

24) Tsuchizaki, N., Ishino, K., Saito, F. Ishikawa, J., Nakajima, M. and Hotta, K.: Trends of arbekacin-resistant MRSA strains in Japanese hospitals (1979 to 2000). J. Antibiot. 59: 229-233, 2006.

25) Mukai, A., Fukai, T., Matsumoto, Y., Ishikawa, J., Hoshino, Y., Yazawa, K., Harada, K, and Mikami, Y.: Transvalencin Z, a new antimicrobial compound with salicylic acid residue from *Nocardia transvalensis* IFM 10065. J. Antibiot. 59: 366-369, 2006.

26) Chiba, K., Hoshino, Y. Ishino, K., Kogure, T., Mikami, Y., Uehara, Y., and Ishikawa, J.: Construction of a pair of practical *Nocardia-Escherichia coli* shuttle vectors. Jpn. J. Infect. Dis. 60: 45-47, 2007.

27) Ishino, K., Ishikawa, J., Tsuchizaki, N., and Hotta, K.: Usefulness of PCR-RFLP of coagulase gene to discriminate arbekacin-resistant MRSA. J. Clin. Microbiol. 45: 607-609, 2007.

28) Adachi, H., Kondo, K., Kojima, F., Umezawa, Y., Ishino, K., Hotta K., Nishimura, Y.: Synthesis and inhibitory activity of 8-substituted 2-deoxy-β-KDO against CMP-KDO synthetase. Nat. Prod. Res. 20: 361-370, 2006.

２．和文発表

1) 梅山　隆、上原至雅「真菌感染症の現況とその治療法」日本薬剤師会雑誌：58: 61-64, 2006

2) 鈴木和男 : 好中球自己抗体 MPO-ANCA の病原性と血管炎の病態、日本臨床免疫学会誌２９巻第２号 pp94-101、2006

3) 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、血栓止血誌　17 巻 2 号 223-229、2006

4) 猪原登志子、宇野賀津子、田中麻理、山本聡、米本智美、古宮俊幸、田原佐知子、辻井知美、塚本達雄、南方保、小野孝彦、深津敦司、北徹、岸田綱太郎、大川原明子、小林美登里、鈴木和男、武曾恵理 : MPO-ANCA 関連血管炎急性期のサイトカイン動態と大量ガンマグロブリン(IVIg)療法による変動、Pasken Journal、18:67-78;2007

5) 鈴木和男 : 血管炎治療のための人工ガンマグロブリンの開発に関する研究、日本血液代替物学会会誌「人工血液：14, 55-61, 2006

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1) Tanabe K, Takano Y, Uehara M, Niimi M.: Novel mutation in a fungal ABC protein result in insensitive to the efflux pump inhibitor FK506. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, 18-23 June, 2006, Kyoto, Japan.

2) Niimi K, Maki K, Ikeda F, Holmes AR, Lamping E, Niimi M, Monk BC, Cannon RD: Over-expression of CDR1, CDR2or MDR1 in Candida albicansdoes not cause siginificant chang in candin susceptibility. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, 25-29 June, 2006, Paris, France.

3) Niimi K, Harding DRK, Lamping E, Holmes AR, Niimi M, Cannon RD, Monk BC: Identification and characterization of a drug efflux pump inhibitor specific to Candida albicans ABC transporter Cdr1p2. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, 25-29 June, 2006, Paris, France.

4) Murayama SY, Negishi Y, Umeyama T, Kaneko A, Oura T, Niimi M, Ubukata K, Kajiwara S: Construction and functional analysis of fatty acid desaturase gene disruptants in *Candida albicans.* The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, 25-29 June, 2006, Paris, France.

5) Nozu, T., Matsumura, M., Nagao, T. , Kobayashi, M., Okawara, A., Hasegawa, A., Nakayama, T., Nagai, A, and Suzuki, K.: Function of the primary pulmonary endothelial

cells associated with activated neutrophils. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol, June 18-23, 2006, Kyoto.

6) Kobayashi, M., Matumura, M., Nagano, T., Hoshino, A., Okawara, A., Aratani, Y., Minamitani, H., and Suzuki, K.: Glomerular endothelial cell activation in vasculitis Induced by anti-myeloperoxidase antibody and activated neutrophils. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol, June 18-23, 2006, Kyoto.
7) Tachikawa, H., Okawara, O., and Suzuki, K.: Contribution of the systemic, splenic, and renal Th2 responses to the developing glomerulonephritis in ANCA-associated crescent-forming glomerulonephritis mice. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol, June 18-23, 2006, Kyoto.
8) Tomizawa, K., Suzuki, R., Tanokura, M., and Suzuki, K.: Analysis of MPO-ANCA Binding Site of MPO Molecule Surface Regions. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol, June 18-23, 2006, Kyoto.
9) Hoshino, A., Nagao, T., Tokunaka, K., Okawara, A., Ihara, T., Uno, K., Muso, E., Miura, N., Ohno, N., Yasuhara, M., Yamamoto, K., and Suzuki, K.: Myeloperoxidase (MPO) on Activation Neutrophils and anti-MPO Antibody involve the Initiation of Glomerulonephritis and Vasculitis induced by Candida albicans Glycoprotein. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol, June 18-23, 2006, Kyoto.
10) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Okawara, A., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H.: In vivo role of mylеloperoxidase for the host defense against fungal infection. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol, June 18-23, 2006, Kyoto.
11) Suzuki, K.: Kick-off Meeting on New Therapy in Avian Influenza ,August ,2006, Hanoi, Vietnam.
12) Hoshino, A., Yamamoto, K., and Suzuki K.: Activated neutrophils produce IL-17 and IL-23 by MPO-ANCA in Candida albicans-derived mannoprotein-induced murine systemic. The International Symposia for Bioimaging. October 28-30, 2006, Kyoto.
13) Suzuki, K., Hoshino, A., Nagao, T., Kobayashi, M., Ito-Ihara, T., Ishida-Okawara, A., Uno, K., Muso, E., Nagi-Miura, N., Ohno, N., and Yamamoto, K.: Trace of Antibody to Myeloperoxidase (MPO) with Nanocrystal Quantum Dots-labeled Antibody Recognizing Activating Neutrophils in Glomerulonephritis. The International Symposia for Bioimaging. October 28-30, 2006, Kyoto.
14) Itabashi, M., Yumura, W., Ishida Okawara, A., Yamashita, J., Kaneshiro, Y., Suzuki, K., and Nitta, K.: The Cytokine Network in Model Mouse of MPO-ANCA-Associated Glomerulonephritis. 39th annual meeting of American Society of Nephrology, November 14-19, 2006, San Deigo.
15) Suzuki, K.: Seminar in Seoul College of Medicine: Bioimaging on In-vivo Imaging of Vasculitis and Thrombus Formation. January 18-19, 2007, Seoul.
16) Uno, K., Muso, E., Ihara, T., Komiya, T., Omatsu, Y., Mitsuishi, Y., Inaba, K., and Suzuki, K.: IFN-α production and peripheral plasmacytoid dendritic cell activity in MPO-ANCA-associated glomerulonephritis and vasculitis. Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.
17) Suzuki, K.: Needs of Synthetic IVIg in the World. Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.
18) Suzuki, K.: IV. Development of Therapy with Synthetic IVIg. Summary. Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.
19) Kobayashi, S., Ito-Ihara, T., Suzuki, K., Fujimoto, S., Nunoi, H., RA Watts, DG Scott, DJ Jayne, Hashimoto, H., and the Japan-UK AVV Study Group. : Incidence of ANCA-associated vasculitis in Japan: a preliminary report from Japan-UK collaboration study. Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.
20) Uemura, K., Hiasa, S., Ishida-Okawara, A., Ning Liu, Kan Saiga, Ito-Ihara, T., Muso, E., Kawasaki, T., Ono, T., and Suzuki, K.: Involvement of lectin complement pathway in ANCA-associated glomerulonephritis of SCG/Kj mice. Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.
21) Uno, K., Muso, E., Ihara, T., Komiya, T., Suzuki, K.: IFN-α production and peripheral plasmacytoid dendritic cell activity in MPO-ANCA-associated glomerulonephritis and vasculitis. Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.
22) Kawachi, S., Maehara, Y., Yamamoto, K., Oshima, M., and Suzuki, K.: Treatment of FARDS (H5N1 Flu) with IVIg is Effective? Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.
23) Muso, E., Ito-Ihara, T., Komiya, T., Uno, K., Suzuki, K.: Clinico-immunopathological research for the effect of Intravenous Immunoglobulin therapy(IVIg) on MPO-ANCA related microscopic polyangiitis(MPA) with rapidly progressive glomerulonephritis(RPGN). Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.
24) Ohno, N., Nagi-Miura, N., Ishida-Okawara, A., Takahashi, K., Oharaseki, T., Furutani, M., Aratani, Y., Kameoka, Y., Naoe, S., and Suzuki, K.: Application of synthetic IVIG to

treat CAWS-vasculitis in mice. Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.

25) Takahashi, K., Oharaseki, T., N. Miura, N., Ohno, N., I. Okawara, A., Naoe, S., and Suzuki, K.: Inhibitory effect of human immunoglobulin (h-IG) in mice vasculitis model caused by CAWS, Candida albicans water soluble fraction. Symposium on Vasculitis. February 6, 2007, Tokyo.

26) Muso, E., Uno, K., Ito-Ihara, T., Komiya, T., Kishida, T., and Suzuki, K.: Impaired biodefense in the active phase of MPO-ANCA positive polyangiitis with RPGN;highly suppressed IFN production with abnormal localization of plasmacytoid dendritic cells. The 5th International Meeting on Human Peroxidases, February 20-23, 2007, Akaroa, New Zealand.

27) Suzuki, K.: Trace of Myeloperoxidase (MPO) in Vasuculitis Development Otago Univ., Dunedin, February 20-23, 2007, New Zealand.

28) Suzuki, K.: Direct Activation of Glomerular Endothelial Cells by Anti-MPO Antibody.The 5th International Meeting on Human Peroxidases, February 20-23, 2007, Akaroa, New Zealand.

29) Kameoka, Y., Kasama, T., Suzuki, T., Ito-Ihara, T., Muso, E., and Suzuki, K.: Localization of the leader peptide of myeloperoxidase. The 5th International Meeting on Human Peroxidases, February 20-23, 2007, Akaroa,

30) Miura, N. N., Shinohara, H., Komai, M., Adachi, Y., Oharaseki, T., Takahashi, K., Okawara, A. I., Suzuki, K., and Ohno, N.: Analysis of coronary arteritis induced by C. albicans extracellular mannoprotein in various strains of mice. 1st International Fungal/Plant Cell Wall Meeting, March 10-14, 2007, Anglet, France.

2．国内学会等

1) 新見昌一: 出芽酵母を利用した *C. albicans* ABC 輸送体の遺伝子解析 第27回関東医真菌懇話会 平成18年5月27日、東京

2) 梅山　隆、佐野文子、新見昌一、亀井克彦、西村和子、上原至雅：コクシジオイデス症原因菌*Coccidioides immitis*および*Coccidioides posadasii*の同定および分類：新しいアプローチによる遺伝子診断用プライマーの開発　第50回日本医真菌学会総会 平成18年10月21-22日、東京

3) 中山　浩伸、田辺公一、知花博治、新見昌一：*Candida glabrata*のステロール取り込みに関わる遺伝子群の解析 第50回日本医真菌学会総会 平成18年10月21-22日、東京

4) 花岡希、普後　一、新見昌一：カイコガ幼虫を用いた*Candida albicans*病原性関連プロテインホスファターゼの探索 第50回日本医真菌学会総会 平成18年10月21-22日、東京

5) Lamping E, Nakamura K, Ranchod A, Holmes AR, Niimi K, Niimi M and Cannon1 RD. : Investigating the innate resistance of *Candida krusei* to azole antifungal drugs 第50回日本医真菌学会総会 平成18年10月21-22日、東京

6) Niimi K, Harding DRK, Holmes AR, Lamping E, Niimi M, Cannon RD and Monk BC.: Identifying novel aspects of ABC transporter structure and function using surface-active chemosensitizers. 第50回日本医真菌学会総会 平成18年10月21-22日、東京

7) 花岡希、普後　一、新見昌一：カイコガ幼虫感染実験モデルを用いた *Candida albicans* 病原性関連プロテインホスファターゼの同定 第3回真菌分子細胞研究会 平成18年11月28‐29日、千葉

8) 梅山　隆、金子亜希、新見昌一、上原至雅 *Candida albicans*形態チェックポイントキナーゼによる菌糸生育制御機構 第3回真菌分子細胞研究会 平成18年11月28‐29日、千葉

9) Lamping E, Niimi K, Holmes AR, Monk BC, Tanabe K, Niimi M and Cannon RD: Studying drug resistance mechanisms of pathogenic fungi 第3回　真菌分子細胞研究会 平成18年11月28‐29日、千葉

10) 田辺公一: 病原真菌ABCタンパク質と基質の相互作用 第3回　真菌分子細胞研究会 平成18年11月28‐29日、千葉

11) 中山浩伸、田辺公一、竹森大樹、青山俊弘、知花博治、新見昌一: *Candida glabrata*におけるステロールトランスポター*AUS1*の薬剤感受性への関与 第3回 真菌分子細胞研究会 平成18年11月28‐29日、千葉

12) 村山琮明、根岸由美子、梅山　隆、金子亜希、大浦隆宏、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（*CaFAD*s）破壊株のDNAアレイとreal-time PCR法によるtranscriptome解析 第3回 真菌分子細胞研究会 平成18年11月28‐29日、千葉

13) 新見昌一: 病原真菌ABCトランスポーターの阻害剤の探索 第3回 真菌分子細胞研究会 平成18年11月28‐29日、千葉

14) 竹森大樹、Martin Bard、田辺公一、新見昌一、Sung Wu、Wesley Hodgson、青山俊弘、知花博治、中山浩伸 病原性真菌*Candida glabrata*のステロールトランスポター*CgAUS1*の薬剤感受性への関与 日本分子生物学会フォーラム 平成18年12月6-8日、神戸

15) 梅山　隆：二形性真菌*Candida albicans*の形態チェックポイントキナーゼに よる菌糸生育の制御機構　４ラボセミナーVIII　平成18年12月22日、東京

16) 田辺公一、高野幸枝、梅山隆、上原至雅、新見昌一：病原真菌ABCトランスポーターと阻害剤の相互作用 第5回感染症沖縄フォーラム 平成19年2月22−24日、沖縄

17) 中山浩伸、田辺公一、竹森大樹、青山俊弘、新見昌一: *Candida glabrata*のステロールトランスポーターAUS1の薬剤感受性への関与 第5回感染症沖縄フォーラム 平成19年2月22−24日、沖縄

18) 新見昌一、田辺公一、高野幸枝、梅山隆、上原至雅：病原真菌*C. albicans*のABCトランスポーターCdr1pとFK506の相互作用 第80回日本細菌学会総会 平成19年3月26−28日、大阪

19) 中山浩伸、田辺公一、新見昌一、知花博治: 病原真菌*Candida glabrata*のステロールトランスポータを介したアゾール耐性機構 第80回日本細菌学会総会 平成19年3月26−28日、大阪

20) 村山そう明、川本進、新見昌一、生方公子　（会員外共同研究者：根岸由美子、大浦隆宏、梶原　将、山口正視、梅山隆、金子亜希）*Candida albicans*脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(CaFADs)破壊株の表現型とトランスクリプトーム解析 第80回日本細菌学会総会 平成19年3月26−28日、大阪

21) 深澤秀輔：プロテインキナーゼ阻害剤の探索。第23回Combinatorial Chemistry研究会　平成18年9月26ー27日、東京

22) 野口耕司、Melvin DePamphilis：DNA複製開始点におけるヒトORC1蛋白質のBAHドメインの関与。日本薬学会第127年会　平成19年3月28－30日、富山

23) 永井厚志、近藤光子、野津朋子、鈴木和男：間質性肺炎におけるANCA陽性例のPrevalenceと病態、第103回日本内科学会総会・年次講演会　平成18年4月14－16日、横浜

24) 太刀川仁、Mahmoud Ramadan、小玉　誠、大川原明子、三間　渉、伊藤正洋、柏村　健、広野　暁、鈴木和男、相澤義房：冠動脈疾患患者におけるMPO-ANCAの挙動、第103回日本内科学会総会・年次講演会　平成１８年4月14－16日、横浜

25) 宇野賀津子、松崎智彦、奥野清隆、猪原登志子、武曾恵理、鈴木和男、菅典道、及川佐枝子、加藤琢磨、羽室淳爾、三石瑤子、岸田綱太郎：モノサイトの細胞内レドックス状態の評価指標としてのグルタチオンインデックスの有用性、弟6回抗加齢医学会総会、ホテルニューオータニ　平成18年5月19－20日、東京

26) 荒谷康昭、倉文明、渡辺治雄、高野幸枝、大川原明子、鈴木和男、小山秀機：クリプトコッカス感染防御におけるミエロペルオキシダーゼの関与、第27回関東医真菌懇話会　平成18年5月27日、東京

27) 鈴木和男：1)活性化好中球とＭＰＯ−ＡＮＣＡによる糸球体内皮細胞傷害、第49回日本腎臓学会学術総会　シンポジウム「ＡＮＣＡ関連血管炎の病理と臨床」　平成18年6月14－16日、東京

28) 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関連腎炎におけるIL-12とIL-18の動態、第49回日本腎臓学会学術総会　シンポジウム「ＡＮＣＡ関連血管炎の病理と臨床」　平成18年6月14－16日、東京

29) 鈴木和男：好中球抗体による血管内皮細胞傷害、日本生体防御学会、懇談セミナー、平成18年6月17日、横浜

30) 鈴木和男：感染症シミュレーション、第6回日英科学技術協力合同委員会に向けた有識者会合　平成18年6月19日、東京

31) 猪原登志子、宇野賀津子、古宮俊幸、辻井知美、米本智美、田中麻里、田原佐知子、塚本達雄、岸田綱太郎、小野孝彦、深津敦司、北徹、鈴木和男、武曾恵理：ANCA関連腎炎におけるIL-12, IL-23, IL-18の動態、第71回日本インターフェロン･サイトカイン学会　平成18年7月7－8日、神戸

32) 小林美登里、松村実実子、長尾朋和、荒谷康昭、星野昭芳、大川原明子、山本健二、南谷晴之、鈴木和男：血管炎発症に関わるMPO-ANCAは直接糸球体内皮細胞へ作用する、第17回日本生体防御学会学術集会　平成18年7月27－29日、札幌

33) 鈴木和男：慢性疾患の診断治療のDDSイメージング、化学工学会第38回秋季大会　平成18年9月16－18日、福岡

34) 荒谷康昭、倉文明、渡辺治雄、赤川久義、高野幸枝、大川原明子、鈴木和男、小山秀機：第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

35) 原田敏江、三浦典子、安達禎之、Keiko Ozato、鈴木和男、大野尚仁：CAWS血管炎におけるIRF-8の役割、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

36) 大川原明子、三浦 典子、大原関利章、高橋啓、岡田秀親、大野尚仁、鈴木和男：CAWS培養条件の違いによる好中球活性化への影響、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

37) 三浦典子、安達禎之、大原関利章、高橋啓、大川原明子、鈴木和男、大野尚仁：各種マウス系統を用いたCAWS

血管炎発症に関わる遺伝的素因の解析第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

38) 駒井元彦、高野雄介、三浦典子、安達禎之、鈴木和男、大野尚仁：CBA/J，CBA/Nマウスにおける CAWS血管炎の検討第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

39) 宇野賀津子、武曾恵理、猪原登志子、古宮俊幸、鈴木和男、岸田綱太郎：IFN産生能と発癌リスク：MPO-ANCA腎炎と種々の疾患のIFN産生能からの考察、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

40) 猪原登志子、武曾恵理、宇野賀津子、大川原明子、山西裕司、田村直人、小林茂人、鈴木和男、橋本博史：ANCA-ELISA測定法の違いに関する研究、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

41) 武曾恵理、宇野賀津子、猪原登志子、古宮俊幸、岩崎由加子、岸田綱太郎、鈴木和男：急速進行性糸球体腎炎を呈するMPO-ANCA陽性MPA患者の末梢血IFNα産生能障害とplasmacytoid dendritic cell(pDC)発現低下の関与、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

42) 高橋啓、大原関利章、山田仁美、三浦典子、大野尚仁、村山研、野津朋子、松村実美子、大川原明子、鈴木和男、新井孝夫、荒谷康昭：CAWS誘発血管炎モデルにおける合成免疫グロブリン(SyIG)の血管炎抑制作用、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

43) 古谷昌弘、荒谷康昭、亀岡洋祐、大野尚仁、鈴木和男：人工ポリクローナル免疫グロブリンの開発、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

44) 星野昭芳、猪原登志子、宇野賀津子、武曾恵理、山本健二、鈴木和男：抗MPO抗体誘導マウス全身血管炎モデルにおける活性化好中球からのサイトカイン産生、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

45) 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：MPOリーダーペプチドは好中球顆粒に局在する、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

46) 富澤一夫、大川原明子、雑賀寛、田之倉優、鈴木和男：急性進行性糸球体腎炎モデルSCG/Kjマウスの MPO-ANCA病因エピトープは治療により減少する、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

47) 鈴木和男：MPOによるインフルエンザ感染防御、第12回ＭＰＯ研究会　平成18年9月22－23日、大阪

48) 鈴木和男：好中球殺菌酵素MPOを抗原とする自己抗体HPO一州CÅの病因解析と病態、第168回月例薬学セミナー　平成18年9月25日、静岡

49) 鈴木和男：極微小のかたちをみるバイオイメージング、第15回バイオイメージング学会　平成18年10月31日－11月2日、盛岡

50) 星野昭芳、山本健二、鈴木和男：抗MPO自己抗体誘導マウス全身血管炎モデルにおける抗体の挙動を蛍光ナノ粒子標識QD抗MPO抗体でイメージングする、第15回バイオイメージング学会　平成18年10月31日―11月2日、盛岡

51) 鈴木和男、安田英典：”Simulation of Spreading New Influenza”（新型インフルエンザ流行のシミュレーション）、第15回国際医療協力シンポジウム「Preparedness and responsign for outbreak of emerging influenza」（新型インフルエンザ流行に備えて）　平成18年11月17日、東京

52) 安田英典、鈴木和男：大都市近郊のインフルエンザ流行伝播シミュレーション、第3回生物数学の理論とその応用　平成18年12月4－7日、京都

53) 大川原明子、三浦典子、大原関利章、高橋啓、岡田秀親、大野尚仁、鈴木和男：「Neutrophil Activation by CAWS in Different Cultured Condition」（培養条件の異なる*C.albicans*より精製したCAWSによる好中球活性化の相違）、第36回日本免疫学会総会・学術集会　平成18年12月11－13日、大阪

54) 星野昭芳、大川原明子、山本健二、鈴木和男：「Activated neutrophils produce IL-17 and IL-23 by MPO-ANCA in Candida albicans-derived mannoprotein-induced murine systemic」（カンジダ由来マンノプロテイン誘導のマウス全身性血管炎におけるMPO-ANCAによって活性化された好中球がIL-17とIL-23を産生）、第36回日本免疫学会総会・学術集会　平成18年12月11－13日、大阪

55) 宇野賀津子、尾松芳樹、猪原登志子、鈴木和男、武曾恵理、岸田綱太郎：「Correlation between the number of plasmacytoid dendritic cells and IFN-α production upon stimulation with Sendai virus in human peripheral blood」（プラズマチド樹状細胞数とヒト末梢血液をセンダイウイルスで刺激した時のIFN-α産生能の相関関係）、第36回日本免疫学会総会・学術集会　平成18年12月11－13日、大阪

56) 三浦典子、安達禎之、大原関利章、高橋啓、大川原明子、鈴木和男：CAWS血管炎の発症と重篤かに関わる遺伝的素因の各種マウス系統を用いた解析、第36回日本免疫学会総会・学術集会　平成18年12月11－13日、大阪

57) 武曾恵理、宇野賀津子、猪原登志子、古宮俊幸、尾松芳樹、岸田綱太郎、鈴木和男：「Abnormally impaired IFNα production (IFNα-P) in MPO-ANCA related polyangiitis with RPGN and its modulation by

intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy 」(MPO-ANCA関連急性糸球体腎炎患者のIFNα産生の異常の大量免疫グロブリン療法による修飾)、第36回日本免疫学会総会・学術集会　平成18年12月11－13日、大阪

58) 鈴木和男:世界各国のインフルエンザ対策の考え方や対策、「新型インフルエンザ対策」講演会　平成18年12月20日、千葉

59) 武曾恵理、宇野賀津子、猪原登志子、古宮俊幸、鈴木和男：MPO-ANCA陽性顕微鏡的血管炎に伴う急速進行性糸球体腎炎へのIVIg治療効果発現機序におけるIFNαの関わり　厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業　進行性腎障害に関する調査研究、平成18年度研究業績発表会　平成19年1月28日、東京

60) 鈴木和男:ナノ技術の多元と諸相『量子ドットを用いた好中球抗体ANCAの作用解析とバイオイメージング』、BiomarkerとDDS　平成19年2月15日、神戸

61) 大原関利章、横内　幸、若山　恵、伊原文恵、山田仁美、直江史郎、三浦典子、大野尚仁、大川原明子、鈴木和男、高橋　啓:川崎病類似マウス動脈炎における免疫組織学的検討、96回日本病理学会総会　平成19年3月13－15日、大阪

62) 鈴木和男：“Contribution of Myeloperoxidase to the Development of Vasculitis”（血管炎発症にかかわるMyeloperoxidase）、熊本大学医学部平成18年度　拠点形成研究Ｂ「バイオラジカル制御による血管病変治療戦略」シンポジウム「メタボロミックスと血管病変」　平成19年3月23日、熊本

63) 松本優子、五ノ井 透、武田健二郎、矢沢勝清、星野泰隆、石川 淳、三上 襄: *Nocardia*のシデロフォア生産性とその生産に関与する遺伝子、第21回日本放線菌学会大会　平成18年7月13-14日、木更津

64) 千葉和宏、石野敬子、星野泰隆、佐藤浩之、石川 淳: *Nocardia-E. coli*シャトルベクターの開発および*Nocardia*における*nfa31340*遺伝子のトブラマイシン耐性への関与、第21回日本放線菌学会大会　平成18年7月13-14日、木更津

65) 石川 淳、千葉和宏、栗田晴代、星野泰隆、石野敬子: *Nocardia*における*rpoB2* RNAポリメラーゼβサブユニット遺伝子のリファンピシン耐性への関与、第21回日本放線菌学会大会　平成18年7月13-14日、木更津

66) 高橋俊二、豊田 敦、田村朋彦、植木雅志、大利 徹、石川 淳、池田治生、榊 佳之、長田裕之: リベロマイシンA生合成遺伝子クラスターの解析、第21回日本放線菌学会大会　平成18年7月13-14日、木更津

67) 服部正平、黒川 顕、伊藤武彦、桑原知己、大島健志朗、藤 英博、森田英利、石川 淳、伊藤喜久治、高見英人、林 哲也: ヒト腸内細菌叢のメタゲノム解析、第1回日本ゲノム微生物学会年会　平成19年3月1-3日、木更津

68) 大西康夫、山下敦士、石川 淳、鈴木宏和、原 啓文、池谷美和、池田治生、服部正平、堀之内末治: 放線菌*Streptomyces griseus*の全ゲノム解読、日本農芸化学会2007年度大会　平成19年3月24-27日、東京

69) 高橋俊二、豊田 敦、田村朋彦、植木雅志、大利 徹、石川 淳、池田治生、榊 佳之、長田裕之: リベロマイシンA生合成遺伝子クラスターの解析、日本農芸化学会2007年度大会　平成19年3月24-27日、東京

70) 五ノ井 透、武田健二郎、向井 啓、星野泰隆、矢沢勝清、三上 襄: *Nocardia*属菌60種が生産する鉄キレート分子の多様性の解析、第80回日本細菌学会総会　平成19年3月26-28日、大阪

Ⅲ. 特　許　出　願

上原至雅、梅山　隆、新見昌一、西村和子、亀井克彦、佐野文子　コクシジオイデス症病原体検出のためのプライマー　平成 18 年 12 月 PCT 出願

１０．細胞化学部

部長　花田　賢太郎

概　要

当部の目的は、「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、膜脂質の代謝と機能に関する研究、毒素進入に関わる研究、ウイルス感染における細胞機能の研究、抗感染症薬を指向した代謝阻害剤の開発研究など、幅広い分野で成果を挙げた。

プリオン病に関する研究では、異常プリオンの細胞内蓄積を抑制する分子の開発や、サルへ伝播させた異常プリオンの生体内分布解析を行うなど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 18 年度は 7 件の検査を実施した。

人事異動では、平成 18 年 4 月 1 日付けで、花田賢太郎が部長職を拝命し、萩原健一主任研究官が第一室長に昇任し、前濱朝彦が東京都臨床医学総合研究所から第四室長として着任した。また、7 月 1 日付けで深澤征義主任研究官が第三室長に昇任した。そして、11 月 1 日付けで谷田以誠が順天堂大学大学院医学研究科から第二室長として着任し、山地俊之が理化学研究所から第二室研究員として着任した。一方、平成 19 年 3 月 31 日付けで三浦雅美研究員が定年退職した。三浦研究員の当部および研究所への長年の貢献に感謝の意を表したい。大変残念な出来事として、プロスタグランジン合成制御機構の研究を中心に活躍し、様々な点で当部に貢献してくださっていた田中康仁主任研究官が平成 19 年 2 月 2 日に享年 58 歳で病没された。細胞化学部一同、田中主任研究官のご冥福を心よりお祈り申し上げる。

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 財団などから援助を受けた。

以下に本年度の業績を記す。

業　績

調査・研究

Ⅰ．プリオン病に関する研究

(1) 非定型的 BSE プリオンの近交系マウスへの伝搬実験

厚労省の全頭検査（2001 年～）及び農水省の死亡牛検査(2003 年～)により、我が国では 32 頭の BSE 罹患ウシが確認されている（2007 年 3 月 31 日現在)。このうち 24 例目の罹患ウシ（BSE/JP24）では、脳内に蓄積した異常型プリオン蛋白質の糖鎖型が、典型 BSE の異常型プリオン蛋白質とは異なり、むしろヒト・孤発性 CJD に類似していた（平成 17 年度年報参照)。このような非定型 BSE は、伊、仏、独、米国などにおいても近年発見されており、その起源や感染性について議論がなされているが、未だ不明な点が多い。そこで非定型 BSE プリオンの感染性の検証、および生化学的・病理学的性状を解析するため、BSE/JP24 の脳ホモジネートを近交系マウス 3 系統の脳内に接種した。典型 BSE を接種したマウス対照群とともに、現在、経過を観察中である。

［萩原健一、山河芳夫、中村優子、大内史子］

(2) 霊長類（カニクイザル）への BSE の伝達-脳内接種による発症とそれに伴う行動解析

ヒト vCJD の発症モデルとして、カニクイザル(cynomolgus macaques)への BSE の伝達を試みた。BSE 感染ウシ（典型例；BSE/JP6）の 10% 脳乳剤、0.2ml を幼若カニクイザルに脳内接種したところ、3 頭中 2 頭(#7, #10)において接種後 26 ヶ月目頃より驚愕・過敏反応等の行動異常が認められ、次いで振戦や麻痺などの神経症状が顕著となった。これらの症状は緩徐進行性に経過し、発症の約 3 ヶ月後に起立不能となった。前肢運動機能評価（アップルテスト）では、発症に伴う報酬回収時間の遅延が認められた。一方、記憶能試験（指迷路試験）では、神経症状の発現初期には成功率に顕著な変化は認められな

かったが、症状の進行に伴い迷路実施中の折り返し操作の増加、および成功率の低下が認められた。また脳波は、発症期から末期にかけてδ波が不明瞭となるが、孤発性CJDに特徴的なPSDは認められなかった。

［山河芳夫、中村優子、萩原健一、佐藤由子・飛梅実・佐多徹太郎（感染病理部）、小野文子（予防衛生協会）、寺尾恵治（医薬基盤研・霊長類センター）］

(3) 霊長類（カニクイザル）へのBSEの伝達-脳内接種後のプリオンの生体内分布の解析

BSEプリオンを脳内接種したカニクイザルの組織について、病理学的・生化学的な解析を行った。脳の病理解析では、ヒト変異型CJDに特徴的なflorid plaqueに相当する免疫染色像を大脳皮質に認めた。一方、視床には、BSEの場合と類似した線状・顆粒状のプリオンの蓄積像を認めた。ウエスタンブロット(WB)法による生化学的分析の結果、脳及び中枢神経組織にはvCJD/BSEプリオンと同様の2B型(4型)プリオンが顕著に蓄積していることがわかった。さらにWB法により末梢の組織、臓器についてプリオンを精査したところ、#7のサルでは座骨神経／正中神経などの末梢神経および顎下リンパに極微量（脳の1/1000以下）の蓄積を認めたが、#10の末梢神経系およびリンパ節ではプリオンを検出できなかった。なお、いずれの個体においても、実質臓器及び白血球画分にはプリオンを検出することができなかった。

［山河芳夫、中村優子、萩原健一、佐藤由子・飛梅実・佐多徹太郎（感染病理部）、小野文子（予防衛生協会）、寺尾恵治（医薬基盤研・霊長類センター）］

(4) P9ペプチドによる異常型プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）蓄積の阻害機構についての研究

プリオンを感染させたマウス神経芽腫細胞（ScN2a細胞）においては、内因性の正常型プリオン蛋白質（PrP^{C}）が異常型プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）に変換されて、細胞に蓄積する。今回、PrP^{C}に由来するペプチド（P9）がScN2a細胞でのPrP^{Sc}の産生・蓄積を顕著に阻害することを見出し、その抗プリオン活性の発現機作を検討した。その結果、P9はPrP^{C}の合成・分解には影響を与えずに、PrP^{Sc}の蓄積量を減少させることが明らかとなった。リソソームプロテアーゼに対する阻害剤によりP9の活性は減弱されたが、プロテアソーム阻害剤によるP9の活性低下や、オートファジーのマーカー分子(LC3-II)の上昇は認められなかった。さらに免疫染色法による観察から、細胞内のPrP^{Sc}蓄積部位へのカテプシンDの集積をP9が促進することが示唆された。以上より、P9はリソソームによるPrP^{Sc}の分解を促進すると考えられる。

［中村優子、山河芳夫、谷田以誠、萩原健一］

(5) P9ペプチドの構造と活性の相関についての検討

P9の一次構造と抗プリオン活性との相関を検討した。電子顕微鏡による観察から、P9はアミロイド様の線維構造を容易に形成することがわかった。興味深いことに、P9のアミノ酸配列を反転させたペプチド(Rv)、あるいはアミノ酸を任意の配列に再配置したペプチド(Rm)も同様の線維を形成した。このような物理化学的性質は、平行βシートをモチーフとする繊維状ペプチドにおいて指摘されており、P9も平行βシート構造を有すると類推された。酵母プリオンのSup35蛋白質に由来するペプチドは、平行βシート構造による線維を形成することが知られている。そこで、P9、Rv、Rm、Sup35ペプチドについて、ScN2a細胞での抗プリオン活性を比較・検討した。その結果、Rv、RmはP9と同等の活性を発揮したが、Sup35は無効であった。また、P9のC末端部を欠失させると活性が著しく低下することも明らかとなった。

［中村優子、山河芳夫、花田賢太郎、萩原健一］

(6) プリオン病の発症過程における脳のプロテオーム変動解析

マウス順化スクレーピー病原体（Obihiro I株）を接種したマウスの脳を対象として、PrP^{Sc}の蓄積に伴って変動する蛋白質の経時的・網羅的解析を進めている。これまでに、PrP^{Sc}の脳内への蓄積が顕著となる100日目以降においてGFAP、抗酸化ストレス蛋白質群が増加すること、vacuolar ATPaseの膜表在サブユニットが減少すること、さらにCRMP-2のC末端領域の欠失したアイソフォームが増加することを明らかにしてきた。本年度は、CRMP-2のC末端領域をMS／MS質量分析法により解析し、C末端部の欠失がCRMP-2の機能（神経軸索の伸展）調節に必須のリン酸化部位を含む領域に生じていることを明らかにした。これまでに得た実験データから、欠失は転写レベル（mRNAのスプライシング）によるものではなく、翻訳後の蛋白質切断によると考えている。

［大内史子、萩原健一、中村優子、山河芳夫］

(7) プリオンへの感染におけるスフィンゴ糖脂質の役割の解析

ScN2a細胞をグルコシルセラミド合成酵素に対する阻害剤（PDMP）とともに培養するとPrP^{Sc}の産生・蓄積が阻害される。一方、フモニシンなどによるセラミド生合成の阻害は、PrP^{Sc}の産生・蓄積へ影響しない。このよう

な培養細胞での実験結果をもとに、プリオンへの感染におけるスフィンゴ糖脂質の役割を個体レベルにおいて検討すべく、ガングリオシド生合成酵素のノックアウト・マウス 2 系統にスクレーピー病原体（Obihiro I 株）を脳内または腹腔内に接種した。現在、経過を観察中である。

［萩原健一、山河芳夫、大内史子、中村優子、花田賢太郎、山下匡（北大・先端生命科学研究院)］

Ⅱ．オートファジーに関わる研究

(1) オートファジー評価系とオートファジーモニター細胞株の確立

オートファジーは、細菌感染をはじめ、ウイルス感染・増殖、細胞内タンパク質凝集体との関わりがある。まず基盤となるためのオートファジーを評価する実験系を確立した。また、現在オートファジーのマーカーとして使われている GFP-LC3 の問題点が指摘されているために、それに対する陰性コントロールの系を作成した。また、ウイルス感染・増殖とオートファジーの関係を視覚化し、細胞生物学的に明らかにするために、GFP-ヒト LC3 を発現する安定発現株を樹立した。今後、これらの系を用いて研究を展開していく予定である。

[谷田以誠、山地俊之、花田賢太郎]

Ⅲ．病原体感染における宿主細胞機能に関する研究

1． Ｃ型肝炎ウイルス(HCV)に関する研究

(1) HCV コアタンパク質発現細胞における脂肪酸生合成の上昇

HCV コアタンパク質は宿主細胞機能に様々な影響を及ぼすことが知られている。今回我々は、コアタンパク質発現・非発現肝培養細胞を用いて脂肪酸代謝を解析した結果、コアタンパク質発現細胞において脂肪酸生合成の有意な上昇がみられた。特に、脂肪酸生合成の律速酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼ 1 の遺伝子発現・タンパク質量の上昇、酵素活性の上昇が認められた。この現象と HCV 感染における脂肪蓄積との関連が注目される。

［深澤征義、田中康仁、花田賢太郎、西島正弘、鈴木哲朗（ウイルス第二部)、宮村達男(所長)］

(2) HCV 産生に対する宿主タンパク質ビメンチンの影響

HCV コアタンパク質はウイルス構造タンパク質としてウイルス産生に必須の分子である。昨年度、コアタンパク質発現・非発現肝培養細胞の界面活性剤不溶性画分を用いた比較プロテオーム解析から、コアタンパク質発現細胞でビメンチン（中間径フィラメント蛋白質）の顕著な低下がみられた。そこで、宿主ビメンチン分子発現量とウイルス産生能の関連について、宿主細胞におけるビメンチンの過剰発現及びノックダウン(siRNA)により検討した。過剰発現によりウイルス産生は低下し、ノックダウンによりウイルス産生が上昇したことから、宿主ビメンチン発現量が HCV 産生に重要であることが明らかとなった。

［深澤征義、笠原優子、花田賢太郎、西島正弘、鈴木哲朗・脇田隆字（ウイルス第二部)、宮村達男(所長)］

2． シンドビスウイルス（SINV）の複製に関わる宿主因子変異株の分離

我々は、SINV の複製に伴う細胞死を利用して、同ウイルスの RNA 複製過程に関わる宿主因子の変異株の分離を試みた。過剰発現によって SINV 複製を抑制するような遺伝子を見出すことを目的として、HeLa 細胞 cDNA ライブラリーを CHO 細胞に導入した後、SINV を感染させ、生き残る細胞株をスクリーニングした。～10^7 細胞をスクリーニングしたが、細胞死耐性株は得られなかった。今後は機能欠失型変異株を作製し、同様のスクリーニングを行う予定である。また、SINV による RNA 複製をレポーター蛋白質の活性でモニターできる SINV レプリコンを用い、より複製過程に焦点を絞ったスクリーニング系を構築している。

[齊藤恭子、花田賢太郎]

3． 病原体感染におけるイノシトールリン脂質動態の研究

(1) イノシトールリン脂質プローブの作製

イノシトールリン脂質群は細胞膜の構成成分であるとともに様々な細胞外刺激や細胞外環境の変化を細胞内へと伝達する情報伝達物質として極めて重要な役割を担っている。我々は C 型肝炎ウイルス（HCV）あるいは異常型プリオンの感染に応答した宿主細胞内におけるイノシトールリン脂質群動態を詳細に検討するため、それぞれのイノシトールリン脂質に特異的に結合するタンパク質ドメインを蛍光タンパク質 mVenus と融合したプローブタンパク質を作製し、その評価を行った。今回用いたタンパク質ドメインは P40PHOX の PX ドメイン（ホスファチジルイノシトール（PI） 3-リン酸と結合)、FAPP1 の PH ドメイン（PI 4-リン酸と結合)、TAPP1 の PH ドメイン（PI 3,4-二リン酸と結合)、PLCd の PH ドメイン（PI 4,5-二リン酸と結合)、GRP1 の PH ドメイン（PI 3,4,5-三リン酸と結合）である。これらの mVenus 融合タンパク質は細胞内において、それぞれエンドソーム、ゴルジ体・小胞

体、細胞膜等へ局在することが観察され、イノシトールリン脂質群の動態解析に有用であることが明らかとなった。
［前濱朝彦、花田賢太郎］

(2) HCV 感染におけるイノシトールリン脂質動態の解析
前項にて作製したイノシトールリン脂質プローブを発現したヒト肝癌細胞 Huh-7 に対して HCV JFH-1 株を感染させ、イノシトールリン脂質動態を解析した。なお感染性 HCV は、Huh-7.5.1 細胞に JFH-1 ゲノム RNA を導入し培養上清を回収することによって調製した。本解析では、HCV 感染後 2 時間まで各イノシトールリン脂質プローブの動態を経時的に観察したが、現在のところ有意な変化を見いだすことはできていない。このことは、HCV 感染の初期応答においてはイノシトールリン脂質群の大きな変化は起きていないことを示唆している。しかしながら、本解析では比較的力価が低い HCV 標品を用いており、今後より高力価の HCV を用いた解析を行うこと、またより長時間の経時変化を解析することが必要であると考えられる。
［前濱朝彦、深澤征義、花田賢太郎］

(３) HCV 感染によって変化する細胞内情報伝達システムの解析
前項と同様に Huh-7 細胞に対して HCV 感染を行い、その時の細胞内情報伝達システムの変化を、様々な細胞内シグナル分子群の活性や発現量を指標に解析した。なお、本解析ではウイルス複製に深く関与することが予想されるタンパク質合成シグナルを中心に解析を行った。その結果、タンパク質合成の主要制御因子であるタンパク質キナーゼ mTOR の下流に位置する S6 キナーゼ（S6K）の活性が HCV 感染後一過的に減少し、約 2 時間後には元の活性レベルに戻るのが観察された。この時 mTOR 上流に位置するタンパク質キナーゼ B（PKB）の活性には変化が見られないことから、HCV 感染が感染初期過程において mTOR 制御系の近傍に作用し S6K の活性化を引き起こしていると考えられた。この S6K の一過的な不活性化の生理的意義およびそのメカニズムの解析は HCV 感染メカニズムの理解に大きく寄与すると考えられる。
［前濱朝彦、花田賢太郎］

Ⅳ．細胞外環境変化を感知し応答する細胞内情報伝達システムの研究

(1) 哺乳動物細胞におけるタンパク質合成制御システムの解析
哺乳動物細胞におけるタンパク質合成は、細胞外環境（栄養素、ホルモン）の変化に応じてその活性が大きく変化することが知られているが、現在のところこの制御に関わる細胞内情報伝達系はほとんど明らかにされていない。今回我々は遺伝子発現阻害法によってタンパク質合成系の制御因子群を包括的に探索し、いくつかの候補分子を単離することに成功した。このなかには mTOR を直接制御する低分子量 GTP 結合タンパク質 Rheb の活性化因子と推測される分子やイノシトールリン脂質代謝に関与する分子群が含まれていることから、今まで全く知られていなかった分子群の関与が示唆されており興味深い。今後はこれら単離した分子群の連関性を明らかにすることによりタンパク質合成制御系のさらなる解明を試みるとともに、ウイルスが自己タンパク質の複製を目的として宿主細胞のタンパク質合成系をどのように利用しているかを検討する。
［前濱朝彦、花田賢太郎］

(2) ストレス応答性の新規癌抑制遺伝子産物 PICT-1 の細胞内動態解析
我々は以前の研究においてヒト神経芽腫の発症に関与する新規癌抑制遺伝子として PICT-1 を単離・同定した。本年度の研究において我々は、発現抑制による PICT-1 の不活性化がもう一つの重要な癌抑制遺伝子産物 PTEN の不活性化を引き起こし、PI 3-キナーゼ（PI3K）、PKB、S6K の恒常的活性化を惹起すること、さらにその結果として細胞増殖の亢進および細胞の不死化を誘導することを明らかにした。さらに、多様なキナーゼ阻害剤や RNA 合成阻害剤、酸化ストレス、細胞傷害性サイトカインなどのアポトーシス誘導性ストレスが PICT-1 タンパク質の分解を誘導することを見いだし、この分解がプロテアソーム依存性であることを明らかにした。この現象からは、PICT-1 の分解が PI3K 依存性の生存シグナルを活性化して、外界のストレスによるアポトーシス誘導に対抗する機構の存在が示唆され、新たな細胞死制御系の一つとしてそのさらなる解明が期待される。
［岡原史明、前濱朝彦］

(3) PTEN 阻害剤の探索とその生理作用の解析
癌抑制遺伝子産物 PTEN が制御する PI3K シグナル経路は、細胞増殖やアポトーシス、あるいは細胞膜輸送に関与することが明らかにされている。本研究では、抗炎症作用と創傷治癒作用のほか、殺菌作用、抗潰瘍作用が報告されている *Lithospermum erythrorhizon* の色素シコニンが PTEN の阻害剤として作用することを明らかにした。

シコニンはタンパク質チロシンホスファターゼにも作用するが、PTEN にはより低い濃度で有効に作用すること、またシコニン処理を行った細胞では PTEN の阻害による PI3K シグナル経路の活性化が惹起されることを見いだした。さらにシコニンに類似した構造を有する他のナフトキノン類にも PTEN 阻害作用があることを見いだしており、今後これらの化合物による阻害機構の解析から、より選択的な PTEN 阻害剤の開発が期待される。

［前濱朝彦、櫨木修（広島大学院）］

Ⅴ．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． 病原体等の侵入とスフィンゴ脂質に関する研究

(1) 志賀毒素に耐性を示す動物細胞変異株のスクリーニング

志賀毒素はスフィンゴ糖脂質 Gb3 を受容体として細胞内に侵入し、小胞体よりサイトゾルへと透過する。我々はこの志賀毒素の細胞内輸送機構、あるいは受容体である Gb3 の代謝機構解明を目的として、CHO 細胞を用いた志賀毒素耐性株単離のスクリーニング系を構築した。CHO 細胞は Gb3 を発現していないため、Gb3 合成酵素を安定発現させることで Gb3 陽性 CHO 細胞株を得た。これらの株に志賀毒素を添加したところ予想通り濃度依存的に細胞死を引き起こした。今後、この株を用いて志賀毒素耐性株単離のスクリーニングを行う予定である。

[山地俊之、花田賢太郎、西川喜代孝（同志社大学院生命医科学）]

(2) 糖脂質 GM1 の代謝・輸送変異株のスクリーニング

ガングリオシド GM1 はコレラ毒素や SV40 等の受容体であり、また脂質ラフトのマーカーとしても用いられている。我々はガングリオシドの代謝輸送に関与する因子を探索するため、GM1 代謝輸送異常変異株単離のためのスクリーニング系構築に着手した。CHO 細胞は GM1 の発現が見られないが、GM2 合成酵素を安定発現させることで GM1 陽性 CHO 細胞株を得た。これらの細胞株はコレラ毒素 B サブユニットによる細胞染色で強陽性を示したことにより、セルソーターによる GM1 発現変異株単離の親株として今後使用する予定である。

[山地俊之、花田賢太郎]

(3) リシンのエンドソームからゴルジ体への輸送に対するスフィンゴ脂質の役割

ヒマ豆由来の猛毒リシンは、エンドソームからゴルジ体、小胞体を経た後に細胞質に移動して細胞毒性を発揮すると考えられている。細胞のスフィンゴ脂質含有量を低下させると、リシンのエンドソームからゴルジ体への移行が早くなり、細胞のリシン感受性も増加した。これらの結果から、エンドソームからゴルジ体へのリシン輸送は、スフィンゴ脂質によって制御されていることを示唆した。

[花田賢太郎、Stine Grimmer, Bjorn Spilsberg, Kirsten Sandvig (オスロ大学)]

2． 細胞内セラミド選別輸送に関する研究

(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 のリン酸化の役割

CERT の N 末端領域には PI4P を認識してゴルジ体にターゲットする PH ドメインが存在し、C 末端領域にはセラミドの膜間転移活性を持つ START ドメインが存在する。両ドメインの間の領域(MR)には小胞体と相互作用するペプチドモチーフ(FFAT motif)がある。本年度は、MR に存在するセリン繰り返しモチーフ(serine repeat motif: SRM)が多重リン酸化を受けていることを明らかにし、さらにこのリン酸化によって、CERT の小胞体-ゴルジ体間セラミド輸送活性が抑制されることを見出した。

[熊谷圭悟、大内史子、花田賢太郎]

(2) リン酸化による CERT 機能抑制メカニズム

CERT の SRM が多重リン酸化されると、PH ドメインの PI4P 結合活性が抑制され、同時に START ドメインのセラミド転移活性も抑制された。興味深いことに、START ドメインを除くと PI4P 結合活性が回復し、一方、PH ドメインを除くとセラミド転移活性が回復した。これらの結果は、SRM がリン酸化されると PH ドメインと START ドメインがお互いをマスクして両ドメインの活性を抑制制御することを示唆している。

[熊谷圭悟、河野美幸、花田賢太郎]

(3) 過剰生産すると SM 生産を阻害するキナーゼ

昨年度までに、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キナーゼとして Casein kinase Iγ2(CKIγ2)を見出した。CKIγ2 を CHO 細胞に安定導入して解析したところ、SM 合成酵素や分解酵素の活性には影響がなく、小胞体-ゴルジ体間セラミド輸送が抑制されていた。CERT の状態を調べると CKIγ2 の導入によって、SRM の多重リン酸化が起こっていた。SRM は CKI の認識コンセンサス配列に相当するモチーフである。よって、CKIγ2 は SRM の多重リン酸化に関与し、CERT の活性を制御すると示唆された。

[富重斉生、花田賢太郎、楠田潤（基盤研）]

(4) 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 ドメインとセラミドとの共結晶の X 線構造解析によって、START ドメインのどのアミノ酸がセラミド分子と水素結合や疎水的相互作用をしているかが明らかとなった。また、CERT がセラミドを特異的に認識する原子レベルでのメカニズムが提唱できた。

[花田賢太郎、熊谷圭悟、工藤紀雄・加藤龍一・若槻壮市（高エネ研）]

Ⅵ. 抗感染症薬を指向した代謝阻害剤の研究

(1) HCV 産生のフラーレン化合物による阻害

HCV 感染に対する治療薬はインターフェロン（インターフェロン＋リバビリン）のみが現在用いられ、効果・副作用の観点から新たな治療薬の開発が求められている。試験管内酵素アッセイにおいて HCV RNA ポリメラーゼ(NS5B)阻害活性を示したある種のフラーレン化合物を用い、細胞レベルでウイルス RNA 複製能・HCV 産生能を検討した。その結果、細胞レベルでもウイルス RNA 複製および HCV 産生が阻害され、ある種のフラーレン化合物が抗 HCV 薬の候補となりうることが示唆された。

［深澤征義、笠原優子、花田賢太郎、西島正弘、鈴木哲朗・村上恭子・脇田隆字（ウイルス第二部）、宮村達男(所長)、中村成夫・下遠野久美子・増野匡彦(共立薬科大学)］

(2) 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。IPCS 活性の半自動化検出系を構築の上、合成化学物質ライブラリーを中心に約２万化合物、さらに放線菌培養ブロスに対する IPCS 阻害剤のスクリーニングを行った。その結果、ヒット化合物が複数得られた。

[富重斉生、花田賢太郎、田端祐二・鈴木重輝・大山真・星子繁（明治製菓）]

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：18 年 4 月 1 日～平成 19 年 3 月 31 日

検体数：7 件（うち 1 件陽性）

Ⅷ. 機器管理運営委員会機器の管理と運用

戸山庁舎の MALDI-飛行時間型質量分析機（Voyager-DE STR、AXIMA-QIT、各 1 台）の保守、運用を行った。機器の主たる利用者は、プロテオーム研究に携わる感染研（戸山庁舎・村山庁舎）の研究者であり、利用者に対しては試料の前処理法を含めた機器の操作法の説明・助言を行った。また、機器本体の消耗品の交換、トラブルへの迅速な対処とともに、プロテオーム研究に必須なデータベース検索ソフト・ハードウエアを整備・管理し、利用者にはソフトウエアの操作法について説明を講じた。なお、機器の使用時間（データベース検索のための使用時間を除く）は、約 150 時間（Voyager-DE STR）および約 200 時間（AXIMA-QIT）であった。［大内史子、佐藤慈子、山河芳夫、萩原健一、花田賢太郎］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Yanagisawa, Y., Sato, Y., Asahi-Ozaki, Y., Ito, E., Honma, R., Imai, J., Kanno, T., Kano, M., Akiyama, H., Sata, T., Shinkai-Ouchi, F., Yamakawa, Y., Watanabe, S., and Katano, H.: Effusion and solid lymphomas have distinctive gene and protein expression profiles in an animal model of primary effusion lymphoma. J. Pathol., 209, 464-73, 2006

2) Furuoka, H., Yabuzoe, A., Horiuchi, M., Tagawa, Y., Yokoyama, T., Yamakawa, Y., Shinagawa, M., and Sata, T.: Species-specificity of a panel of prion protein antibodies for the immunohistochemical study of animal and human prion diseases. J. Comp. Path., 136, 9-17, 2007

3) Hagiwara, K., Nakamura, Y., Nishijima, M., and Yamakawa, Y.: Prevention of prion propagation by dehydrocholesterol reductase inhibitors in cultured cells and a therapeutic trial in mice. Biol. Pharm. Bull., in press.

4) Tanida, I., Wakabayashi, M., Kanematsu, T., Minematsu-Ikeguchi, N., Sou, Y.S., Hirata, M., Ueno, T., Kominami, E.: Lysosomal turnover of GABARAP-phospholipid conjugate is activated during differentiation of C2C12 cells to myotubes without inactivation of the mTor kinase-signaling pathway. Autophagy. 2, 264-271, 2006

5) Demarchi, F., Bertoli, C., Copetti, T., Tanida, I., Brancolini, C., Eskelinen, E.L., Schneider, C.: Calpain is required for macroautophagy in mammalian cells. J Cell Biol.

175,595-605, 2006

6) Mizokami, A., Kanematsu, T., Ishibashi, H., Yamaguchi, T., Tanida, I., Takenaka, K., Nakayama, K.I., Fukami, K., Takenawa, T., Kominami, E., Moss, S.J., Yamamoto, T., Nabekura, J., Hirata, M.: Phospholipase C-related inactive protein is involved in trafficking of gamma2 subunit-containing $GABA_A$ receptors to the cell surface. J Neurosci. 27,1692-1701, 2007.

7) Kouroku, Y., Fujita, E., Tanida, I., Ueno, T., Isoai, A., Kumagai, H., Ogawa, S., Kaufman, R.J., Kominami, E., Momoi, T.: ER stress (PERK/eIF2alpha phosphorylation) mediates the polyglutamine-induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation. Cell Death Differ. 14,230-239, 2007.

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

9) Fukasawa, M., Tanaka, Y., Sato, S., Ono, Y., Nitahara-Kasahara, Y., Suzuki, T., Miyamura, T., Hanada, K., and Nishijima, M.: Enhancement of *de novo* fatty acid biosynthesis in hepatic cell line Huh7 expressing hepatitis C virus core protein. Biol. Pharm. Bull. 29, 1958-1961, 2006

10) Shirakura, M., Murakami, K., Ichimura, T., Suzuki, R., Shimoji, T., Fukuda, K., Abe, K., Sato, S., Fukasawa, M., Yamakawa, Y., Nishijima, M., Moriishi, K., Matsuura, Y., Wakita, T., Suzuki, T., Howley, P.M., Miyamura, T., and Shoji, I.: The E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein. J. Virol. 81, 1174-1185, 2007

11) Saito, K., Nishijima, M., and Kuge, O: Phosphatidylserine is involved in gene expression from Sindbis virus subgenomic promoter. Biochem. Biophys. Res. Commun. 345, 878-885, 2006

12) Suzuki, T., Kanai, Y., Hara,T., Sasaki, J.,. Sasaki, T., Kohara, M., Maehama, T., Taya, C., Shitara, H., Yonekawa, H., Frohman, M. A., Yokozeki, T., and Kanaho, Y.: Crucial role of the small GTPase ARF6 in hepatic cord formation during liver development. Mol. Cell. Biol., 26, 6149–6156, 2006

13) Nigorikawa, K., Yoshikawa, K., Sasaki, T., Iida, E., Tsukamoto, M., Murakami, M., Maehama, T., Hazeki, K., and Hazeki, O.: A naphthoquinone derivative, Shikonin, has insulin-like actions by inhibiting both phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 and tyrosine phosphatases. Mol. Pharmacol., 70, 1143–1149, 2006

14) Okahara, F., Itoh, K., Nakagawara, A., Murakami, M., Kanaho, Y., and Maehama, T.: Critical role of PICT-1, a tumor suppressor candidate, in phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate signals and tumorigenic transformation. Mol. Biol. Cell, 70, 1143–1149, 2006

15) Naito, Y., Takematsu, H., Koyama, S., Miyake, S., Yamamoto, H., Fujinawa, R., Sugai, M., Okuno, Y., Tsujimoto, G., Yamaji, T., Hashimoto, Y., Itohara, S., Kawasaki, T., Suzuki, A., and Kozutsumi, Y.: Germinal center marker GL7 probes activation-dependent repression of N-glycolylneuraminic acid, a sialic acid species involved in the negative modulation of B-cell activation. Mol. Cell. Biol., in press.

16) Hanada, K.: Discovery of the molecular machinery CERT for endoplasmic reticulum-to-Golgi trafficking of ceramide. Mol. Cell. Biochem. 286, 23-31, 2006

17) Wang, S., Maitah, M. Y. A., Hanada, K., Kessel, D., and Duska Separovic, D.: Ceramide response post-photodamage is absent after treatment with HA14-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 345, 803-808, 2006

18) Grimmer, S., Spilsberg, B., Hanada, K., and Sandvig, K.: Depletion of sphingolipids facilitates endosome to Golgi transport of ricin. Traffic 7, 1243-1253, 2006

19) Cheng, Z.-J., Singh, R. D., Sharma, D. K., Holicky, E. L., Hanada, K., L. Marks, D., and Pagano, R. E.: Distinct mechanisms of clathrin-independent endocytosis have unique sphingolipid requirements. Mol. Biol. Cell. 17, 3197-3210, 2006

20) Kawano, M., Kumagai, K., Nishijima, M., and Hanada, K.: Efficient trafficking of ceramide from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus requires a VAMP-associated protein-interacting FFAT motif of CERT. J. Biol. Chem. 281, 30279-30288, 2006

21) Hanada, K., Kumagai, K., and Tomishige, N., Kawano, M.: CERT and intracellular trafficking of ceramide. Biochim. Biopys. Acta, in press, 2007

Ⅱ. 学 会 発 表

１．国際学会

1) Hagiwara, K., Nakamura, Y., Yamakawa, Y., Sato, Y., Tobiume, M., Sata, T., and the Expert Committee for BSE diagnosis: Studies on the second atypical BSE case in a Japanese black cow, NeuroPrion 2006, October 4-6, 2006, Torino, Italy

2) Sasaki, Y., Kawakami, T., Shinkai-Ouchi, F., Yamakawa, Y., Arakawa, Y., and Sasaki, T.: Proteomics of *Mycoplasma penetrans* by two-dimentional liquid chromatography/tandem mass spectrometry, IOM2006, July 9-15, 2006, Cambridge, UK

3) Fukasawa, M., and Nishijima, M.: Isolation of a mammalian cell mutant defective in lipid droplet biogenesis, The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology/11th FAOBMB Congress, June 23, 2006, Kyoto, Japan

4) Fukasawa, M., Tanaka, Y., Ono, Y., Sato, S., Suzuki, T., Miyamura, T., Hanada, K., and Nishijima, M.: Enhancement of de novo fatty acid biosynthesis in hepatic cell line Huh7 expressing hepatitis C virus core protein, The 13th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, August 28, 2006, Cairns, Australia

5) Saito, K., Nishijima, M., and Kuge, O: Phosphatidylserine deficiency impairs Sindbis virus subgenomic promoter-driven gene expression. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18-23, 2006, Kyoto, Japan

6) Maehama, T.: PICT-1: a PTEN regulator involved in tumorigenesis. 2nd International Symposium of the 21st Century COE Program, 2006.6.23–25, Akita, Japan

7) Mitsutake, S., Hanada, K., Igarashi, Y.: An intracellular generation site of Ceramide 1-phosphate, 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 19, 2006, Kyoto, Japan

8) Kumagai, K., Kawano, M., Ohuchi, M., Nishijima, M., Hanada, K.: Regulation of ER-to-Golgi trafficking of ceramide by phosphorylation of CERT and its molecular mechanism, 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 20, 2006, Kyoto, Japan

9) Kawano, M., Kumagai, K., Nishijima, M., and Hanada, K.: Interaction between CERT and VAP at the ER is required for efficient trafficking of ceramide from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus, 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 20, 2006, Kyoto, Japan

10) Tomishige, N., Kumagai, K., Kusuda, J., Nishijima, M., Hanada, K.: A Ser/Thr kinase capable of down-regulating the synthesis of sphingomyelin by phosphorylation of the ceramide transfer protein CERT, 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 20, 2006, Kyoto, Japan

11) Kudo, N., Kumagai, K., Wakatsuki, S., Nishijima, M., Hanada, K., Kato, R.: Crystal structures of the ceramide transfer START domain of CERT in complex with lipid substrates and a specific inhibitor, 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 20, 2006, Kyoto, Japan

12) Hanada, K.: Regulation of CERT-mediated trafficking of ceramide, 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 22, 2006, Kyoto, Japan

13) K. Hanada: Regulation of intracellular trafficking of ceramide, FEBS special meeting, New concepts in lipidology: from lipidomics to disease, October 22-25, 2006, Noordwijkerhout, The Netherlands

２．国内学会

1) 萩原健一、佐藤由子、中村優子、飛梅実、山河芳夫、佐多徹太郎：非定型的 BSE プリオン（佐世保例）の生体内分布、２００６年プリオン研究会（文部科学省「人獣共通感染症研究クラスター」支援事業） 2006.9.2-3、安比高原、岩手

2) 大内史子、萩原健一、中村優子、西島正弘、山河芳夫：プリオン病のプロテオーム解析～発症に伴う CRMP-2 の量的・質的変化の解析、２００６年プリオン研究会（文部科学省「人獣共通感染症研究クラスター」支援事業）2006.9.2-3、安比高原、岩手

3) 萩原健一、中村優子、山河芳夫：プリオン病とたんぱく質・脂質・糖質生化学の接点、第１９回バイオメディカル分析科学シンポジウム（日本薬学会・物理系薬学部会主催）2006.8.1-3、福岡

4) 笠原（仁田原）優子、大内史子、深澤征義、花田賢太郎、鈴木哲朗、宮村達男、西島正弘：C型肝炎ウイルス(HCV)コア発現細胞におけるvimentinの減少、第５４回日本ウイルス学会学術集会、2006.11.21、名古屋

5) 深澤征義、田中康仁、佐藤慈子、笠原（仁田原）優子、鈴木哲朗、宮村達男、花田賢太郎、西島正弘： C型肝炎ウイルスコア蛋白質発現培養肝細胞における脂肪酸生合成の上昇、日本薬学会第１２７年会、2007.3.28、富山

6) 笠原（仁田原）優子、深澤征義、中村成夫、下遠野久美子、村上恭子、鈴木哲朗、宮村 達男、花田賢太郎、西島正弘、増野匡彦：フラーレン誘導体による C 型肝炎ウイルス(HCV)産生の阻害、日本薬学会第１２７年会、2007.3.28、富山

7) 前濱朝彦:PTEN 制御因子 PICT-1 による発がん制御,

群馬大学 21 世紀 COE 若手研究者シンポジウム、2006.10.4–5、前橋

8) 前濱朝彦、花田賢太郎:mTOR 活性化シグナルにおけるイノシトールリン脂質群の関与、日本プロテインホスファターゼ研究会　第３回国内集会、2007.3.30–31、津

9) 花田賢太郎： セラミド輸送タンパク質 CERT の基質認識メカニズム、第 1 回スフィンゴ・テラピー研究会、2006.5.27、鳥取

10) 光武進、花田賢太郎、五十嵐靖之：セラミド 1-リン酸産生経路の解明、第 48 回日本脂質生化学会、2006.6.29、東京

11) 杉木俊彦、寺沢宏明、熊谷圭悟、花田賢太郎、西島正弘、嶋田一夫：細胞内セラミド輸送分子 CERT の機能メカニズムの構造生物学的解析、第 48 回日本脂質生化学会、2006.6.29、東京

12) 花田賢太郎：細胞内脂質輸送を担うナノマシーン、シンポジューム：膜輸送ナノマシーンの構造・機能とその制御、2006.8.7、大阪

13) 花田賢太郎：脂質セラミドの細胞内選別輸送とその制御、京都大学大学院医学研究科セミナー、2006.9.8、京都

１１．昆虫医科学部

部　長　小 林 睦 生

概　要

当部の研究は、定員 8 名（部長を含む）以外に、客員研究員 8 名、協力研究員 5 名、流動研究員 2 名、研究生 3 名、実習生 2 名、臨時職員 3 名の協力で推進された。

研究内容としては、まず、衛生昆虫の媒介生態および分類に関しての研究が第 1 室および第 2 室を中心に行われた。テーマとしては、東京都およびその近隣都市におけるコガタアカイエカの発生状況調査、冬鳥および夏鳥の飛来が認められる東京港野鳥公園、北海道サロベツ原野、鹿児島県出水平野における疾病媒介蚊の調査、都市部に発生し、ウエストナイル熱の重要な媒介蚊として知られているアカイエカとチカイエカの生理学的差異、高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)が検出されたオオクロバエに関して、採集されたクロバエをマーク後再放逐し、周辺で再捕獲する仕事、石垣島におけるマラリア媒介蚊として有名であるコガタハマダラカの調査、無弁翅ハエ類の分類・生態学的研究、ニクバエ類の低温処理による休眠覚醒に関する地理的違い、また、日長の休眠誘導に与える影響、東北地方におけるヒトスジシマカ分布の北上とその要因に関して、気候変動に関する政府間パネル(IPCC)の温暖化リスク評価における我が国の感染症発生リスクの推定、セアカゴケグモの分布域拡大および生息密度と咬症発生との関係および現在の分布状況、衛生画像判読による動物媒介性感染症の監視体制整備に関する研究、都市地理情報を用いた首都圏のネズミ生息状況の予測、兵庫県西宮市における大規模な蚊の発生状況調査および雨水マスにおける蚊幼虫防除に関する GIS によるモデル研究、富山県におけるコガタアカイエカの生息密度の地域差に及ぼす影響についてなど、多方面からの研究テーマを客員、協力、流動研究員等の協力のもと行った。これらの研究の中で、大都市でコガタアカイエカがトラップで捕集されること、イナトミシオカが東日本で初めて確認されたこと、冬期に活動するオオクロバエの飛翔距離が 1 日当たり 700～1,100m に達し、広範囲に移動が可能であること、東北地方のヒトスジシマカの分布は温暖化と物流の関係で、秋田県、岩手県に分布が広がり、着実に生息限界が北上していること、近畿地方におけるセアカゴケグモの分布密度と咬症発生との関係を GIS の手法で明らかにしたこと、西宮市を 10 地区に分け、蚊幼虫の発生状況を雨水マスを中心に調べ、全体の約 16%の雨水マスに水が溜まっており、その約 25%に幼虫の発生が認められた。

衛生昆虫類の生理･生化学･遺伝学的研究に関しては、本邦に生息するヤブカおよびイエカ属の各３種類から昆虫フラビウイルスの検出、国内捕集蚊からの日本脳炎ウイルスの検出および系統解析、渡り鳥飛来地周辺で捕集した蚊類からのウエストナイルウイルスの検出、西日本で捕集されたオオクロバエからのインフルエンザウイルス遺伝子の検出、塹壕熱病原体遺伝子の検出方法および検出キットの開発、イエカ属およびヤブカ属蚊の吸血嗜好性、オオクロヤブカの鶏マラリアに対するメラニン化、ブラジルサシガメ唾液腺由来の血小板凝集阻害活性物質の同定および性状解析、冬期に活動するオオクロバエの脂質組成について、殺虫剤抵抗性系統で過剰発現するシトクロム P450 遺伝子の昆虫細胞への遺伝子導入、チャバネゴキブリの２つのアセチルコリンエステラーゼ遺伝子の組織特異的発現性、ピレスロイド抵抗性ネッタイイエカに過剰発現する P450 遺伝子の構造解析、アジアにおけるコガタアカイエカ集団の殺虫剤抵抗性アセチルコリンエステラーゼ遺伝子の分布、アタマジラミにおける駆除剤抵抗性の遺伝子判定法の確立、ネッタイイエカの 4 種のグルタチオンＳ-トランスフェラーゼ遺伝子の発現解析、Multiplex PCR 法によるアカイエカ種群（アカイエカ、チカイエカ、ネッタイイエカ）の分子同定法の確立などの研究を推進している。これらの中で、アカイエカで初めて検出され、その遺伝子構造解析を報告した昆虫フラビウイルスが、その他の種類のイエカ類やヤブカ類にも類似のフラビウイルスの存在が示唆された。長崎県、高知県で捕集されたコガタアカイエカから高率に日本脳炎ウイルス(JEV)が分離・検出され、特に豚舎周辺で捕集されたコガタアカイエカの JEV 保有率が高かった。また、分離株の遺伝子解析において、今回得られた分離株は全て 1 型に属し、近年東アジア地域で分離された株と極めて近縁であった。サロベツ原野周辺での砂丘林で捕集された蚊 10 種 1,959 個体、東京港野鳥公園で捕集された 6 種 1,640 個体、谷津干潟で捕集された 4

種 361 個体に関してウイルスの分離を試みたが、WNV は検出されなかった。2004 年に京都丹波町の高病原性鳥インフルエンザ流行鶏舎周辺で採集したオオクロバエから H5N1 のウイルスを検出したが、それらの調査と関連して 2006 年 11 月に佐賀県西有田町で捕集したオオクロバエ 620 個体(31 プール)の１プールからインフルエンザウイルスのM遺伝子を検出した。塹壕熱の病原体の遺伝子の検出を迅速に行う方法を確立し、大量のサンプルの処理に応用できる体制を構築した。アカイエカ種群の吸血嗜好性をサンプル数を増やして詳細に検討し、野鳥および人から吸血する傾向が高いことが明らかとなり、ヤブカ類の吸血嗜好性はほ乳動物がより顕著であった。しかし、ヒトスジシマカの吸血嗜好性は野鳥、人、その他の哺乳動物など日和見的に吸血する傾向が認められ、ＷＮＶの感受性を考えると興味深い。殺虫剤抵抗性のネッタイイエカにおいて、過剰発現しているシトクロム P450 遺伝子を昆虫細胞へ遺伝子導入する方法を確立した。また、この系統の P450 遺伝子の構造解析を行い、感受性系統の 6 倍量の遺伝子が、終齢幼虫期には 300 倍の mRNA レベルを示し、DNA 増幅単位は、殺虫剤感受性蚊のゲノム内で別の分子種の P450 の配列を含み、少なくとも 13kb のサイズに及ぶことが推定された。コガタアカイエカのアセチルコリンエステラーゼの有機リン剤抵抗性に係わるアミノ酸置換の出現頻度を日本産の数種系統およびベトナム、スリランカ、ジャワ島の系統を用いて解析を行ったところ、ジャワ島を除き本州、九州で同定されている Toyama 型のハプロタイプと同一であった。アタマジラミの発生件数が過去 10 年ほど増加傾向にあり、殺虫剤抵抗性との関連を調査することが重要である。その観点から、スミスリンの作用点であるナトリウムチャンネルの遺伝子上に見いだされた 4 つの塩基多型を指標として、SNaPshot 法による遺伝子診断の確立を試み、抵抗性の迅速かつ正確な判定法を確立した。また、アカイエカ種群の蚊は WNV の重要な媒介蚊であるが、形態的に分類が困難で、詳細な疫学的解析が困難であった。そこで、種の同定を目的として 22 種類のプライマーを検討した結果、Multiplex PCR 法に最適な 4 種類の組み合わせを見つけ出すことが出来、1 回の PCR 法で 3 亜種を分子同定する方法を確立した。これは、吸血嗜好性の解析、正確な媒介蚊の同定等に貢献し、その結果、防除対策立案にも重要な情報を提供可能である。

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) 東京都および近隣都市域におけるコガタアカイエカの発生状況調査

東京都とその近隣都市域で周囲に典型的な発生源が見つからない採集場所 5 ヶ所で、コガタアカイエカが捕獲された。大田区にある東京港野鳥公園では 6 月から 8 月にかけて一時的にできる泥炭湿地でコガタアカイエカ幼虫が発生していることが確認された。捕獲個体数の季節的変化や捕獲された成虫の雌雄の割合から考えて、都市域には小規模だがコガタアカイエカが繁殖に利用できる水域が一時的に存在していることが予想された。捕獲された成虫からは日本脳炎ウイルスは検出されなかった。

［津田良夫、星野啓太、伊澤晴彦、澤邉京子、小林睦生、秋場哲哉（東京都健康安全研究センター）］

(2) 東京港野鳥公園における疾病媒介蚊の発生消長

東京港野鳥公園を対象として疾病媒介蚊の発生状況の定期調査を実施した。ドライアイストラップによって、アカイエカ群、イナトミシオカ、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカ、カラツイエカの 5 種類 598 個体が捕獲された。イナトミシオカは東日本で初めて生息が確認された。安定的な発生源であるコンクリート製のマスを利用しているアカイエカ群は 8 月中旬を除いて常に高い密度であった。泥炭湿地を発生源とするイナトミシオカやコガタアカイエカは、発生のピークが異なっていた。

［津田良夫、伊澤晴彦、葛西真治、片野理恵（麻布大学）、金　京純、中口　梓、駒形　修、冨田隆史、小林睦生］

(3) 渡り鳥の飛来地における疾病媒介蚊調査

渡り鳥の飛来地として北海道サロベツ原野、鹿児島県出水平野、東京湾沿岸の干潟地域を選び、ドライアイストラップによって蚊の捕集を行った。サロベツ原野では 10 種類、1,959 個体、出水平野では 4 種類 15 個体、東京港野鳥公園では 6 種類 1,640 個体、谷津干潟では 4 種類 361 個体が捕獲された。東京湾沿岸の干潟地域で、これまで関西でしか採集されていなかったイナトミシオカの生息が大阪以東で初めて確認された。

［津田良夫、伊澤晴彦、中口　梓、葛西真治、片野理恵（麻布大学）、金京純、駒形　修、冨田隆史、小林睦生］

(4) 野外より採集されたアカイエカとチカイエカの寿命について

野外より採集されたアカイエカおよびチカイエカ成虫

を室温 27℃、相対湿度 55%の飼育室で砂糖水を与えて飼育し、飼育条件下での寿命を調べた。調査した 2005 年と 2006 年の結果はほぼ同様で、アカイエカの平均寿命（36～37 日）の方がチカイエカの平均寿命（17～22 日）よりも有意に長かった。生存曲線に基づいて期待寿命を求め比較考察を行った結果、アカイエカの媒介能力のほうがチカイエカよりも高いことが示唆された。

［津田良夫、金京純、比嘉由紀子（長崎大学）、片野理恵（麻布大学）、星野啓太、葛西真治、林　利彦、澤邉京子、小林睦生］

(5) 山口県阿武郡阿東町におけるオオクロバエの mark-release-recapture 実験

山口県阿武郡阿東町で半径 1,500m以内の地域を対象にオオクロバエの飛翔分散能力を調査する目的で標識再捕獲実験を行った。実験開始後 4 時間で放逐場所から 1,150m離れた採集地点で 1 個体が捕獲され、実験開始 1 日後に再捕獲された 9 個体は放逐地点から最大 2,000m、平均 1,111m 移動していた。実験期間中の移動距離は一日当たり平均 700m～1,100m に達し、オオクロバエが調査地内を広範囲に移動していたことがわかった。

［津田良夫、林　利彦、比嘉由紀子、星野啓太、葛西真治、冨田隆史、倉橋　弘、小林睦生］

(6) 石垣島におけるマラリア媒介蚊の発生状況

過去に熱帯熱マラリア患者が多発していた石垣島野底地域と、近年多くの観光客が訪れる石垣島西部（崎枝周辺）を選び、人囮採集による蚊成虫の採集とドライアイストラップを用いた広域の成虫密度調査を行った。好適な発生源から約 2 キロ以内に集落があればコガタハマダラカによって吸血される可能性があることが示唆された。トラップ調査の結果、コガタハマダラカの飛来密度が採集場所周辺の地形や植生構造に大きく影響されることが示唆された。

［津田良夫、飯塚信二（新潟検疫所）、長谷山路夫（仙台検疫所）、田島章太郎（成田空港検疫所）、新妻　淳（横浜検疫所）、山内健生（広島大学）］

(7) 無弁翅ハエ類の分類・生態学的研究

日本産フンコバエ科のカレクサフンコバエ属について調べた。従来 1 種が知られていたが 2 新種 2 新記録種を追加した。従来 1♀のみで記載され、現在正体不明とされていたパプアニューギニア産の *Leptocera discoidalis* を再発見し、検討を加えた結果、新属として扱うべきものであるという結論に達し、*Papualimosina* という新属を設立し再記載を行った。また、中国大陸産の *Poecilosomella* 属を調べ、2 新種を含む 6 種を記録し、検索表を作成した。

[林　利彦、Hui Dong、Ding Yang（中国農業大学）]

(8) 休眠覚醒に伴うナミニクバエとセンチニクバエの低温処理効果

休眠蛹のセンチニクバエ（Tokyo colony）を使用し覚醒に要する低温処理期間について以前検討した。その結果 Tokyo colony の休眠覚醒には、12 週の低温処理期間が最高の羽化率を示し、羽化までに要する日数が最短であった。一方ナミニクバエにおいては、Tokyo colony が得られなかったが、Sapporo colony を使用し羽化に最適な低温期間等を調べたところ 23 週前後であった。また低温処理後 27℃と 20℃に移したときセンチニクバエでは、27℃でよい結果を示したがナミニクバエでは、20℃が良かった。これらのことからナミニクバエは、比較的寒冷地に分布しているハエであるが低温期間が長いこと、また休眠覚醒時の温度は低温が良いことなどからも寒冷地に適していることを裏付けた。

[森林敦子、林　利彦、倉橋　弘、津田良夫]

(9) ナミニクバエの休眠誘導日長について

ナミニクバエの Nagasaki、Tokyo、Sapporo の 3 コロニーを使用し休眠誘導日長を調べた。最高休眠誘導日長は、Sapporo で 13h 11L、Tokyo で 11h 13L、Nagasaki で 10h 14L でまた 50%休眠誘導日長は、14h 30m、13h 30m、12h 30m でそれぞれ 1 時間の差を示した。センチニクバエでは、Sapporo は得られていないが、Tokyo、Nagasaki コロニーの 50%休眠誘導日長は、13h 50m、13h 30m で大きな差はなかった。このことは、ナミニクバエが採集された場所により光周反応に明らかな違いを示していることを意味している。地域による日長の違いを感知する機構を保持し、低温下での分布域を確保するための生理的特性を有するハエであることを示した。

[森林敦子、林　利彦、倉橋　弘、津田良夫]

(10) 東北地方におけるヒトスジシマカ分布北上とその要因に関する研究

デング熱・ウエストナイル熱・チクングニヤなど多種のウイルス性疾患を媒介するヒトスジシマカについて、生息地の寒冷地への拡大の要因を継続的に調査している。本年度は釜石市・大船渡市・気仙沼市・盛岡市・花巻市・北上市・八森町・鰺ヶ沢町・弘前市で幼虫調査を行った。その結果、本年度新しく、太平洋側では釜石市市街地の

一箇所、中央の盆地群では花巻市内の古タイヤから幼虫が確認された。また日本海側の秋田県八森町では前年に引き続き同一場所から発見され、ヒトスジシマカの定着が確認された。青森県では鰺ヶ沢漁港、弘前市及びその周辺での調査では発見されなかった。中央部盆地群では今回発見された花巻市の北に位置する盛岡市、南に位置する北上市では未だ発見されなかった。青森県では未だ発見されないが、生息限界が着実に北上していることが確認されている。

［小林睦生、二瓶直子、駒形　修、栗原　毅］

(11) IPCC に関わる全球的温暖化リスク評価作業における日本における感染症リスクの推定

気候変動に関する政府間パネル(IPCC)の報告書に関連して、温暖化によってヒトスジシマカの分布が拡大するリスクを評価するために、日本付近で信憑性がある全球的温暖化モデルである K1 モデルを利用して、2035 年、2100 年の東北地方から北海道における 1km メッシュの年平均気温分布予測図を作成した。媒介蚊の発育ゼロ点付近の 11℃を閾値とし、リスク地域拡大の変遷を面積的に検討した。年平均気温は気象情報の標準化と国際的なネットワークにより世界気象機関から入手しやすい指標で、この結果では、北海道にも分布することが予測された。気温以外の要因として自然・社会的要因を検討している。

[二瓶直子、駒形　修、小林睦生、倉根一郎・高崎智彦（ウイルス第一部）]

(12) セアカゴケグモ分布域の拡大および密度と咬症発生との関係

1995 年にオーストラリアから輸入されたセアカゴケグモは大阪湾の沿岸部から内陸部に急速に拡大し、大阪府のほぼ全市町村に拡大し咬症もすでに 10 例におよんでいる。セアカゴケグモの生息域は大阪府のみならず近畿地方の全府県に及んでいる。セアカゴケグモの大阪府や西宮市における生息状況を精査しながら、セアカゴケグモの密度分布と同咬症発生の関係を地理情報システムで解析し、生息数が 100 個体/地点（町丁目）以上の高密度地域で咬症が発生していることを明らかにし、今後の監視や警鐘基準を検討した。さらに積極的駆除活動が実施できない住宅地でも咬症が発生し、生息域が拡大していることは住民保護の立場から新たな行政基準の策定の必要性を示唆している。

[二瓶直子、駒形　修、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)、国田正忠(大阪府ペストコントロール協会)、金田弘幸(パスコ GIS 研究所)]

(13) セアカゴケグモ分布の現状

セアカゴケグモは 1995 年 11 月に大阪府高石市の埋め立て地で確認されて以来、分布域が年々拡大している。近畿圏では特に、2003 年以降に大阪府と隣接する兵庫県、奈良県、和歌山県での確認、2005 年以降では、滋賀県、京都府においても確認され、近畿圏全体に分布域が拡大している。また、愛知県でも複数の地点で確認されるに至った。詳細な分布状況について考察し、今後の動向について予測を試みた。

[吉田政弘（いきもの研究社)、二瓶直子、小林睦生]

(14) 衛星画像判読による動物媒介性疾患の監視体制整備のための基礎研究

2006 年秋に日本が打ち上げた陸域観測衛星（ALOS）の画像を宇宙開発機構と国立感染症研究所の共同研究の結果、利用可能となった。ALOS 画像は気象条件が悪く未だ利用してないが、共同研究により宇宙航空研究開発機構所有の衛星画像の供与を受け、日本へ侵入が予測される感染症の監視体制の構築に利用している。また前年度に続き、長江周辺の日本住血吸虫症浸淫地の Landsat 画像を用いることができた。この結果は中国安徽省や浙江省寄生虫研究所との GIS による新興再興感染症の迅速かつ広域で正確な環境解析の共同研究に利用できる。

[二瓶直子、駒形　修、小林睦生、島田（宇宙航空研究開発機構）]

(15) 都市地理情報を用いた首都圏のネズミの生息予測

東京都においては近年居住地域でネズミ生息数が増加し被害が出ていることから、その防除対策を構築するために、ネズミの生息状況を広範囲に精確に把握することが望まれる。そこで東京都において前年度から実施継続してきた地理情報システム GIS による都市域の感染症拡大予測の一環として、大田区における既往研究と GIS 情報を重ね合わせてネズミの生息状況を解析し、それらの結果が過去の調査結果と整合性があるか検討した。

[二瓶直子、駒形　修、小林睦生、春成常仁・谷川　力(イカリ消毒研究所)]

(16) 西宮市における蚊の発生状況調査

西宮市を 10 地区に分割し、各調査地区内の道路、公園、保育園、幼稚園、小学校、中学校等の施設の 10%を無作為に抽出選択し、施設内にある雨水マスを全数調査した。調査期間は平成 18 年 6～10 月にかけて行った。発生している幼虫はアカイエカ種群（アカイエカ、チカイエカ）とヒトスジシマカがほとんどで、一部コガタアカイエカが少数採集された。調査雨水マス総数は 10,077 個で、水が溜まっていたマス数は 1,655 個（16.4%）であった。全調査マス数の 4.6%に幼虫発生が認められた。採集幼虫は、

ヒトスジシマカが 56%とアカイエカ種群より多い傾向が認められた。また、調整池、汚水管等では幼虫は認められず、防除対象から除外できることが明らかとなった。今後、集合住宅（マンション、市営住宅)、戸建ての一般住宅の調査を継続して行い、中都市における幼虫発生源としての雨水マスの状況を詳細に調査する。
[吉田政弘（いきもの研究社)、水谷正時（西宮市環境衛生課)、二瓶直子、駒形　修、望月貫一郎（パスコ研究開発)、小林睦生]

(17) 西宮市道路雨水枡における蚊相推測と防除方法に関する GIS によるモデル研究

蚊媒介性感染症の対策として都市域の住宅地周辺の蚊相を把握するために、前年度は東京都地理情報システム GIS を用いて蚊成虫の調査結果から解析してきた。今年度は電子自治体として最も IT 化の進んだ兵庫県西宮市をモデルとして、山地・丘陵地からウォーターフロントまで生活環境や地形条件から変化に富む住宅地内の道路における雨水枡で、主として蚊幼虫の発生源調査を実施した。大量の調査結果を迅速に集積・解析し対策を立案するために､各種の紙地図やデジタルマップを入手して、雨水枡の位置を図化し、有水率およびその季節変化・蚊相の調査結果を表した。その結果蚊相等の地域別特徴が明らかとなり、また防除優先地域を明らかにすることができた。
[二瓶直子、駒形　修、小林睦生、吉田政弘（いきもの研究社)、水谷正時(西宮市環境衛生課)、望月貫一郎(パスコ環境情報部)]

(18) 富山県におけるコガタアカイエカの分布の地域差に及ぼす要因

日本脳炎のワクチン接種の積極的勧奨が中止されてから、日本脳炎患者数・同抗体価の上昇が各地で注目されている。日本国内において日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの動態については不明な点が多い。富山県においては日本脳炎流行予測調査として長期にわたり、蚊の定点調査を実施しており、その結果から県内でも生息数の地域差があることが明らかになっている。そこで地域差の要因を解明するため、過去の集積されたデータを精査し、定点の気象条件との関係を検討し、現地調査や空中写真による定点の環境解析を実施している。
[二瓶直子、小林睦生、米島万有子・中谷友樹(立命館大学)、渡辺　護(富山県衛生研究所)]

Ⅱ．衛生昆虫類の生理・生化学・遺伝学的研究

1.　節足動物からの病原体検出

(1) 本邦生息蚊における昆虫フラビウイルスの検出状況

昆虫フラビウイルスは、近年世界的に存在が明らかとなってきており、蚊類に特異的であり且つ起原的タイプのフラビウイルスとされている。今回、本邦生息蚊類から昆虫フラビウイルスの検出を試みた結果、イエカ属蚊類 3 種およびヤブカ属蚊類 3 種にその存在を認めた。さらに NS5 遺伝子領域の部分ヌクレオチド配列情報を用いた系統学的解析から、少なくとも 2 種類の昆虫フラビウイルスの存在が示唆された。
［星野啓太、伊澤晴彦、津田良夫、佐々木年則、高崎智彦（ウイルス第一部)、澤邉京子、小林睦生］

(2) 平成 18 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日本脳炎ウイルス（JEV）保有現況を把握する目的で、主要媒介蚊であるコガタアカイエカを国内各所（宮城県・長崎県・高知県・東京都）で捕集し、JEV の分離・検出を行った。その結果、ブタの JEV 抗体陽性率の高い地域において、高率に JEV が分離・検出され、特に豚舎周辺のコガタアカイエカの JEV 保有率はかなり高いことが明らかとなった。さらに得られたウイルス分離株の遺伝子解析を行い、それらの遺伝子型の同定を行うと共に、これまでに報告されている JEV 分離株との分子系統関係を解析した。その結果、今回得られた分離株は全て 1 型に属し、近年東アジア地域で分離された株と極めて近縁であることが判明した。
［伊澤晴彦、 中口 梓、 星野啓太、 佐々木年則、 津田良夫、金　京純、葛西真治、駒形　修、冨田隆史、倉橋弘、比嘉由紀子（長崎大学熱研)、小林睦生］

(3) 渡り鳥飛来地周辺部で捕集された蚊類からのウエストナイルウイルス検出

サロベツ原野で捕集された蚊は 10 種類 1,959 個体で、エゾヤブカ、アカンヤブカなど北方産の蚊が多く捕集された。血液を有している蚊の多くはエゾシカの血液で、野鳥の血液は検出されなかった。東京港野鳥公園では 6 種類 1,640 個体、谷津干潟では 4 種類 361 個体が捕集され、いずれの地においてもアカイエカ（チカイエカを含む)、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカが多かったが、関東地域で初めてイナトミシオカの分布が確認された。サロベツ捕集蚊 1,279 個体 (74 プール)、東京湾の干潟 2 地点で捕集された合計 1,806 個体(110 プール)からウエストナイルウイルス遺伝子の検出を試みたが全て陰性であった。
［中口 梓、伊澤晴彦、星野啓太、佐々木年則、津田良夫、金 京純、葛西真治、片野理恵（麻布大学)、澤邉京子、小林睦生］

(4) 2003～2006 年国内における蚊からのウエストナイルウイルス検出成績

わが国への WN ウイルス(WNV)の侵入の可能性が依然として危惧される中, 2003 年 3 月から継続して蚊からのウイルス分離および検出を行ってきた。これまでの 4 年間の調査で 11 属 50 種合計 24,407 個体を捕集し、1,431 プールを作成した。これらの蚊プールは各種細胞培養系に接種後 RT-PCR あるいは TaqMan RT-PCR でウイルスゲノムの存在を判定した。これまでに検査したすべての検体から WNV は検出されなかったことが確認され、WNV の国内への侵入は未だ見られないと結論した。

［伊澤晴彦、星野啓太、中口 梓、佐々木年則、津田良夫、比嘉由紀子（長崎大学熱研)、小滝 徹・高崎智彦（ウイルス第一部)、澤邉京子、小林睦生］

(5) 西日本で捕集されたオオクロバエからのインフルエンザウイルス遺伝子の検出

2004 年 10 月～2007 年 2 月に、西日本の 4 県（山口、福岡、佐賀、宮崎）で採集したオオクロバエ（合計 1,887 個体、96 プール）から RT-PCR によりインフルエンザウイルス M および HA 遺伝子の検出を試みた結果、2006 年 11 月に佐賀県西有田町で採集された集団（620 個体、31 プール供試）の 1 プールからM遺伝子の断片が検出された。nested PCR においても H5 遺伝子の増幅が認められなかったことから、本ウイルスは H5 亜型ではない A 型インフルエンザウイルスであることが判明した。

［澤邉京子、中口 梓、伊澤晴彦、星野啓太、佐々木年則、津田良夫、金 京純、葛西真治、駒形 修、冨田 隆史、倉橋 弘、比嘉由紀子（長崎大学熱研)、小林睦生］

(6)ヤマトヤブカから分離された未記載の*Ascogregarina* 原虫について

日本国内のヤマトヤブカ *Ochlerotatus japonicus japonicus* に寄生する *Ascogregarina* 原虫を見い出した。この原虫のオーシストの形態とリボゾーム DNA ITS1 および ITS2 領域の塩基配列を、ネッタイシマカ *Aedes aegypti* あるいはヒトスジシマカ *A. albopictus* に寄生する近縁種との間で、形態学的ならびに分子系統分類学的検討を行った結果、世界的にも未記載の Ascogregarina であることが確認された。また、これら原虫の宿主範囲についての国内調査結果を得た。

［Rhoychoudhury, S.、 伊澤晴彦、星野啓太、佐々木年則、澤邉京子、小林睦生］

(7) 塹壕熱病原体 *Bartonella quintana* 遺伝子の検出方法および検出キットの開発

日本における一部の路上生活者に感染していると考えられている塹壕熱の病原体 *Bartonella quintana* の遺伝子を TaqMan プローブ法によって検出する方法と検出キットを開発した。本検出系は高感度でハイスループットが可能である。

［佐々木年則、小林睦生］

2. 生理学的基礎的研究

(1) イエカ属およびヤブカ属蚊の吸血嗜好性から見た疾病媒介能

蚊の吸血嗜好性は蚊の疾病媒介能を評価する上で重要な特性となる。アカイエカ種群とヒトスジシマカを始め、主に日本国内の住宅地周辺で捕集されたイエカ属 6 種(外国産ネッタイイエカも含む)、およびヤブカ属 13 種の吸血蚊の吸血源動物種を PCR およびダイレクトシークエンス法により同定した。国内産アカイエカ種群の 3 種(アカイエカ、チカイエカ、ネッタイイエカ)はいずれも鳥も人も吸血していたが、鳥嗜好性の割合はこの順に低くなった。一方、コガタアカイエカとカラツイエカの哺乳類嗜好性が顕著であった。ヒトスジシマカは日和見的に種々の動物を吸血源とする傾向があったが人嗜好性が高く、キンイロヤブカなどその他多くのヤブカ属は哺乳類を好む傾向が見られた。

［澤邉京子、 伊澤晴彦、 比嘉由紀子（長崎大学熱研)、葛西真治、 中口 梓、星野啓太、 佐々木年則、 津田良夫、 小林睦生］

(2) オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* の鶏マラリア *Plasmodium gallinaceum* に対するメラニン化作用

Plasmodium gallinaceum のオーシストが *Armigeres subalbatus* の *in vivo* においてメラニン化されることを確認することができた。さらに *Anopheles stephensi* において *Plasmodium yoelli nigeriensis* のオーシストをメラニン化する個体を認めた。基底膜がメッシュ構造になっていることから、体液由来のシアル酸特異的レクチンがマラリア原虫に対してメラニン化に関与することが示唆された。

［佐々木年則、磯部 尚（動衛研)、斎藤典子（電子顕微鏡室)、星野啓太、伊澤晴彦、澤邉京子、小林睦生］

(3) ブラジルサシガメ唾液腺由来血小板凝集阻害活性物質の同定および性状解析

ブラジルサシガメ *Triatoma infestans* の唾液腺から、

血小板凝集を抑制する新規生理活性蛋白質を同定した。この蛋白質はADPやトロンボキサンによる凝集は抑制しなかったが、コラーゲンによる凝集を特異的に抑制することが判明した。さらに、この蛋白質はGPVIの特異的アゴニストであるcollagen-related peptideによる凝集を濃度依存的に抑制した。一方、フォンビルブランド因子・GPIb/IX/V を介するリストセチン凝集、および血小板のGPIa/IIa を介したコラーゲンへの接着を抑制しなかった。したがって、この蛋白質はGPVI特異的なアンタゴニストであると考えられた。

［伊澤晴彦、森田明広・織戸由貴・鎮西康雄・油田正夫（三重大学)、岩永史朗（神戸大学)］

(4) 冬季に活動期を迎えるオオクロバエの脂質－2

前年度に続き、野外捕集および飼育されたオオクロバエ個体の脂質含量ならびに脂肪酸組成について比較検討した。野外から採集された個体は、リン脂質含量は高いが中性脂質含量は低かった。一方、飼育された個体では、TGやFFAが多く中性脂質含量も高かった。また、シス型パルミトオレイン酸が50%近くを占めていたが、夏のセンチニクバエとMS-MSで得られた結果と比較すると、リン脂質中に2分子ともにシス型パルミトオレイン酸のPEは14倍、PCは3.8倍であり、3分子ともにシス型パルミトオレイン酸のTGが13.5倍であった。シス型パルミトオレイン酸のリン脂質含量に大きな違いがあったことは、低温下の冬季において細胞膜が機能できる状態を作り出していることを示唆している。

［森林敦子、澤邉京子、津田良夫、倉橋 弘、田中康仁（細胞化学部)、片桐千仭（北海道大学低温研)］

3． 殺虫剤の有効性と抵抗性機構に関する研究

(1) 殺虫剤抵抗性系統で過剰発現するシトクロムP450遺伝子の昆虫細胞への遺伝子導入

遺伝子発現解析によって、ネッタイイエカのピレスロイド剤抵抗性系統で過剰発現している分子種があることが示された。それらの分子種の殺虫剤代謝活性能を測定するために、昆虫細胞への遺伝子導入を行い形質転換体を作成した。完全長のネッタイイエカ P450 遺伝子を昆虫細胞用発現ベクターに挿入し、また代謝反応に必要なシトクロム b5 と安定株の作出のため薬剤耐性のベクターをそれぞれ構築した。これらのベクターで S2 細胞を共形質転換した後、薬剤選抜し安定株を得た。

［駒形　修、葛西真治、冨田隆史］

(2) チャバネゴキブリの２つのアセチルコリンエステラーゼ(AChE)遺伝子の組織特異的発現性

各組織における2つのAChE遺伝子（*p-Ace*と*o-Ace*）の転写物を定量した。2つのAChE遺伝子は神経索と頭部のそれぞれで同程度に発現していた。*p-Ace* の発現は主に神経索と頭部に集中し、*o-Ace* の発現は様々な組織でみられた。神経組織に乏しい脂肪体でも *o-Ace* の転写物と AChE 活性がみられた。体液中では AChE 活性は検出されなかった。神経組織で十分な転写レベルを示した *p-Ace* の発現物が殺虫剤の作用点となっている可能性が示唆された。

［水野　壮・呉承協（筑波大学)、駒形　修、葛西真治、冨田隆史］

(3) ピレスロイド抵抗性ネッタイイエカで過剰発現するP450遺伝子の構造解析

ネッタイイエカの殺虫剤抵抗性JPal-per系統では、感受性系統に比べて、6 倍の遺伝子量を示すシトクロムP450 *CYP9M10* 遺伝子が、終齢幼虫期に 300 倍の mRNA レベルを示す。この遺伝子に過剰発現をもたらす転写調節機構の変異を解明するために遺伝子構造解析を行った。*CYP9M10* 遺伝子の DNA 増幅単位は、殺虫剤感受性蚊のゲノム内で本来隣接する別分子種の P450 偽遺伝子の配列をも含み、少なくとも 13 kb のサイズに及ぶと推定した。

［岡村佳香、駒形　修、葛西真治、冨田隆史］

(4) アジアのコガタアカイエカ集団における殺虫剤抵抗性アセチルコリンエステラーゼ遺伝子(*p-Ace*)の分布

p-Ace 酵素の活性ゴルジに生じた F455W 変異は、フェニトロオクソンに対する感受性を 10^3 倍低下させ、有機リン剤抵抗性の主要因となっている。W455 遺伝子は、ジャワ島では見出せなかったが、大東島、沖縄本島、西表島、ベトナム、スリランカの蚊では高頻度であった。西表島を除き、これらの蚊に含まれるW455遺伝子は、すでに本州と九州で同定されていたToyama型と全て同一のハプロタイプ（F455座位の周辺約0.6 kb配列の塩基置換多型座位を対象とするもの）であった。

［冨田隆史、駒形　修、津田良夫、比嘉由紀子、Weerasinghe IS (Med Res Inst, Sri Lanka)、葛西真治］

(5) アタマジラミにおける駆除剤抵抗性の遺伝子判定法確立

ここ数年,アタマジラミの発生件数が増加傾向にある。我々は 2001 年に国内で駆除剤（スミスリン）抵抗性アタマジラミの存在を確認していることから、抵抗性個体

の出現とアタマジラミ再興との因果関係を調査する必要性が生じた。そこで、スミスリンの作用点であるナトリウムチャネルの遺伝子上に見いだされた4つの塩基多型を指標として、SNaPshot法による抵抗性の遺伝子診断法の確立を試みた。Multiplex PCR法による複数の遺伝子断片増幅の条件検討やSNaPshot反応に用いる4種プライマーを検討した結果、抵抗性の迅速かつ正確な判定法の確立に成功した。
[葛西真治、駒形　修、冨田隆史]

(6) 選択的スプライシングによって発現する4種グルタチオンS-トランスフェラーゼ（GST）の遺伝子発現解析

選択的スプライシングによって生じたネッタイイエカの4種GST(CqGST1-1，1-2，1-3，1-4)について、遺伝子発現解析を行った。その結果、CqGST1-1と1-4は幼虫期から成虫期まで全てのステージにわたって高レベルの発現が認められたのに対し、CqGST1-3は蛹期でのみ高い発現を示し、それ以外のステージでは発現が抑制されていた。同じゲノム由来の転写産物でありながらその発現は個々に制御されていることが明らかになり、機能も異なっていることが示唆された。
[葛西真治、駒形　修、岡村佳香、冨田隆史]

(7) Multiplex PCR法によるアカイエカ種群蚊の同定法確立

形態学的判別が難しいアカイエカ、チカイエカ、ネッタイイエカの分子判別法の改良を試みた。22種類のプライマーを用いて検討した結果、Multiplex PCR法に最適な4種類の組み合わせを見つけだすことができた。これにより、亜種特異的プライマーセットを用いて複数のPCR反応を行う必要があった従来の方法が改良され、1回のPCR反応で3亜種を判別することが可能になった。
[葛西真治、駒形　修、冨田隆史]

調査

１．倉橋　弘、佐々木均：台湾の法医昆虫ハエ類の調査．18年4月28日～5月8日，嘉義，新化，阿里山，花蓮，棲蘭山，福山（台湾）．

２．倉橋　弘：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）．18年8月26日～9月10日，Kuching.

３．林　利彦：アジア熱帯における生物の分断と分散－家畜牛糞にすむ動物群集の生物地理学的研究.（科学研究費補助金），18年8月21日～9月10日，インドネシア．

４．津田良夫：タイ国ペチブリ県における疾病媒介蚊の調査：19年1月4日～1月10日，Leam Phak Bia and Don Hoi Lot，Petchburi，Thailand．

５．澤邉京子：ベトナムにおけるフラビウイルスの蚊からの検出と分離に関する共同研究．18年7月26日～7月29日，19年3月19日～3月22日．

レファレンス業務

Ⅰ．衛生動物同定検査報告

平成18年4月から平成19年3月までの間、18件68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や食品への異物混入などであった。ヒトへの被害例では、シュルツェマダニによる咬着が１例、カバキコマチグモによる咬症が3例、ネコノミによる被害が１例あった。また、輸入ハエ症ではボリビアからのヒトヒフバエ症が１例、ナミビアからのヒトクイバエ症が１例あった。ヒトクイバエの症例は日本ではまだ数少ない症例である。
[林　利彦、津田良夫、倉橋　弘、栗原　毅]

研修業務

1）小林睦生：蚊とアルボウイルス．衛生微生物技術協議会第27回研究会，18年6月29日－30日，札幌市．

2）津田良夫：蚊の分類実習．日本環境衛生センター　平成18年度疾病媒介蚊防除対策実技講習会．18年8月3日，川崎市．

3）津田良夫：我が国における媒介蚊の現状ならびに蚊の同定法について．日本ペストコントロール協会主催感染症指導者講習会，18年9月28日，東京都．

4）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主催感染症指導者講習会，18年9月28日，東京都．

5）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主催感染症指導者講習会，18年10月12日，大阪市．

6）小林睦生：管理者のためのウエストナイル熱対策．新宿区特定建築管理者講習会，18年11月7日，新宿区．

7）小林睦生：セアカゴケグモの分布域拡大：侵入から10年の軌跡と今後の対策．大阪府ペストコントロール協会創立40周年記念講演会，18年11月15日，大阪市．

8）津田良夫：マラリアを媒介する蚊の生態．第15回ペンギン会議全国大会・第6回ペンギン飼育技術研究会，18年11月20日，江戸川区．

9）小林睦生：衛生動物に関わる最近の話題．第 42 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会, 18 年 11 月 28 日, 川崎市．
10）冨田隆史：殺虫剤概論．第 42 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，18 年 11 月 29 日，川崎市．
11）小林睦生：自治体における害虫・獣対策の現状．第 41 回ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会（第 41 回ペストコントロールフォーラム），19 年 2 月 23 日，鹿児島市．

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1）Tsuda Y, Suwonkerd W, Chawprom S, Prajakwong S, Takagi M. Different spatial distribution on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* along an urban-rural gradient and the relating environmental factors examined in three villages in northern Thailand. J. Am. Mosq. Control Assoc., 22: 222-228, 2006.

2）Hwang UW, Tang LH, Kobayashi M, Yong TS, Ree HI. Molecular evidence supports that *Anopheles anthropophagus* from China and *Anopheles lesteri* from Japan are the same species. J. Am. Mosq. Control Assoc., 22; 324-326, 2006.

3）Higa Y, Hoshino K, Tsuda Y, Kobayashi M.　Dry-ice trap and human bait collection of mosquitoes in the eastern part of Hokkaido, Japan. Med. Entomol. Zool., 57:93-98, 2006.

4）Higa Y, Toma T, Miyagi I. Type specimens of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of the Ryukyu Archipelago deposited in the National Science Museum and the Entomological Institute of Hokkaido University, Japan, in 2005. Med. Entomol. Zool., 57: 135-137, 2006.

5）Hayashi T. The genus *Pullimosina* Rohacek (Diptera, Sphaeroceridae) from Japan. Med. Entomol. Zool., 57: 265-272, 2006.

6）Hayashi T. Description of a new genus *Papualimosina* (Diptera, Sphaeroceridae) from the Australasian region. Jpn. J. System. Entomol., 12: 225-229, 2006.

7）Dong H, Yang D, Hayashi T. Review of the species of *Poecilosomella* Duda (Diptera: Sphaeroceridae) from continental China. Annales Zoologici, 56: 643-655. 2006.

8）Chigusa Y, Kawakami K, Shimada M, Kurahashi H, Matsuda H. Hospital-acquired oral myiasis due to *Boettcherisca septentrionalis* (Diptera: Sarcophagidae)in Shimane Prefecture, Japan. Med. Entomol. Zool., 57: 139-143, 2006.

9）Shinonaga S. Kurahashi H. Two Phaoniine species reared from pitchers of Nepenthes in Sumatra and Java, Indonesia (Diptera, Muscidae). Jpn. J. Syst. Entomol., 12: 11-15, 2006.

10）Kurahashi H, Kurk-Springgs AH. The Calliphoridae of Namibia (Diptera: Oestroidea). Zootaxa, 1322, 131 pp. Magnolia Press, Auckland, New Zealand.

11）Sukontason KL, Methanitikorn R, Boonstriwong W, Piangjai S, Kurahashi H, Vogtsberger RC, Sukontason K. Ultrastructure of spiracles of *Musca domestica* and *Hydrotaea chalcogaster* (Diptera: Musicidae). Parasitol. Res., 100: 19-23, 2006.

12）Sukontason K, Methanitikorn R, Chaiwong T, Kurahashi H, Vogtsberger RC, Sukontason KL. Sensilla of the antenna and palp of *Hydrotaea chalcogaster* (Diptera: Muscidae). Micron, 38: 218-223, 2007.

13）Morita A, Isawa H, Orito Y, Iwanaga S, Chinzei Y, Yuda M. Identification and characterization of a collagen-induced platelet aggregation inhibitor, triplatin, from salivary glands of the assassin bug, *Triatoma infestans*. FEBS J. 273: 2955-2962, 2006.

14）Hoshino K, Isawa H, Tsuda Y, Yano K, Sasaki T, Yuda M, Takasaki T, Kobayashi M, Sawabe K. Genetic characterization of a new insect flavivirus isolated from *Culex pipiens* mosquito in Japan.Virology, 359: 405-414, 2007.

15）Roychoudhury S, Isawa H, Hoshino K, Sasaki T, Saito N, Sawabe K., Kobayashi M. Comparison of the morphology of oocysts and the phylogenetic analysis of four *Ascogregarina* species (Eugregarinidae: Lecudinidae) as inferred from small subunit ribosomal DNA sequences. Parasitol. Int., 56: 113-118, 2007.

16）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. Am. J. Trop. Med. Hyg., 75: 327-332, 2006.

17）Hamano M, Lim CK, Takagi H, Sawabe K, Kuwayama M, Kishi N, Kurane I, Takasaki T. Detection of antibodies to Japanese encephalitis virus in the wild boars in Hiroshima prefecture, Japan. Epidemiol. Infect., 135: 974-977, 2007.

18）Lee SW, Kasai S, Komagata O, Kobayashi M, Agui N, Kono Y, Tomita T. Molecular characterization of two acetylcholinesterase cDNAs in *Pediculus* human lice. J. Med. Entomol., 44: 72-79, 2007

19）Lee S, Mihara M, Tomita T, Kasai S. Storage stability of nucleic acids in the body louse, *Pediculus humanus*. Med. Entomol. Zool., 57: 105-110, 2006.

20）Komagata O, Kasai S, Tsuda Y, Kobayashi M, Tomita T. Insecticide susceptibility of the blow fly, *Calliphora nigribarbis* Vollenhoven, collected in Yamaguchi Prefecture, Japan. Med. Entomol. Zool., 57: 205-209, 2006.

21）Mizuno H, Tomita T, Kasai S, Komagata O, Imanishi S, Kono Y. cDNA identification and gene expression of two types of acetylcholinesterases in a cultured cell line of *Aedes albopictus,* compared to mosquito whole body extracts. Appl. Entomol. Zool., 41: 445-453, 2006.

22）Kono Y, Tomita T. Amino acid substitutions conferring insecticide insensitivity in Ace-paralogous acetylcholinesterase. Pestic. Biochem. Physiol., 85: 123-132, 2006.

23）Sasaki-Fukatsu K, Koga R, Nikoh N, Yoshizawa K, Kasai S, Mihara M, Kobayashi M, Tomita T, Fukatsu T, Symbiotic bacteria associated with stomach discs of human lice, Appl. Environ. Microbiol. 72: 7349-7352, 2006.

2．和文発表

1）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－ドライアイストラップを用いた 2 年間の調査結果－．Med. Entomol. Zool.，57: 75-82，2006．

2）小林睦生：海外での有害昆虫への対策．特集：実地医家に必要な旅行医学．成人病と生活習慣病，36:877-880,2006．

3）小林睦生：媒介蚊から考察したウエストナイル熱の流行．バムサ会誌，18(1):11-13，2006．

4）小林睦生：地球温暖化とマラリア．生活と環境，51(8): 7，2006．

5）栗原　毅：日本の蚊学－1945～1960 年の足跡をたどる．有害生物，(3): 29-93，2006．

6）津田良夫，比嘉由紀子，葛西真治，伊澤晴彦，星野啓太，林　利彦，駒形　修，澤邉京子，佐々木年則，冨田隆史，二瓶直子，倉橋　弘，小林睦生：成田国際空港近接地と周辺地域の媒介蚊調査（2003，2004 年）．Med. Entomol. Zool.，57: 211-218，2006．

7）小林睦生，二瓶直子：ヒトスジシマカ．「特集　温暖化？ヒートアイランド？分布を拡大する昆虫たち」，生活と環境，51(10): 21-25，2006．

8）松本令以，植田美弥，佐藤雪太，比嘉由紀子，津田良夫，澤邉京子，村田浩一：よこはま動物園における鳥マラリアの発生と対策．獣医畜産新報，59: 827-830，2006．

9）澤邉京子，佐々木年則，星野啓太，伊澤晴彦，小滝　徹，伊藤美佳子，高崎智彦，江下優樹，小林睦生：日本国内における蚊からのウエストナイルウイルス検出法の検討．Med. Entomol. Zool.，57: 279-286，2006．

10）二瓶直子：ヒトと感染症．ヒトとわざわい（村井俊治，渡辺興亜，安岡善文，岡島成行，二瓶直子編），pp. 251-264，エス・ビー・ビー，東京，2006．

11）小林睦生：マラリア．ヒトとわざわい（村井俊治，渡辺興亜，安岡善文，岡島成行，二瓶直子編），pp. 274-281，エス・ビー・ビー，東京，2006．

12）倉橋　弘，津田良夫：日本の北におけるオオクロバエの記録．双翅目談話会「はなあぶ」(23): 54，2007．

13）林　利彦：ハエ目．環境省自然環境局野生生物課編集．改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物－レッドデータブック－5　昆虫類．財団法人自然環境研究センター，p. 76，139-142，220-223，2006．

14）岩永史朗，伊澤晴彦：マダニ成分の分子生理学．ダニと新興再興感染症（SADI 組織委員会編集），pp.83-86，全国農村教育協会，2006．

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1）Mizuno H, Tomita T, Kasai S, Komagata O, Kono Y.Expression level of two acetylcholinesterases in mosquito, *Aedes albopictus*. The 11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, August 6-11, 2006, Kobe.

2）Kasai S, Shono T, Komagata O, Tsuda Y, Kobayashi M, Tomita T. Insecticide susceptibilities of West Nile virus-vector mosquitoes collected from Japan. Special Workshop for Mosquito Control. The 11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, August 6-11, 2006, Kobe.

3）Tomita T, Komagata O, Shono T, Kasai S. Mechanisms involved in pyrethroid resistance of *Culex pipiens* mosquitoes in Japan. The 11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, August 6-11, 2006, Kobe.

4）Toda S, Komazaki S, Tomita T, Kono Y, Resistance-associated point mutations in acetylcholinesterase gene in the cotton aphid and the frequency of the resistant allele in the field populations. 11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, August 6-11, 2006, Kobe.

5）Oh S.-H, Kozaki T, Tomita T, Kono Y, Biochemical properties of recombinant acetylcholinesterases with amino acid substitution in the active site. 11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, August 6-11, 2006, Kobe.

6）Moribayashi A, Kurahashi H, Hayashi T, Tsuda Y, Kobayashi M. Physiological studies of four forensically important flies found in different seasons in Japan. Symposium: Forensic & Therapeutic Diptera, The 6th International Congress of Dipterology, September 23-28,2006, Fukuoka.

7）Kurahashi H. Is the Japanese blow fly, *Calliphora nigribarbis*, a mechanical carrier of highly pathogenic avian influenza virus? Workshop: Callipholidae & Sarcophagidae, The 6th International Congress of Dipterology, September 23-28, 2006, Fukuoka.

8）Kurahashi H. Phylogeny of Sarcophagid flies based on the comparative morphology of female post-abodomens. Workshop: Callipholidae & Sarcophagidae, The 6th International Congress of Dipterology, September 23-28, 2006, Fukuoka.

9）Roychoudhury S. Protozoan parasite *Ascogregarina* spp.: a fundamental study in the light of using the parsite for the biological control of dengue vector mosquitoes. Symposium: Mosquito Control: lessons from Malaria, dengue, and West Nile fever, The 6th International Congress of Dipterology, September 23-28, 2006, Fukuoka.

10）Kasai S, Komagata O, Shono T, Kobayashi M, Tomita T. Insecticide resistance of major West Nile virus-transmitting mosquitoes in Japan. Symposium: Mosquito Control: lessons from Malaria, dengue, and West Nile fever, The 6th International Congress of Dipterology, September 23-28, 2006, Fukuoka.

11）Hayashi T. Taxonomy and distribution of *Poecilosomella borboroides* species group (Diptera. Sphaeroceridae). The 6th International Congress of Dipterology, September 23-28, 2006, Fukuoka.

12）Kasai S, Komagata O, Tsuda Y, Tomita T, Kobayashi M. A simplified molecular identification of the vectors of West Nile fever, *Cx. pipiens* complex collected in Japan. Forty-first Joint Conference on Parasitic Diseases Japan-United States Cooperative Medical Science Program, February 2-3, 2007, Tokyo.

13）Sawabe K, Hoshino K, Isawa H, Sasaki T, Hayashi T, Tsuda Y, Kurahashi H, Kobayashi M. Isolation of highly pathogenic H5N1 influenza virus from blow flies and its ability of virus transmission. Forty-first Joint Conference on Parasitic Diseases Japan-United States Cooperative Medical Science Program, February 2-3, 2007, Tokyo.

2．国内学会

「第 58 回日本衛生動物学会大会，2006 年 4 月 6 日～8 日，長崎市」

1）津田良夫，比嘉由紀子，澤邉京子，村田浩一，佐藤雪太，松本令以，植田美弥，長塚信幸：首都圏動物園および水族館における蚊の発生状況調査．

2）津田良夫，比嘉由紀子，葛西真治，澤邉京子：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．

3)津田良夫,Kris Cahyo Mulyatno, Subagyo Yotopranoto, Sri Subekti Bendryman：インドネシア・スラバヤ市におけるイーストによる二酸化炭素発生装置を用いた屋内吸血性蚊の採集結果．

4）小林睦生，二瓶直子，斎藤一三，津田良夫：東北地方における疾病媒介蚊の分布拡大および分布圏周縁部における生息密度に関する調査．

5）渡辺　護，小原真弓，西尾恵美里，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 から 2005 年）．

6）吉田政弘，山下敏夫，小林睦生：大阪市内の冬季におけるアカイエカ群について．

7）二瓶直子，津田良夫，駒形　修，望月貫一郎，小林睦生：都市地理情報を用いた首都圏の疾病媒介蚊の生息予測．

8）二瓶直子，小林睦生，吉田政弘，田所克己，金田弘幸：空中写真による兵庫県西宮市のセアカゴケグモ生息動向の解析および防除対策の評価．

9）倉橋　弘：東マレーシア，サラワク産のクロバエとニクバエ．

10）林　利彦：日本産カレクサフンコバエ属（新称）（双翅目，フンコバエ科）について．

11）森林敦子，倉橋　弘，林　利彦，澤邉京子，津田良夫，小林睦生，土田耕三，片桐千仭：異なる餌，温度下におけるオオクロバエの生育について．

12）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，小林睦生: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．

13）澤邉京子，星野啓太，伊澤晴彦，中口　梓，佐々木年則，比嘉由紀子，津田良夫，高崎智彦，小滝　徹，井上真吾，森田公一，川田　均，高木正洋，永野博明，藤井猪一郎，千屋誠造，渡辺　護，斎藤一三，小林睦生：2005 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分離．

14）横山紘子，斉藤康秀，二瓶直子，澤邉京子，津田良夫，小林睦生：蚊の吸血嗜好性に関する室内選択実験お

よび野外捕集蚊における調査.
15）佐々木年則，磯部　尚，斎藤典子，星野啓太，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生：*Armigeres subalbatus* の *Plasmodium gallinaceum* に対するメラニン化作用.
16）伊澤晴彦，森田明広，織戸由貴，岩永史朗，鎮西康雄，油田正夫：ブラジルサシガメの唾液腺に見いだされた血小板凝集を抑制する新規生理活性物質の性状解析.
17）星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子，比嘉由紀子，小林睦生，津田良夫：ヤマトヤブカ *Ochlerotatus japonicus* コロニーの樹立.
18）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：人工膜吸血装置によるコロモジラミへの *Bartonella quintana* 感染実験.
19）駒形　修，葛西真治，津田良夫，小林睦生，冨田隆史：オオクロバエの殺虫剤感受性.
20）駒形　修，葛西真治，正野俊夫，冨田隆史：マイクロアレイ法を用いたシトクロム P450 解析（１）：ピレスロイド剤抵抗性ネッタイイエカの遺伝子発現.
21）葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史：マイクロアレイ法を用いたシトクロム P450 解析（２）：ピレスロイド剤抵抗性アカイエカおよびチカイエカの遺伝子発現.
22）冨田隆史．駒形　修，正野俊夫，葛西真治：マイクロアレイ法を用いたシトクロム P450 解析（３）：過剰発現の機構.
23）橋本知幸，新庄五朗，冨田隆史，葛西真治：ピレスロイド抵抗性アカイエカの蚊取り剤使用環境下での吸血行動の実験的検証.
24）内海与三郎，釜田　壹，古田真也，亀井正治，吉田政弘，山下敏夫，小林睦生：雨水枡および浄化槽に生息するアカイエカ群に対するピリプロキシフェン含有発泡錠剤の防除効果.

「第 75 回日本寄生虫学会大会，2006 年 5 月 19 日～20 日，弘前市」
25）荻野和正，金澤　保，堀尾政博，小林文夫，巌城　隆，奥祐三郎，神谷正男，八木欣平，林　利彦，二瓶直子，小林睦生：ニクバエ類のヒト多包虫感染関与の可能性―室内試験による多包条虫虫卵の運搬及び摂取・排泄の傾向について.
26）磯部　尚，Mabvuto Banda，Sudipta Roychoudhury，澤邉京子，小林睦生：鶏マラリア *Plasmodium gallinaceum* スポロゾイト接種鶏での抗原・抗体検出.

「第 41 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2006 年 5 月 26 日～27 日，長崎市」
27）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，高崎智彦，小林睦生，澤邉京子：本邦生息蚊が保有するフラビウイルスの検出および性状解析.
28）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，澤邉京子，小林睦生：2005 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.
29）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：広島県倉橋島における日本脳炎媒介蚊の発生状況（2005 年）.

「第 1 回日本衛生動物学会西日本支部例会，2006 年 7 月 22 日，大阪市」
30）小林睦生：今，蚊のうつす病気が危ない－現状と課題．市民講座・公開シンポジウム「ウエストナイル熱・日本脳炎の脅威とワクチン問題」.

「日本比較免疫学会第 18 回学術集会，2006 年 8 月 24 日～25 日，広島市」
31）佐々木年則，磯部　尚，斎藤典子，星野啓太，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生：オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* の鶏マラリア *Plasmodium gallinaceum* に対する自然免疫機構の一つメラニン化作用について.

「第 6 回双翅目国際会議公開市民講座，2006 年 9 月 23 日，福岡市」
32）小林睦生：病気を媒介する蚊.

「第 47 回日本熱帯医学会・第 21 回日本国際保健医療学会合同大会，2006 年 10 月 12 日，長崎市」
33）中村　哲，松田　肇，Viroj Kitikoon，渡部重久，松本　淳，二瓶直子，鈴木琴子，中津雅美，Kogsap Akkhavong，Bounguong Boupha：ラオスメコン住血吸虫再流行地域における学童の疾病認識と保健教育の必要性.
34）二瓶直子，駒形　修，小林睦生，吉田政弘，岡田邦宏，平良常弘：大阪湾岸に移入されたセアカゴケグモの空間解析とそれに及ぼす防除活動の影響評価.

「第 66 回日本寄生虫学会東日本支部大会，2006 年 10 月 21 日，東京」
35）磯部　尚，Mavbuto Banda，Sudipta Roychoudhury，佐々木年則，澤邉京子，小林睦生：日本産蚊の鶏マラリア *Plasmodium gallinaceum* 媒介性.

36）村田浩一，佐々木絵美，佐藤雪太，津田良夫，澤邉京子：国内の動物園・水族館における飼育下ペンギン類の鳥マラリア感染に関する調査研究.

「第 58 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2006 年 10 月 27 日，下野市」
37）倉橋　弘：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.
38）津田良夫：東京湾沿岸におけるイナトミシオカの生息について.

「第 22 回日本ペストロジー学会，2006 年 11 月 21 日～22 日，岡山市」
39）春成常仁，谷川　力，二瓶直子，駒形　修，小林睦生：都市地理情報を用いた首都圏のネズミの生息予測.

「第51回日本応用動物昆虫学会,2007年3月27－29日,東広島市」
40）駒形　修，小原秩美，葛西真治，本山直樹，冨田隆史：アカイエカ種群蚊の亜種分類および殺虫剤抵抗性遺伝子の分子診断法.
41）葛西真治，駒形　修，岡村佳香，冨田隆史：有機リン剤抵抗性チカイエカで高発現するグルタチオン S トランスフェラーゼ.
42）冨田隆史，駒形　修，津田良夫，比嘉由紀子，Indira S Weerashinhe，葛西真治：アジアのコガタアカイエカ集団における殺虫剤抵抗性アセチルコリンエステラーゼ遺伝子の分布.
43） 深津武馬，古賀隆一，深津（佐々木）佳世子，二河成男，吉沢和徳，三原　實，葛西真治，小林睦生，冨田隆史，Wendy S，Colin D，Dale C：吸血性昆虫類の内部共生微生物：その多様性と進化的起源.

１２．獣 医 科 学 部

部 長　山 田 章 雄

概　要

本年度の特筆すべきことは 36 年ぶりに経験した輸入狂犬病であろう。11 月に京都と横浜で立て続けに患者が発生した。獣医科学部はウイルス第 1 部、感染病理部、国際協力室との連携により、いずれの患者においても生前診断を実施し、真性の狂犬病であることを確認した。狂犬病の生前診断の臨床的意義はあまり大きくはないが、患者および患者の家族の精神的ケア、医療関係者への曝露予防対策などにおいては重要な情報となった。国立感染症研究所においても緊急のシンポジウムを開催したり、病原体検出情報で特集を企画したりして、狂犬病に関する啓発に努めた。これを契機に一般の方々の狂犬病への関心が高まったことは、狂犬病常在国に囲まれた我が国としては不幸中の幸いであったかも知れない。しかし一方で過熱する報道によって、狂犬病ワクチンの供給不足が生じたりしたことも教訓の一つといえよう。近頃、動物由来感染症に対してメディアの関心が高いのはありがたいことではあるが、正しい知識に基づいて正しい判断をして貰えるよう、正しい情報の提供をする必要を感じるところである。

研究に関しては科学振興調整費、厚生労働科学研究費等の補助により、順調に進められているが、動物由来感染症の発生の背景にある生態学的、社会学的要素に対しての理解を進めることも必要であると考えられる。国内外の協力も順調に進んでいる。

業　績

調査・研究

Ⅰ．動物由来感染症に関する研究

1.　国内におけるブルセラ症（Brucellosis）患者報告に関する調査研究

ブルセラ症（Brucellosis）はブルセラ属菌（genus *Brucella*）による人獣共通感染症である。我が国におけるヒトのブルセラ症は、1999 年 4 月 1 日施行の感染症法で 4 類感染症に指定され、診断した医師に届出が義務づけられるまで、届出対象疾患ではなかったため発生状況は正確に把握されていなかった。今回、日本におけるブルセラ症患者発生状況について、感染症法指定以前は過去の文献により、指定以降は届出情報をもとに調査した。その結果、1933 年に初めて報告されて以来、1999 年 3 月までに 58 例の報告があった。このうち *B. abortus* は国内感染が、*B. melitensis* や *B. suis* は海外からの帰国者や実験室感染が主であった。1999 年 4 月 1 日以降、届出は 8 例あった。*B. melitensis* 感染者 2 例、*B. abortus* 感染者 1 例は海外で感染し国内で発症したものであった。輸入感染症の 1 つとして注意しておく必要があると思われる。一方、*B. canis* 感染と推定された者のうち 3 例は海外渡航歴もなく、イヌとの接触歴も定かでなく、従って感染経路は不明であった。［今岡浩一、神山恒夫（獣医科学部）、多田有希（感染症情報センター）］

2.　*Brucella canis* 特異的抗体検出のためのマイクロプレート凝集反応の開発に関する研究

Brucella canis はイヌを自然宿主とし、イヌの流産や不妊等の原因となるが、まれにヒトにも感染する。現在の *B. canis* に対する抗体検査法は不活化 *B. canis* 菌体を抗原とした試験管内凝集反応（TAT）であるが、検査に必要な抗原量・血清量が多く、また一度に多くのサンプルを検査することも煩雑である。そこで、より少量の抗原・血清ですみ、検査手技の簡便な、マイクロプレートを用いた凝集反応（MAT）を検討した。陽性率、抗体価に高い相関が見られ、MAT は TAT に代わる優れた検出法である。［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

カプノサイトファーガ属菌はイヌの口腔内に常在するグラム陰性桿菌であり、イヌに咬まれたりなめられたりすることにより感染する。敗血症や髄膜炎などの症状を呈し、発症した場合の死亡率は 30%程度と比較的高い。日本国内のイヌにおけるカプノサイトファーガ属菌の保有状況について調査した。平成 18 年 12 月までの調査の結果、309 検体中 295 検体（約 96%）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 83 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症の原因菌である *Pasteurella multocida* の遺伝子検査も実施した結果、309 検体中 86 検体が陽性であり、保有率は約 28%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. 国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つであり、ラット口腔内から検出される *Streptobacillus moniliformis* は、咬傷や掻き傷、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。国内野生ラット（ドブネズミ、クマネズミ）の口腔内における *S. moniliformis* 保有状況の調査を行ったところ、ドブネズミで 92%、クマネズミで 58%が保菌していた。分離株の 16S-rRNA の遺伝子配列を比較したところ、ドブネズミとクマネズミでは異なる株を保有していた。[木村昌伸、今岡浩一、鈴木道雄、神山恒夫、小泉信夫（細菌第一部)、谷川力（イカリ消毒株式会社)]

5. 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。そこで、鳥における WNV や抗WNV抗体を検出する方法についてJEVとの鑑別を考慮しながら検討した。また、鳥類の抗体保有状況を検討した。

(1) 鳥類における WNV および JEV 遺伝子検出法の確立：LightCycler による、ハイブリダイゼーションプローブを用いた Real-Time PCR、Real-Time RT-PCR を確立した。WNV では env 領域を標的として NY99, Eg101 など lineage 1 を検出するものを作製した。JEV では env 領域を標的として JaGAr, Beijing など genotype 3 のみ特異的に検出するものと、PolyProtein 領域を標的として genotype 1,3 とも検出するものを作製した。[今岡浩一、鈴木道雄、山田章雄]

(2) 鳥類における WNV および JEV に対する抗体検出法の開発と抗体保有状況調査:抗 WNV または抗 JEV モノクローナル抗体を用いて、WNV および JEV に対する Blocking-ELISA 法を確立した。Blocking-ELISA では、トリ種に関係なく特異的抗体を比較検討できる。次に、WNV および JEV に対する抗体を Blocking-ELISA および PRNT で測定した。検討した渡り鳥（ミヤマガラス、シギ・チドリ、ヨシゴイ、カモ類）および、留鳥（ハシボソガラス、ハト、スズメ、ナキアヒル、イソシギ、ニワトリ）のサンプルからは、どちらの抗原に対しても特異的抗体は検出されなかった。[今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄]

6. 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把握と課題点に関する調査と検討

自治体で行われる講習会・研修会を利用して、我が国の狂犬病検査・サーベイランスの効果的な啓発（研修）のあり方について狂犬病対策担当者（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）とともに検討を行った。狂犬病対策に対する予防的な危機管理の準備状況と危機意識は自治体および個々の担当者によって差のあることが大きな課題であるとの理解に至った。したがって、自治体の現状に応じた至適な啓発（研修）および検査技術等の方法が必要であると考えられた。[井上　智、高橋朱実（岩手県環境保健研究センター）、松館宏樹（岩手県環境保健研究センター）、永安聖二（高知県衛生研究所）、沼田一三（兵庫県動物愛護センター）、近平雅嗣（兵庫県立健康環境科学センター）、押部智宏（兵庫県立健康環境科学センター）、佐藤　克（獣医科学部客員研究員）、堀元栄詞（富山県衛生研究所ウイルス部）、西條和芳（徳島県保健福祉部生活衛生課）、朴　天鎬（北里大・獣医）、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄]

(2) 狂犬病ワクチンを接種したイヌの中和抗体価推移

狂犬病ワクチンを初回接種した飼育犬から経時的に採血を行い血中の中和抗体価を RFFIT 法によって調べた。ワクチン接種後１ヶ月で 7/15（48%）の個体が WHO の推奨する防御抗体価 0.5IU/ml に達したが、１年後には 3/9（33.3%）に低下した。２年次２回目のワクチン接種１ヶ月後には全個体で 5.0IU/ml 以上の中和抗体価を示した。これにより、現行のイヌへの狂犬病ワクチンでは初回接種のみでは十分な防御抗体を誘導できないことが示された。[野口 章、佐藤　克（客員研究員)、村中志朗・佐藤志伸・須田沖夫・小林元郎・兼島　孝・杉山和寿（臨床獣医師)、井上 智]

(3) フィリピンで流行している狂犬病ウイルス株の分子遺伝学的解析

ヒトの輸入狂犬病症例患者の発生について分子疫学的な解析を行うために、フィリピン熱帯医学研究所(RITM)の協力を得て患者が咬傷を受けたフィリピンのルソン島における狂犬病ウイルス17株についてN遺伝子全領域の

塩基配列について系統樹解析を行った。結果、系統樹のクラスターに地域特異性のあることが明らかとなった。［野口 章、Catalino Demetria ・Jun R. Orbina・ Mary E. Miranda・ Remigio M. Olveda（RITM)、井上 智］

(4) 安全・簡便かつ迅速なヒトおよび動物の狂犬病診断を可能とする検査方法の開発

フィリピンで分離される狂犬病ウイルス株を標的とした特異性の高い診断用抗体とこれを利用した簡易免疫組織検出法の開発についてフィリピン熱帯医学研究所(RITM)に委託研究を行った。現在、検査・診断系に有効と考えられる単クローン抗体の作出と、狂犬病診断に持ち込まれるイヌの検査材料を利用した診断系の有効性評価をフィリピンで進めている。［Daria L.Manalo ・Remigio M. Olveda（RITM)、朴 天鎬（北里大・獣医)、野口 章、Boldbaatar Bazartseren・佐藤こずえ（岐阜連合大学院)、山田章雄、井上 智］

(5) 狂犬病ウイルス（RV）P 蛋白に対する細胞内発現抗体（intrabody）の作製

RV は、神経上行性に中枢神経に侵入して狂犬病を発症するが現在のところ確実な治療法はないとされている。そこで、神経細胞に感染した RV に対する増殖抑制効果を期待して、RV-P 蛋白に対する抗体様分子 scFv（single chain variable fragment）を、intrabody として neuroblastoma (MNA)細胞に発現させる系を確立した。確立した複数の scFv クローンが細胞内で特異的に P 蛋白と結合していることが確認され、現在細胞内における RV の増殖抑制効果について検証を行っている。[加来義浩、野口 章、堀田こずえ、井上 智]

(6) 狂犬病ウイルス感染における NCAM-120 の役割について

狂犬病ウイルスレセプターとして報告されている神経細胞接着因子(NCAM)のアイソフォームの中で、レセプターとして未報告の GPI アンカー型 NCAM-120 について研究を行った。NCAM-120 トランスフェクション細胞ではウイルス吸着活性が認められたものの、ウイルス増殖抑制も起きた。Real-time PCR 法により、IFN-β mRNA を測定した結果、未感染時の細胞における IFN-β発現量の関与が示唆された。[佐藤こずえ・本井ゆりえ（岐阜連合大学院)、奥谷晶子、加来義浩、野口 章、井上 智、山田章雄]

7. 炭疽菌に関する研究

(1) 炭疽菌国内分離レファレンス株の収集と解析

過去に日本国内で発生した炭疽菌を保存している可能性のある地方自治体の衛生研究所、家畜保健所および獣医系大学に対して炭疽菌株の所有確認とレファレンス株としての分与依頼を行い、関係各機関から総計 30 株の国内分離株および検査用標準株を収集した。現在、抗生物質耐性、Variable Number of Tandem Repeat(VNTR)、病原性遺伝子(*pag* および *cap* 遺伝子)の保有の有無などの生物・生化学性状解析および各種遺伝子の検索を行っている。[奥谷晶子、野口 章、山田章雄、井上 智]

(2) 炭疽菌および近縁菌種の迅速な遺伝子鑑別同定法の開発

炭疽菌とその近縁菌種であるセレウス グループの 2 菌種（*Bacillus cereus* および *Bacillus thuringiensis*）とを鑑別するために、調節遺伝子である *plcR* 遺伝子および表層膜蛋白質である BA4789 遺伝子をターゲットにした real time sequencing (pyrosequencing)法の検討を行った。この方法では 1 塩基多型を含む複数の遺伝子多型を区別することができ、炭疽菌とその近縁菌種との菌種の鑑別が可能となることを確認した。[奥谷晶子、井上智]

8. ヘニパウイルス感染症に関する研究

(1) ニパウイルス N, P 蛋白に対する抗血清の作製

ニパウイルス（NiV）の感染した細胞で特徴的に見られる多核巨細胞形成を利用したウイルス抗原検出系を確立するために、間接蛍光抗体法に使用する抗 NiV N, P 蛋白ウサギ抗体を DNA 免疫の手法を用いて NiV 蛋白に特異的に反応する特異抗体を作成した。[加来義浩、野口 章、奥谷晶子、井上 智]

(2) ニパウイルスの N 蛋白発現細胞を利用した血中特異抗体検出系の開発

HEK293T 細胞に NiV N 蛋白を発現させて間接蛍光抗体法に使用することで、ニパウイルス（NiV）感染を特定するための血中の特異抗体検出系の確立を行った。抗 NiV ウサギ抗血清を利用した間接蛍光抗体法では、N 蛋白に特異的な蛍光像が観察された。現在、ヒト・ブタ等の健康血清を利用して、非特異反応についての感度検証を行っている。[加来義浩、野口 章、奥谷晶子、井上 智]

(3) ニパウイルスの中和試験代替法の開発

ニパウイルス（NiV）の NiV-F, G 蛋白を発現した VSV

pseudovirus を作出して中和試験代替法の開発を試みた。現在、HEK293T 細胞に NiV-F, G 蛋白遺伝子をコードするプラスミドを co-transfect して VSV・G-G*を感染させ pseudovirus を得ている。今後、国内で NiV 中和血清に対する反応性の確認と、豪州家畜衛生研究所 BSL4 施設での生ウイルスを用いた中和試験との比較を計画している。[加来義浩、山田章雄、井上　智]

9.　狂犬病の行政検査に関わる実績

2 件の行政検査が依頼されて、これを実施した。(1)平成 18 年 11 月 15 日付けで結核感染症課から検査依頼(成績：陽性）。(2)平成 18 年 11 月 20 日付けで結核感染症課から検査依頼（成績：陽性）。[井上　智、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄、佐多徹太郎・長谷川秀樹・飛梅　実・佐藤由子（感染病理部）、森本金次朗・中道一生・伊藤睦代・倉根一郎（ウイルス第一部）、中嶋建介（国際協力室）]

10.　野兎病に関する研究

(1) Loop-mediated isothermal amplification(LAMP)法を用いた野兎病菌の検出法の開発

野兎病菌 *fop*A 遺伝子を標的遺伝子として LAMP プライマーを設計し、野兎病菌ゲノム DNA の検出法の確立を試みた。国内外由来野兎病菌、同属の *Francisella philomiragia* と他の菌種を用いてその反応性と特異性について調べた。さらに野兎病菌から抽出したトータル DNA および *fop*A 遺伝子領域 DNA を含む組換えプラスミド DNA を用い LAMP 法と PCR 法での検出感度を比較した。その結果、今回作成した LAMP 法の検出系は供した野兎病菌株のみを特異的に増幅し、その検出感度は PCR 法の 100 倍、先に開発したリアルタイム PCR 法(LightCycler)とほぼ同等であった。以上の事より LAMP 法は特異的かつ高感度な野兎病菌の検出法として有用である事が明らかとなった。[藤田　修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、山田章雄、棚林　清]

(2) 国内野生動物における野兎病の血清抗体調査

日本国内野生動物由来血液または血清 262 検体（野兎 123、野生ラット 97 およびツキノワグマ 62）の野兎病血清抗体調査を試みた。微量凝集反応法または酵素抗体法にてスクリーニングし、強い反応を呈した検体はウエスタンブロットにて野兎病菌特異抗原であるリポ多糖体に対する反応を確認した。スクリーニングで野兎 4 検体、野生ラット 2 検体およびツキノワグマ 14 検体が強く反応した。これら 20 検体中クマ由来 4 検体がウエスタンブロットでリポ多糖体特有のバンドを呈し、過去に野兎病菌に感染した事が示唆され、現在も国内の野生動物や環境中に野兎病菌が存在すると推察された。今後、ツキノワグマをはじめ、他の動物種の検体も収集し、継続的に国内の野生動物の感染状況を調査したい。[堀田明豊、山本美江、宇田晶彦、藤田修、棚林清]

(3) *Francisella tularensis* 感染によるマウスの免疫反応の解析

F. tularensis に高感受性動物であるマウスの感染時の変化を解析した。Yama 株を腹腔より 100 CFU 接種したマウスは接種後 2 日目から体重が減少した。4 日目には血液中菌量が 10^6CFU/ml、脾臓中菌量が 10^9CFU/臓器に至った。血中サイトカインは IL-6 および IFN-γ 量が著しく増加したが、GM-CSF、TNF-α、IL-1α、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、および IL-17 量の有意な上昇は認められなかった。細胞マーカーの解析より Th1 細胞、CD14 陽性細胞ならびに CD4 および CD8 両マーカー陽性細胞の有意な増加が認められた。5 日目には全頭斃死した。腹腔内各臓器の腫脹、白色繊維系浸出物による癒着が認められた。今後、感染後の経過を長期間解析するため接種経路等を検討したい。[堀田明豊、宇田晶彦、山本美江、藤田修、棚林清]

(4) 野兎病菌感染マウスにおける脾臓の遺伝子発現変動の検出

野兎病菌（*F. tularensis*）の感染モデル動物としてマウス（BALB/c）を使用し、感染後4日目までに全てのマウスが死亡する接種量の下、感染後0、2、4日目のマウス脾臓からTotal RNAを抽出し、マウスの41,290遺伝子についてマイクロアレイ解析を行った。その結果、感染後発現量が有意に上昇する遺伝子群は生体防御反応をはじめとする152遺伝子だった。また有意に減少する遺伝子も22個検出された。現在、変動していた遺伝子群についてリアルタイムPCRと、ウエスタンブロットを用いて確認中である。[宇田晶彦、堀田明豊、藤田 修、山本美江、山田章雄、棚林 清]

11.　鳥インフルエンザに関する研究

(1) 市販人用インフルエンザ検査キットの高病原性鳥インフルエンザウイルスでの評価

各種市販のヒト用インフルエンザ検査キットを用いて H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの検出を試みたところ $10^{3.3}$TCID50 のウイルスを検出できるキットもあったが、$10^{6.3}$TCID50 のウイルスを検出できないキ

ットもあり、感度に差があることがわかった。先に調べた低病原性の H5N1 亜型ウイルス株を用いた場合とは検出感度に差があることが明らかになった。人用インフルエンザ検査キットを鳥類由来インフルエンザウイルスの検査に応用する場合は感度や操作の容易性を考慮して使用する必要性があると考えられた。[山本美江、堀田明豊、棚林清]

(2) 鳥類由来インフルエンザ A ウイルスのネコでの感染機構の解析

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、ネコ由来培養細胞でのウイルス増殖と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を行った。鳥類由来インフルエンザウイルスがネコ由来培養細胞２株に加えてさらに Fc3Tg と AK-D でも、インフルエンザウイルスの分離培養に用いられる MDCK 細胞と同等またはそれ以上に増殖できることがわかった。また、ネコの気管、気管支および角膜には鳥類由来インフルエンザウイルスが指向性を示すとされているα2-3 結合シアル酸分子が存在することが分かった。これらの結果は鳥類由来ウイルスがネコにも感染し増殖する要因の一つであることを示しているが、さらに他の組織における受容体の分布状況やウイルスの増殖性を検討する必要がある。[山本美江、堀田明豊、宇田晶彦、藤田修、棚林清、山田章雄]

12. SARS コロナウイルスに関する研究

(1) ヒトACE2発現トランスジェニックマウスのSARSコロナウイルス感受性試験

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（hACE2Tg）を作出し、3ライン得た。各ラインのマウスに10^2～10^5 $TCID_{50}$/匹のSARS-CoVを経鼻接種したところ、接種後4～5日で発症し致死的だった。また感染3日後の主要臓器中のウイルス量を測定したところ、3ラインとも脳と肺で10^7 $TCID_{50}$/g 以上だった。以上の結果から、hACE2TgマウスはSARS-CoVの感染モデル動物として有効である可能性が示された。[宇田晶彦、堀田明豊、藤田 修、山本美江、山田章雄、棚林 清、永田典代・長谷川秀樹（感染病理部）]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

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

2) Park C.-H., Kondo M., Inoue S., NoguchiI A., Oyamada T., Yoshikawa H. and Yamada A. 2006. 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. J.Vet.Med.Sci. 68:589-595.

3) Hotta K, Motoi Y, Okutani A, Kaku Y, Noguchi A, Inoue S and Yamada A. 2007. Role of GPI-anchored NCAM-120 in rabies virus infection. Microbes Infect. 9:167-74.

4) 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. Ame. J. Trop. Med. Hyg. 75:327-332, 2006.

5) Hotta A, Uda A, Fujita O, Tanabayashi K, Yamada A. Preparation of Monoclonal Antibodies for Detection and Identification of *Francisella tularensis*. Clin. Vac. Immunol. 14: 81-84, 2007.

2. 和文発表

1) 山田章雄：家畜と野生動物における人と動物の共通感染症　緒言　獣医畜産新報 59, 625-628 2006

2) 山田章雄：ペットなどから SARS が感染する可能性について　綜合臨床 55, 535-536 2006

3) 山田章雄：ウイルス感染と自然宿主　感染症 36, 161-172 2006

4) 山田章雄：インフルエンザ　人とわざわい　下巻 265-273 2007

5) 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／特集 人と動物の共通感染症最前線３。獣医畜産新法（Journal of Veterinary Medicine）：59、279-281、2006

6) 井上　智：狂犬病の発生リスクと診断・検査システムの重要性。家畜衛生学雑誌（The Japanese Journal of Animal Hygiene）：32、7-8、2006

7) 森本金次朗、井上　智：アジアの狂犬病と疫学。＜特集＞　狂犬病 2006 年現在。病原体微生物検出情報

vol.28、61-68、2007

8) 神垣太郎、鈴木　陽、押谷　仁、Miranda ME、井上智：フィリピンにおける狂犬病の流行状況およびその対策。＜特集＞　狂犬病 2006 年現在。病原体微生物検出情報 vol.28、69-70、2007

9) 井上　智､山田章雄､森本金次朗､倉根一郎､飛梅　実、佐多徹太郎:ヒト狂犬病の検査 – 生前診断から剖検診断まで（その意義）。＜特集＞　狂犬病 2006 年現在。病原体微生物検出情報 vol.28、70-73、2007

10) 棚林　清:野兎病 獣医感染症カラーアトラス　第 2 版、見上　彪　監修 文永堂出版 pp.105-106. 2006.

11) 藤田修、堀田明豊、棚林　清：野兎病　感染症の話 感染症発生動向調査感染症週報 2006 年第 22 週､p15-18.

12) 堀田明豊、棚林　清：野兎病　獣医畜産新報 56 (8), 644-648, 2006.

13) 宇田晶彦：遺伝学的モニタリング　医科学研究資源としてのカニクイザル､吉田高志/藤本浩二編　シュプリンガー・ジャパン　pp.124－133, 2006

Ⅱ. 学　会　発　表

1. 国際学会

1) Tanabayashi, K., Fujita, O., Hotta, A., Uda, A., Yamamoto, Y. and Yamada, A.: PCR based typing of the *Francisella tularensis* isolated in Japan. 5th International Conference on Tularemia. Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA, USA, Nov. 1-4, 2006.

2) Hotta, A., Uda, A., Fujita, O., Tanabayashi, K., and Yamada, A.: Preparation of momoclonal antibodies for detection and identification of *Francisella tularensis*. 5th International Conference on Tularemia. Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA, USA, Nov. 1-4, 2006.

3) Fujita, O., Uda, A., Hotta, A., Okutani A., Inoue, S., Tanabayashi, K., and Yamada, A.: Genotypic diversity of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* strains isolated in Japan. 5th International Conference on Tularemia. Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA, USA, Nov. 1-4, 2006.

2. 国内学会

1) 今岡浩一、山田章雄：*Yersinia pestis* の微量迅速検出・診断法の確立。第 80 回日本感染症学会総会，2006 年 4 月，東京

2) 長谷川　徹、小泉　順子　他、野口　章、井上　智：狂犬病防御抗体保有状況と飼い主意識調査。平成 18 年東京都福祉保健医療学会。2006 年 11 月、東京

3) 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、 小林 睦生：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。第58回日本衛生動物学会大会。2006年4月、長崎

4) 山本美江、棚林 清、山田章雄、澤 洋文、長嶋和郎、佐多徹太郎、倉田 毅、William Hall、佐藤勝徳、長谷川秀樹：成人T 細胞白血病モデルマウスの病態解析。第53回日本実験動物学会総会。2006年5月、神戸市、兵庫

3. セミナー・講演等

1) 今岡浩一：日本におけるブルセラ症：シンポジウムⅤ「動物由来感染症」。衛生微生物技術協議会。第 27 回研究会。2006 年 6 月、札幌市、北海道

2) 井上　智:狂犬病の社会的インパクトとその発生リスク。人獣共通感染症対策「狂犬病の発生に備えて」研修会。岩手県環境保健研究センター。2006 年 7 月 13 日、岩手

3) 井上　智：イヌ狂犬病の実験室内検査法。人獣共通感染症対策「狂犬病の発生に備えて」研修会。岩手県環境保健研究センター。2006 年 7 月 14 日、岩手

4) 井上　智:わが国における狂犬病対策に関わる科学的知見等について。平成 18 年度 東京都公衆衛生獣医師協議会調査研究発表会。東京都公衆衛生獣医師協議会。2006 年 7 月 21 日、東京

5) 井上　智:わが国における狂犬病の発生リスクと発生時における対応。人獣共通感染症講演（狂犬病、いまそこにある危険と臨床獣医師 – 獣医師に求められる狂犬病診断）。2006 年年次学会。日本小動物獣医師会。2006 年 8 月 19 日、京都

6) 井上　智：わが国に必要な狂犬病へ理解と危機意識。市民公開講座（狂犬病について市民向け講演：狂犬病にまつわるわが国の過去と今）。2006 年年次学会。日本小動物獣医師会。2006 年 8 月 20 日、京都

7) 井上　智：わが国における狂犬病の発生リスク。平成 18 年度公衆衛生講習会（東京地区）。東京都獣医師会、日本獣医師会。2006 年 8 月 22 日、東京

8) 井上　智：狂犬病対策。動物由来感染症対策（狂犬病予防を含む）技術研修会（平成 18 年度）。厚生労働省健康局結核感染症課。2006 年 11 月 2 日、東京

9) 井上　智:平成 18 年度 我が国の狂犬病予防対策について。狂犬病予防・動物愛護管理業務連絡会議及び研修会。厚生労働省健康局結核感染症課。2006 年 11 月 6 日、千葉

10) 奥谷晶子、井上　智：炭疽菌とその検査法。PCR/PFGE

実習・講義。平成 18 年 特定研修新興再興感染症技術研修。国立感染症研究所、国立保健医療科学院。2006 年 11 月 20 日、武蔵村山市、東京

11) 井上　智：狂犬病の発生リスクと診断・検査システムの重要性。家畜衛生フォーラム 2006「狂犬病の侵入をいかに防ぐか」。日本家畜衛生学会。2006 年 11 月 22 日、東京

12) 井上　智：3. 狂犬病の検査・診断。緊急セミナー：日本で 36 年ぶりに発生したヒト狂犬病を考える。国立国際医療センター。2006 年 12 月 8 日、東京

13) 井上　智：狂犬病に関する世界の動向及び対策等。狂犬病講習会。横浜市民病院。2006 年 12 月 15 日、横浜市、神奈川

14) 井上　智:狂犬病患者の生前診断 - 困難さとその重要性 -。感染研セミナー：狂犬病患者の発生を踏まえて（京都と横浜の発生事例の検証から）。国立感染症研究所。2006 年 12 月 22 日、新宿区、東京

15)井上　智：狂犬病患者の生前診断から（輸入狂犬病の発生に備えて）。動物由来感染症講習会。香川県生活衛生課。2007 年 1 月 12 日、高松市、香川

16) 井上　智：狂犬病に関する最近の話題（輸入狂犬病の発生に備えて）。公衆衛生部会研修会。鳥取県獣医師会。2007 年 1 月 20 日、鳥取市、鳥取

17) 井上　智：狂犬病について（輸入狂犬病を 36 年ぶりに経験して）。全国動物管理関係事業所協議会近畿ブロック会研修会。全国動物管理関係事業所協議会近畿ブロック会。2007 年 3 月 9 日、大津市、滋賀

18) 井上　智：希少な輸入感染症の発生に備えるには –狂犬病患者を 36 年ぶりに経験して。知っておきたい人獣共通感染症。北大 21 COE Program：道新市民公開講座。2007 年 3 月 24 日、札幌市、北海道

19) 井上　智：第一部：自治体における狂犬病対策について。平成 18 年度 第 3 回九州・山口感染症担当機関合同研修会。佐賀県健康増進課。2007 年 3 月 29 日、佐賀市、佐賀

20) 井上　智：第二部：我が国の狂犬病対策について。平成 18 年度 第 3 回九州・山口感染症担当機関合同研修会。佐賀県健康増進課。2007 年 3 月 29 日、佐賀市、佐賀

21) 棚林　清：わが国における人獣共通感染症への対応「人獣共通感染症対策を基盤とした食の安心・安全の確立」シンポジウム。岩手大学農学部。2006 年 11 月 7 日、盛岡市、岩手

22) 棚林　清:鳥インフルエンザの検査法について。2006 年度食鳥肉衛生技術研修会。 2007 年 1 月 22 日、東京

23) 藤田　修：バイオセーフティの観点から見た病原細菌野兎病(tularemia)。第 6 回日本バイオセーフティ学会。2006 年 11 月 25 日、東京

１３．血 液・安 全 性 研 究 部

部 長　山 口 一 成

概　要

当部が担当する国家検定は血液製剤とワクチンである。血液製剤については、「輸血医療の安全性向上と血液の完全国内自給」が近い将来の国の目標である。血液製剤も大きく変わろうとしている。やがてリコンビナントアルブミン製剤が市場に登場し、現在は全面的に輸入に頼っている特殊免疫グロブリン（抗ＨＢグロブリン、抗破傷風グロブリンなど）さえも国内自給を目指す方向で模索が始まっている。このような新しい血液製剤も含めて、血液製剤の監視体制の整備が求められており、今後の部の目指すべき方向として、わが国における「ヘモビジランス（血液副作用報告体制）」の役割を感染症情報センターのご協力のもとに、確立したいと考えている。厚労省、関連学会、全国の血液・輸血関係者との連携、共同研究をいろいろな角度から進めたい。

ワクチンについては日本もこの20年近い冬の時代からの脱却が求められているが、私達はワクチンの安全性研究の立場から貢献できることを検討している。若い研究者を中心に新しく始めたプロジェクトがようやく実を結びつつあり、DPT ワクチン、新型インフルエンザワクチン、日本脳炎ワクチン等の安全性研究についての成果とその国家検定への応用を数年以内に世界に問いたいと思う。

国家検定については、長い歴史の中で感染研は重要な役割を果たしてきたが、検査法の開発を含めてそのシステムを見直すことが必要な時期になっている。一般の研究は常に学会、論文等で外部の批判に晒されているが、生物学的製剤の国家検定には感染研しか関わっておらず、外からはほとんど見えにくいのが実情である。常に「感染研の私物化」の恐れがあることに私達は留意しなければならない。しかし、私達は専門家集団であり、感染研の外から指摘されて改革するのではなく、自主的に変えていきたいと考えている。幸い現行の国家検定試験法の見直しについての検討が研究所として始まっている。感染研内部から改革が始まったというところを外に向けて発信できたらと思う。それにはスピード感も大事な要素である。

平成 18 年度は、新しい研究員の採用はなかった。先端の研究はそれまでの伝統に新しい力が加わり、各方面との交流が行われて始めて成し遂げることができる。国立の研究機関の、研究者の移動が比較的少ない現在のシステムが今後も機能するとは思わない。感染研のみでは解決しにくいが、大学や他の研究機関、地方衛生研究所などとの人事交流が早急に必要であろう。

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、部員の厚労省研究事業費、文科省科研費等の研究班への参加が今年度は 3 年前の約 5 倍になった。今後も一層の努力を続けていきたい。

内藤主任研究官がドイツ、ポール・エールリッヒ研究所に4ヶ月間留学し帰国した。今後の活躍を期待したい。非常勤の秘書として内野百合子さんが11月から採用された。

業　績

調査・研究

Ⅰ．血液製剤の安全性に関する研究

プリオンの研究―*in vitro* 感染系の検討―

BSE 由来の異常プリオンから血液製剤の安全性を確保するために、人由来細胞株を用いた *in vitro* 感染系を検討した。特異性を高めるために抽出法を改良し、ポリクローナル抗体を用いることによって感度を向上させた。その結果、*in vitro* において感染が成立していることを再確認することができた。また、感染細胞の上清を非感染細胞に添加することによって異常プリオン特異的なバンドが検出でき、培養上清中に感染性のプリオンが存在していることが明らかにできた。さらに、ウイルス除去膜によって除去できることも明らかにした。この系は血液製剤からのプリオン除去の評価に有用な測定系になると考えられた。[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Ｃ型肝炎ウイルス，Ｂ型肝炎ウイルス(HBV)およびAIDSウイルス遺伝子のNATに関するコントロールサーベイを実施することになり、感染研が検体の作製と配布及び結果の解析を担当した。第一回はHBV NATを対象とした。血漿分画製剤製造所７社10施設が実施している試験法は７種類で、全ての施設の全ての試験法の感度は目標値の100国際単位/mlを達成していた。衛生検査所７社が輸血後検査に用いているHBV DNA定量用体外診断薬キット2種類のうちキットAは有意な施設間差はなく、100国際単位/mlの濃度の検体を測定可能であった。［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． 病原体不活化に関する研究

日本の血液製剤の安全性は格段と向上したが、輸血による感染症は未だ根絶出来ない。新興再興感染症のアウトブレイクや未知の病原体による血液汚染に対し病原体特異的なスクリーニングのみで安全性を担保するには限界があり、広範囲な病原体を不活化出来る不活化法の開発が期待されている。そこで食品の無菌化に応用されている加圧処理に着目し、加圧処理により血液製剤を汚染し得る病原体を不活化することを試みた。

(1) 血液製剤に混入するウイルスの加圧処理による不活化

エンベロープを有する日本脳炎ウイルス、麻疹ウイルス、マウスレトロウイルス、エンベロープを有さないパルボB19ウイルス、A型肝炎ウイルス(HAV)を用いて、0～400MPaの加圧処理後の感染価を測定した。その結果、HAVを除くウイルスにおいて300MPaの加圧処理による有効な不活化効果が認められた。さらに、加圧処理により生理活性の保持を検討した結果、300MPa処理によりグロブリン製剤の機能が維持されること、また第8因子以外の主な凝固因子の活性が維持されることが確認された。［梅森清子、岡田義昭、矢野茂生、布施　晃、嶋崎典子、山口一成］

(2) 血液製剤に混入するバクテリアの加圧処理による不活化

大腸菌ATCC35218株を濃厚赤血球製剤にスパイクし、0～300MPa の加圧処理前後の生菌数を比較した結果、200MPaの加圧処理により大腸菌の不活化効果が認められ、その際の赤血球製剤の溶血は1.0%以下であった。さらに新鮮凍結血漿製剤に対して200MPaの加圧処理をし、機能の維持を検討した結果、調べたすべての凝固因子活性が保たることを確認した。［梅森清子、岡田義昭、矢野茂生、布施　晃、山口一成］

3． B型肝炎ウイルスに関する研究

(1) HBs抗原の解析と組み換えHBs抗原パネルの作製

昨年度に各genotype毎のＳ抗原パネルの整備が完了したので、今年度はパネルを充実させるために日本国内に多いgenotypeＢ（9例）とＣ（10例）からＳ遺伝子をクロ-ニングし、計38個のＨＢｓ抗原パネルを作成した。これらのＨＢｓ抗原のa抗原決定基は保存されていた。組み換えＨＢｓ抗原は、恒常的に全く同一の抗原性を持つＨＢｓ抗原を作成することができるため診断用キットの評価等に有用だと考えられた。［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Ｂ型肝炎ウイルス感染の主要マーカーであるが、共通抗原基a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て、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。昨年度の研究において *in vitro* mutagenesis法を用いて4種類の変異型HBs抗原を作製した。今年度はこれらの変異型HBs抗原を国内で販売されている5種類の高感度HBs抗原検出キットを用いて測定した。その結果、キットによって測定値に影響を受ける変異が異なることが示された。また、*in vitro* mutagenesis法を改良した結果、変異型HBs抗原の効率的な作成が可能になった。これらの結果は、国内で使用する診断用HBs抗原検出試薬の評価系として、国内で報告されている変異や海外から持ち込まれる可能性のある変異を反映した遺伝子組換え HBs 抗原パネルの有用性を示している。［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． 抗原ペプチドとリポソームとの最適結合方法の検討

本研究において使用するリポソーム処方が効率よくCTLを誘導することが可能であることは既に報告したが、今年度はリポソームの薬剤送達（DDS）能力をさらに向上させることを目的として、リポソーム上にリンパ節指向型のペプチド（homing peptide）を結合させて生体内での動態を追跡した。その結果、homing peptideを表面に結合したリポソームは高効率にリンパ節に集積し、かつリポソーム結合抗原に対する免疫誘導が顕著に増強され

ることが観察された。［種市麻衣子、内田哲也］

2. 脈管新生におけるマクロファージと血管平滑筋細胞の役割とその分子機構についての研究

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。私たちは、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、胸腺で脈管新生が誘導されることを報告してきた。現在、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、マクロファージと血管平滑筋細胞の解析を進めているが、マクロファージは脈管に直接的に作用するVEGF-Cなどの脈管新生因子を産生することが明らかとなった。さらに、マクロファージの産生する IGF-1が血管平滑筋細胞を刺激し、血管平滑筋細胞からangiopoietin-2 が産生され、リンパ管内皮細胞の増殖を誘導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ばかりでなく、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た細胞質内タンパク質に由来するペプチドとも複合体を形成する。本年度は、ユビキチン化された細胞質内タンパク質の一部が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ることを蛍光免疫染色法で明らかにした。今後は、どのような免疫学的環境下でオートファジーが誘導されるのかを解明する予定である。［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 遺伝子を線維芽細胞に導入することにより、相同配列部位に高頻度で再構成が起こり、 その変化にゲノム上の他のいくつかの配列が関与していることを報告してきた。これらのうちの一つの配列と相同性の高い、ヒトの cDNA クローンを導入したマウス線維芽細胞は、 前述の c-mos トランスフェクタントに類似の形態を示し、特に外胚葉性分化マーカーの顕著な発現が観察された。この新規遺伝子の、レトロウイルス感染症発症にはたす役割について検討中である。［田中（庄司）明子］

Ⅳ. 動物ウイルスに関する研究

1. ウシにおけるウシ白血病ウイルス(BLV)感染

牛白血病発症数は、近年、全国的に増加傾向にあり、その原因ウイルスである BLV と人への感染の可能性について調査を続けている。今回、HA 法、ウイルス分離法および Nested PCR 法を用いて牛 17 頭（大分県）について BLV 感染診断を行った。12 頭が HA 法で抗体陽性と判定された。その 12 頭について Nested PCR 法で BLV のプロウイルスの遺伝子の存在を調べたところ 11 頭で陽性であった。このうち、7 頭で CC81 細胞に多核巨細胞形成する BLV と思われるウイルスが分離された。PCR 陽性例について BLV の遺伝子配列を調べたところ、10 頭は日本型に感染していたが、ホルスタイン種と黒毛和牛で遺伝型が異なることが判明した。残りの 1 頭はアルゼンチン型であった。感染経路を解明するためにはウシの生産、育種、流通との関係からの調査が必要となった。［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ために、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。IFA では 約 90 %が陽性で、それらのサルの 40%から感染性ウイルスが分離された。SFV はヒトへの感染例も報告されていることから、輸血や血液製剤への影響についても考慮する必要性がある。実験用以外の霊長類についても調査するためにニホンザル約 100 頭の血液を採取した。これらを用いて SFV の感染状況を調べる予定である。［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

コレラ毒素 B サブユニット（rCTB）粘膜投与後の中枢神経系の影響とベル麻痺の因果関係を明らかにすべく、コレラ毒素（CT)、rCTB の経鼻投与による嗅球および脳への組織学的影響と麻痺の観察を行った。ヘルペスウイルス感染マウスへ CT、rCTB を経鼻投与すると、CT の場合、顔面神経でヘルペスウイルスの特異的バンドが PCR で確認された。rCTB 投与や PBS 投与では、PCR による特異的バンドが検出されなかった。また、ヘルペスウイルス特異的バンドを検出したマウスに麻痺が観察されたが、

rCTB 投与や PBS 投与では、麻痺は現れなかった。以上の結果は、経鼻免疫によるベル麻痺の発症の一因としてヘルペスウイルスが関与し、近年報告された大腸菌易熱性毒素と不活化インフルエンザウイルス HA 抗原の経鼻投与後の麻痺は、潜伏感染しているヘルペスウイルスが再活性化され発症したと推測される。[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。粘膜ワクチンは感染局所での防御が期待されるが、Oligo B により粘膜での抗原特異的 IgA 抗体の産生増強が認められた。一般に、CpG-DNA は Th１型の免疫系を増強するとされるが、Th2 型の IgG1 抗体も十分な産生が認められた。一方、同程度に血清 IgG を誘導するアルミニウムゲルアジュバントの場合と比べ、抗原特異的 IgE 抗体産生はほとんど認められなかった。現在 Oligo B の Th1/Th2 バランスへの影響をサイトカイン産生誘導の観点から検討している。感染防御及び安全性の面から Oligo B は粘膜アジュバントとして有用である。[前山順一、井坂雅徳(名古屋市大・医）、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. 皮膚前処置による経皮免疫応答の増強

抗原溶液を皮膚の表面に投与する前に、薬剤の経皮吸収を促進することが知られている下記の前処置を施して、その効果を検討した。1)テープストリッピングによる角質層の除去、2)エタノールの塗布、3)オレイン酸の塗布。いずれの処置によっても、経皮免疫による血清中の抗原特異的抗体応答が有意に増強された。このことから、低分子物質について知られている経皮吸収促進処置は、高分子の抗原蛋白に対しても有効であることが示唆された。［内藤誠之郎］

2. インフルエンザ HA ワクチンへの応用

インフルエンザ HA ワクチン（A/New Caledonia/20/99）を、マウスの耳にパッチを貼付する方法で経皮免疫し、免疫応答を観察した。免疫したマウスの血清中および糞便中には、ELISA 法により、有意な抗原特異的抗体産生が確認された。ワクチンを投与する前にテープストリッピングを施した場合には、より強い抗体応答が観察された。インフルエンザ PR8 株を致死的チャレンジしたところ、テープストリッピングを併用して経皮免疫した群は、無免疫コントロールに比べて有意に生残率が高かった。[内藤誠之郎、長谷川秀樹（感染病理部）]

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同定する目的で、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い、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 法による骨髄ニッチでの局在を明らかにし、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. IRF-2 の生物学的機能について

IRF-2（インターフェロン制御転写因子）の生物学的機能に関連して造血に及ぼす影響について検討している。IRF-2 は特定の配列に結合する転写因子であることから、血液分化誘導に関わる因子のプロモーター領域を検索した。いくつかの因子の ISRE-like 配列に IRF-2 が実際に結合するかを in vitro のアッセイで検討すると、CD41 のプロモーターに結合する領域が存在することを見いだした。レポーターアッセイにおいて IRF-2 が CD41 の ISRE-like site を介して転写を活性化することがわかった。マウスの bone marrow から stem cell をセルソーターで分離採取し、レトロウイルス発現系を用いて IRF-2 を高発現させると、対照と比較して巨核球細胞のコロニー増加が確認された。レンチウイルスベクターを用いて IRF-2 をノックダウンさせると、逆にコロニーの減少が認められた。これらのことから IRF-2 は巨核球分化に重要な役割を担っていることが明らかとなった。さらには IRF-2 ノックアウトマウスを用いて野生型と比較し IRF-2 と CD41 の関係について検討するとともに、その他の IRF-2 の造血系に対する影響を検討している。[益見厚子、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質発現プロセ

スの異常、RPS19 欠損に伴う細胞周期異常（G0/G1 期停止）を見いだし、これらの異常が赤芽球増殖障害に関与することを明らかにした。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 *Spp1* の機能解析

骨芽細胞に特異的に発現する *Spp1* 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。*Spp1* の機能解析を行うために *Spp1* 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ニッチ形成が遅延していることが明らかとなった。また、ニッチ形成が遅延した骨髄では造血幹細胞数が増加している事が明らかとなった。一方、骨髄移植モデルにおいても、*Spp1* が造血再建に先行して一過性に骨髄ニッチに高発現することから、*Spp1* が造血ニッチの初期形成に重要な働きをしているものと考えられた。今後 *Spp1* 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、造血幹細胞の機能発現に重要であることが示唆されているが、その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 Ang-1 の発現を亢進させた結果、Tie2 の活性を増強させることを見出した。このモデルを用いて、造血幹細胞が自身の機能調節を行うメカニズムを解析している。［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

1．HTLV-1 感染細胞における遺伝子 Ezrin の機能解析

DNA マイクロアレイ解析により、HTLV-1 感染細胞に Ezrin 遺伝子が高発現していることが明らかになった。HTLV-1 感染細胞株にウイルスベクターを用いて siRNA を導入し、Ezrin の遺伝子発現を抑制した。その結果、in vitro で細胞の血管内皮細胞間隙の遊走を抑制することが示唆された。今後、SCID マウスを用いて臓器浸潤能への影響を解析する。［土田和歌子、倉光　球、浜口　功］

2．ATL 発症高危険群の長期追跡と発病予防の検討

山口班のプロジェクト(JSPFAD)によるキャリア登録を平成 14 年秋から開始。17 年からは対象を、疾患の有無にかかわらず HTLV-1 感染者としたことで、「HTLV-1 感染者のバイオマテリアルリソースバンク構築」が可能になった。2007.3 までのべ 2,319 検体を登録し、プロウイルスコピー数の定量と、末梢血の感染細胞数が 20%を超えた検体に関してはクローナリティの解析を行った。プロジェクトでは 5 年間、登録を続け、さらに 5 年間フォローする。ATL 及び キャリア末梢血単核球の発現プロファイル解析は、ATL 細胞を特徴づける遺伝子を絞り込み、ATL 細胞の早期検出系の開発を進めている。ATL に対する治療として、新規 NF-kB 阻害剤による試みも、臨床応用にむけて進んでいる。検体をゲノム解析に提供している。

班員の個別研究も継続している。1)アポトーシス誘発リガンドである TRAIL に対する ATL 細胞の感受性と治療法への可能性の検討。2）キャリアの、家族背景および感染細胞数の解析など。［山口一成］

Ⅸ．肝炎ウイルス感染の肝外病変

1．肝外病変の基礎的及び臨床的包括研究

C 型肝炎ウイルス(HCV)感染による B 細胞動的変化についての免疫学的解析：HCV は、肝細胞表面の CD81 分子に結合し感染が成立すると考えられている。この CD81 分子は末梢血中の B 細胞にも発現している。HCV 感染と B 細胞の機能異常さらには B リンホーマへの癌化という現象とが相関しているという報告がある。そこで、HCV 慢性感染者の血液より B 細胞を分離し、様々な免疫学的検討を行なうこととした。今年度は患者血液から B 細胞を高純度に精製する方法を検討し、満足いく結果が得られた。［水落利明、浜口　功、百瀬暖佳、飯野四郎（清川病院）、池淵研二（埼玉医大）、山口一成］

2．HCV 感染による B 細胞リンパ腫発症機序の解析

HCV はヒトに持続感染し、肝細胞癌などの慢性疾患を引き起こす主要因子である。一方、慢性的な HCV 感染患者の末梢血からはクローナルな感染 B リンパ球がしばしば見いだされ、HCV 感染が B 細胞リンパ腫の発症にも関与し

ていることが示唆されているが、その機序は明らかでない。これまでに、B 細胞を含むヒト末梢単核球へ、高効率に遺伝子を導入する条件設定が完了した。HCV 感染と B 細胞リンパ腫の関係を *in vivo* で解析する目的で、HCV 関連遺伝子を導入したヒト末梢単核球を免疫不全マウスへ移植する準備を行っている。[百瀬暖佳、浜口　功、益見厚子、水落利明、岡田誠治（熊本大)、山口一成]

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し、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とを目標に行なっている。これまでに百日せきワクチンおよびインフルエンザワクチン（沈降新型インフルエンザワクチンを含む）の毒性に関する遺伝子群の同定に成功している。現在、毒性に関連した遺伝子の発現量を簡便でかつ精度高く測定する方法を開発中であり、今後、これらの方法を安全性評価法として、実用化することを検討している。[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．網羅的遺伝子発現解析によるインフルエンザワクチンの安全性評価

インフルエンザワクチンの迅速かつ高精度な安全性評価法を開発する目的で、全粒子ワクチン及びスプリットワクチン接種後のラット肺組織の DNA マイクロアレイ解析を行った。その結果、78 遺伝子を用いてインフルエンザワクチンを分類する事が可能となった。また、これらの遺伝子の中には免疫に関する遺伝子群が認められたため、肺組織を用いたアレイ解析では、安全性のみならず有効性についても検討する事が可能ではないかと推測された。今後はこれらの 78 遺伝子の機能を解明すると共により簡便な検出システムの開発を目指す。[水上拓郎、浜口 功、百瀬暖佳、内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、倉光 球、山口一成]

Ⅲ．HCV コア抗原検出キットの性能評価に向けた研究

昨年度において作成した Genotype 1a, 1b, 2a, 2b, 3a の各 HCV コア抗原を、現在市販中および開発中の HCV コア抗原検出キット（IRMA 法（ラジオイムノアッセイ）および蛍光酵素抗体法（FEIA））にて測定した。その結果、明らかに特定の genotype を持つ HCV コア抗原の検出感度が低いキットがあった。現在その原因の解析を試みている。 [水落利明、鈴木哲朗（ウイルス第二部)]

Ⅳ．HIV gag 抗原検出キットの性能評価の向けた研究

これまでに作成を続けてきた様々な 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用い、ヒト細胞で産生させたウイルス粒子の抗原量を標準化し、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第四世代 HIV 抗原／抗体同時検出キットの性能評価を行なった。その結果キットによっては、国内で検出頻度の高い subtype の HIV-1 p24 抗原の検出感度が低いものがあった。今後、このような抗原パネルを用いて、体外診断用キットの性能評価が行うことが可能になった。[水落利明、巽 正志（エイズ研究センター)]

Ⅴ．HBs 抗体測定キットの性能評価

HBs 抗体価の正確な測定は、HB ワクチン投与効果判定において非常に重要である。現在国内で販売されている 8 種類の抗 HBs 抗体測定キットを用いて、抗 HBs 抗体国内標準品希釈系列検体を測定した。6 種類のキットにおいてはほぼ期待される測定値を示したが、1 種類のキットでは期待値に比較して約 1.5 倍、他の 1 種類のキットでは約 0.5 倍の測定値を示した。このような測定値が乖離する原因を検討中である。[小高千加子、水落利明]

Ⅵ. 平成 18 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

1． セファドロキシル［シロップ、3 社、3 ロット；カプセル、1 社、1 ロット］

^{1}H-スペクトル：カプセルは添加物が微量であったため、妨害シグナルが無視でき、標準スペクトルと同様のスペクトルが得られた。シロップは、3.5ppm 付近の１プロトンのみが添加物の強いピークに隠れたが、残りの７種のシグナルは完全な分離ピークとして観測され、積分比も標準スペクトルと同様の値が得られた。４検体の等量混合スペクトルは、分離されたすべてのシグナルが標準スペクトルと完全に一致し、同定確認することができた。

2． 注射用スルバクタムナトリウム－セフォペラゾンナトリウム［注射用、9 社、10 ロット］

^{1}H-スペクトル：検体は、2 成分混合標準品とほぼ類似のスペクトルを与え、不純物の含量は微量と考えられた。1.0～7.5ppm で 全 18 種シグナル中、16 シグナルが分離ピークとして観測された。等量混合スペクトルでは、検体は標準品とすべてのピークが完全に一致した。^{13}C-ス

ペクトルでは標準品と検体は 31 ピークが分離して観測され、等量混合スペクトルでは、検体と標準品のピークはすべて一致し、同定確認ができた。[矢野茂生]

Ⅶ. 微量たんぱく質定量法の開発

ワクチン等の製剤中のμｇレベルの蛋白質含量を、ケルダール法により正確に定量できる方法は現在まで実現されていない。新しく開発した微量アンモニア定量法をケルダール法に応用した結果、アルブミン濃度で０.２～４０μｇ／ｍＬで直線性（ｒ=0.998）を示し、ローリー法より一桁感度が良いことが確認された。製剤中の微量の蛋白量を、多検体、連続定量できる自動分析システムの実現に向けて努力している。[矢野茂生]

Ⅷ. 新型インフルエンザワクチンたんぱく質含量測定法の検討

開発中の新型インフルエンザワクチンは全粒子ワクチンであり、その品質管理に、ローリー法によるたんぱく質含量試験が適用可能かどうかを検討した。4 種類の方法で測定を行ったところ、アルミニウムの影響はほとんどなく、ケルダール法を応用した新規微量定量法も含めて、我々の検討では、すべて同様の測定値が得られた。メーカー4 社の自家試験値との差異は、特に原液で顕著であったが、方法自体の問題とは考えにくく、ローリー法での測定が可能であることが示唆されたが、サンプルの処理方法などに更なる工夫が必要であると考えられる。[田中（庄司）明子、笠井道之、矢野茂生]

Ⅸ. 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。前年度に引き続き、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について、投与量の増量の是非を検討した。各製剤とも、投与量の増量により試験感度の増強が期待できるデータが集積された。

2. エンドトキシン試験法の導入

前年度に引き続き、血液製剤の発熱試験法の代替法としてエンドトキシン試験（BET）法を導入できるかどうか検討した。

(1) 反応干渉因子試験の実施

製剤の BET 反応系への影響を評価するために、反応干渉因子試験を実施した。今年度は、BET 法の導入を検討する血液製剤 20 品目のうち 15 品目についてのデータが得られた。その結果、乾燥人アンチトロンビンを除いて、反応干渉作用は弱く、BET 法を導入できる可能性が高いことがわかった。乾燥人アンチトロンビンについては、複数社の製品で一貫してきわめて強い反応干渉作用が認められ、通常の方法では BET 法の適用は困難であると考えられた。

(2) 発熱増強活性試験の実施

前年度に引き続き、製剤によるエンドトキシン発熱活性に対する影響を評価するために、発熱増強活性試験を実施した。今年度は、BET 法の導入を検討する血液製剤 20 品目のうち 14 品目についてのデータが得られた。凝固因子系に関連する 4 製剤では、発熱反応を増強する傾向が認められたのに対して、免疫グロブリン系製剤では、逆に、発熱反応を抑制する傾向が認められた。このことから、凝固因子系の血液製剤については、エンドトキシン規格値を低く設定する必要があると考えられた。[内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、浜口　功、落合雅樹・山本明彦・堀内善信（細菌第二部）、山口一成]

Ⅹ. 非エンドトキシン発熱性物質標品の作製

現在、発熱性物質標品として、グラム陰性菌由来のエンドトキシン（リポポリサッカライド）については国際標準品があるが、非エンドトキシン発熱性物質については標準品と呼べるものはない。このような標品は、細胞を用いる in vitro 発熱試験法を確立する上で必須と思われる。そこで、グラム陽性菌由来の発熱性物質標品を作製するための基礎的な検討を行った。複数のグラム陽性菌の菌体浮遊ろ液中に、自発的に発熱性物質が放出されることを確認した。菌体を超音波処理することにより発熱性物質の放出は促進された。以上より、これらの菌体浮遊ろ液をグラム陽性菌由来発熱性物質標品の出発材料として利用できる可能性が示唆された。[内藤誠之郎、Ingo Spreitzer、Sven B Nicol、Thomas Montag-Lessing（Paul-Ehrlich-Institut)]

研修業務

1. Seminar on Sexual Transmitted Disease, Control of AIDS and ATL. 10 名の研修生に対しての講義と実習。Aug.1-2. 2006

2. 肝炎の疫学とその予防、治療対策セミナー. 10 名の研修生に対しての講義と実習。Sep.8. 2006

3. Improvement of Blood Screening 研修コース　10 名の研修生に対しての講義と実習。January. 2007

血液･安全性研究部主催、共催のセミナー、研究会

1．2006 年 4 月 28 日　第 1 回感染研細胞生物セミナー
年森清隆（千葉大学　大学院医学研究院・形態形成学）
精子形成の制御

2．2006 年 6 月 14 日　第 2 回感染研細胞生物セミナー
江良拓実（理化学研究所・発生再生科学総合研究センター・幹細胞研究グループ）発生研究を病気の治療へ

3．2006年7月18日　第3回感染研細胞生物セミナー　遠藤大二（酪農学園大学・獣医学部）多種ウイルスを同時検出するためのプライマー設計

4．佐竹正博（東京都赤十字血液センター副所長）血液センターから見た輸血感染症　学友会セミナー　2006年10月10日

5.2006 年 10 月 23 日　第 4 回感染研細胞生物セミナー
岩間厚志（千葉大学大学院医学研究院・細胞分子医学）
ポリコーム遺伝子 Bmi-1 による幹細胞のエピジェネィックス制御

6．2006 年 10 月 24 日　第 5 回感染研細胞生物セミナー
米村雄士（熊本大学医学部・輸血部）骨髄細胞における肝分化能の検討

7．2007 年 2 月 5 日　第 6 回感染研細胞生物セミナー
大隈和（琉球大学大学院・免疫学分野）HIV 感染に対する新規治療法及び改良型感染実験小動物モデルの開発

8．2006 年 4 月―2007 年 3 月（全 11 回　毎月 1 回第 3 土曜日）HTLV-1 と疾患　連続公開講座　東京大学医科学研究所にて開催　文科省科研費　がん研究に係わる特定領域研究　ATL 発症高危険群の同定ー発症予防を目指して（山口班）

ワクチン研究会（2005 年から不定期に開催している）

1. 2006 年 4 月 24 日　ワクチンなどバイオロジックス考ー私見ー（独）医薬品医療機器総合機構　生物系審査部長　田中克平

2. 2006 年 6 月 23 日　細胞性免疫誘導能を持つペプチド結合リポソームを応用したウイルスワクチンの創製　血液・安全性研究部　内田哲也

3．2006 年 8 月 29 日　予防接種法における MR ワクチン導入の経緯と WHO measles elimination について　感染症情報センター　岡部信彦

4．2006 年 10 月 17 日　痘そうワクチンから学ぶことー１つのケーススタディーとして ー　ウイルス第三部　木所　稔

5．2006 年 12 月 22 日　経鼻接種インフルエンザワクチンの開発感染病理部　長谷川秀樹

平成 19 年 1 月 9 日　サイトメガロウイルス感染症とその対策　ウイルス 1 部　井上直樹

6．2007 年 3 月 2 日　ドイツ研究報告ーよもやま話　血液・安全性研究部　内藤誠之郎

武蔵村山市民公開講座

1．2006 年 6 月 24 日

若手研究者による講演会

1）大槻紀之：ワクチンの検査と獣医師
2）鈴木里和：耐性菌と院内感染
3）水上拓郎：再生医学の未来と安全性

2．2006 年 11 月 11 日

小田切孝人：鳥インフルエンザと新型インフルエンザ

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌上発表

1．　欧文発表

1) Taneichi M, Tanaka Y, Kasai M, Mori M, Nishida M, Yamamura H, Mizuguchi J, Uchida T: Induction of differetial T-cell epitope by plain- and liposome-coupled antigen. *Bioconjugate Chemistry* 17:899-904, 2006.

2) Taneichi M, Ishida H, Kajino K, Ogasawara K, Tanaka Y, Kasai M, Mori M, Nishida M, Yamamura H, Mizuguchi J, Uchida T: Antigen chemically coupled to the surface of liposomes are cross-presented to CD8+ T-cells and induce potent antitumor immunity. *J. Immunol* 177:2324-2330, 2006.

3) Kinoshita H, Abe J, Akadegawa K, Yurino H, Uchida T, Ikeda S, Matsushima K, Ishikawa S: Breakdown of mucosal immunity in the gut by 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Env. Health Prevent. Med*. 11:256-263, 2006.

4) Nagata T, Toyota T, Ishigaki H, Ichihashi T, Kajino K, Kashima Y, Itoh Y, Mori M, Oda H, Yamamura H, Taneichi M, Uchida T, Ogasawara K: Peptides coupled to the surface of a kind of liposome protect infection of influenza viruses. *Vaccine* 25:4914-4921, 2007.

5) Hara M, Kikuchi T, Sata T, Nakajima N, Ami Y, Sato Y, Tanaka K, Narita T, Ono F, Akari H, Terao K, Mukai R: Detection of SRV/D shedding in body fluids of cynomolgus macaques and comparison of partial gp70 sequences in SRV/D-T isolates. *Virus Genes*. 35:281-8, 2007

6) Hamaguchi I, Imai J-I, Momose H, Kawamura M, Mizukami T, Kato H, Naito S, Maeyama J-I, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Mochizuki M, Ochiai M, Yamamoto A, Horiuchi Y, Nomura N, Watanabe S, Yamaguch K: Two vaccine toxicity-related genes Agp and Hpx could prove useful for pertussis vaccine safety control. *Vaccine* 25: 3355-3364, 2007

7) Nagamatsu G, Ohmura M, Mizukami T, Hamaguchi I, Hirabayashi S, Yoshida S, Hata Y, SudaT, Ohbo K: CTX family cell adhesion molecule, JAM4, expresses in stem cell- and progenitor cell-populations of both male germ cell and hematopoietic cell lineages. *Mol. Cell. Biol.* 26: 8498-8506, 2006

8) Kinoshita D, Hirota F, Kaisho T, Kasai M, Izumi K, Y. Bando, Y. Mouri Y, Matsushima A, Niki S, Han H, Oshikawa K, Kuroda N, Maegawa M, Irahara M, Takeda K, Akira S, Matsumoto M: Essential role of IκB kinase αin thymic organogenesis required for the establishment of self-tolerance. *J. Immunol.*, 176: 3995 – 4002, 2006

2．和文発表

1) 水落利明:輸血後感染症の実態　医学のあゆみ 218(6):619-624, 2006

2) 岩瀬　敏、布施　晃、その他 16 名：ベッドレストによる宇宙飛行コンディションに対する人工重力の有用性：Space Utiliz Res. 22:192-195, 2006

3) 内藤誠之郎：経皮免疫ワクチン．臨床免疫・アレルギー科　47(2): 226-231, 2007.

4) 山口一成：輸血医療・医学の新展開　はじめに　医学のあゆみ　第１土曜特集　218(6):555, 2006

5) 岡田義昭、梅森清子：血漿分画製剤の安全性確保の現状　医学の歩み　218(6):625-630、2006

6) 渡邊俊樹、上平　憲、山口一成編:HTLV-1 と疾患　280 頁　文光堂　2007

7) 山口一成：ATL・HTLV-1 研究の歴史　HTLV-1 と疾患 2-13 文光堂　2007

8) 渡邊俊樹、山口一成：全国共同研究組織の変遷と JSPFAD の活動　コホート研究とバイオリソースバンク形成の現状　HTLV-1 と疾患　221-224　文光堂　2007

9) 水落利明、岡田義昭、梅森清子、水沢左衛子、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た異なる HBV genotype 由来 HBs 抗原の検出（続報）　臨床検査　51(4):443-446.2007

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1. Mizukami T, Hamaguchi I, Kuramitsu M, Momose H, Takizawa K, Okada S, Noce T, Yamaguchi K: Spp1(osteopontin) Is Essential for the Early Niche Formation in the Bone Marrow.48th Annual meeting of American Society of Hematology, Florida, USA, December, 2006

2. Maeyama J, Isaka M, Yasuda Y, Tochikubo K, Hasegawa T, Komiya T, Takahashi M, Yamamoto S Goto N: Studies on mucosal adjuvanticity of recombinant Cholera toxin B subunit on humoral and cellular immunity and Its safety evaluation. The Second International Conference on Modern Vaccines Adjuvants & Delivery Systems 2006.10. London

２．　国内学会

1) 山口一成：ATL/HTLV 研究の現状と今後の課題。第 5 回 ATL MRD 研究会 学術講演会　2006.4.22 福岡

2) 岡田義昭：血漿分画製剤の感染症対策（シンポジウム）第 54 回日本輸血学会　2006.6.9-11 大阪

3) 山口一成：輸血とウイルス感染症　第 54 回日本輸血学会イブニングセミナー　2006.6.9-11 大阪

4) 青木　桜、内丸　薫、宇都宮與、魚住公治、菊池　博、上平　憲、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 46 回日本リンパ網内系学会　2006.6.29-7.1 名古屋

5)笠井道之:MHC classⅡ分子に拘束する胸腺上皮細胞内抗原の提示における autophagy の関与　第 16 回 Kyoto T Cell Conference　2006.6.2-3 京都

6) 山口一成：輸血医療の新展開―より安全な輸血を目指してー第 20 回九州免疫血清研究会　特別講演　2006.7.8 沖縄

7) 大杉剛生、熊坂利夫、田中義照、崎尾　昇、石田尚臣、浦野　徹、岡田誠治、渡邊俊樹、山口一成、堀江良一、梅澤一夫：Tax 非発現 HTLV-Ⅰ感染細胞株 TL-Oml および MT-1 に対する DHMEQ の in vivo 抗腫瘍効果　第 43 回日本ウイルス学会九州支部会　2006.9.1-2 久留米

8) 倉光　球、濱口　功、水上拓郎、益見厚子、百瀬暖佳、滝澤和也、望月雅代、内藤誠之郎、山口一成：先天性赤芽球ロウにおけるリボゾームたんぱく質 S19 の遺伝子変異に伴うたんぱく質発現と赤芽球細胞増殖抑制　第 68 回日本血液学会・第 48 回日本臨床血液学会合同総会 2006.10.6-8 福岡

9) 益見厚子、濱口　功、倉光　球、水上拓郎、百瀬暖佳、望月雅代、滝澤和也、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について　第 68 回日本血液学会・第 48 回日本臨床血液学会合同総会　2006.10.6-8 福岡

10) 水上拓郎、濱口　功、倉光　球、滝澤和也、百瀬暖佳、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 68 回日本血液学会・第 48 回日本臨床血液学会合同総会　2006.10.6-8 福岡

11) 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：網羅的遺伝子発現解析によるインフルエンザワクチンの新しい安全性評価法開発の試み　第 10 回日本ワクチン学会総会 2006.10.21-22 大阪

12) 百瀬暖佳、今井順一、浜口　功、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、滝澤和也、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：百日せきワクチン投与に伴うラット肺での遺伝子発現解析　第10回日本ワクチン学会　2006.10.21-22 大阪

13)浜口　功、今井順一、百瀬暖佳、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光　球、滝沢和也、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：遺伝子発現解析を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み　第10回日本ワクチン学会学術集会　2006.10.21-22 大阪

14) 前山順一、小宮貴子、高橋元秀、山本三郎、後藤紀久：CpG-DNA である Oligo B 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 10 回日本ワクチン学会 2006.10.21-22 大阪

15) 種市麻衣子、石田英晃、梶野喜一、小笠原一誠、田中ゆり子、笠井道之、水口純一郎、内田哲也：リポソーム表面に化学結合された抗原は CD8 陽性 T 細胞に cross-present されて腫瘍免疫を誘導する　第 36 回日本免疫学会総会　2006.12.11-13 大阪

16) M. Kasai: Autophagy involves in the MHC class II-restricted presentation of thymic self -antigens. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会　2006.12.11-13 大阪

17) 前山順一、山本三郎、後藤紀久：The mucosal adjuvanticity of CpG-DNA on diphtheria toxoid and the Th1/Th2 balance　第 36 回日本免疫学会総会 2006.12.11-13 大阪

18) 小高千加子：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　第36回日本免疫学会総会　2006.12.11-13 大阪

19) Masumi A, Fukazawa H, Shimazu T, Yoshida Y, Yamaguchi K: Nucleolin is involved in IRF-2 dependent transcriptional activation　日本分子生物学会 2006.12.6-8 名古屋

20) 前山順一、井坂雅徳、山本三郎、後藤紀久：液性および粘膜免疫反応からみた CpG-DNA の粘膜アジュバント効果　第 80 回日本細菌学会総会　2007.3.26-28 大阪

21) 井坂雅徳、前山順一、松井秀之、立野一郎、長谷川忠男：劇症型 A 型連鎖球菌分離株の宿主免疫回避機構について　第 80 回日本細菌学会総会　2007.3.26-28 大阪

22) 益見厚子、濱口　功、倉光　球、水上拓郎、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について　第 127 回日本薬学会　2007.3.28-30 富山

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、そしてインド周辺国で流行中のチクングニヤなど、例にいとまがない。このような状況において、感染症対策のための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一層重要となっている。

国際協力室は、平成 9 年の設置後、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といった人的交流がその中心となる。外国人研修生の受け入れについては、平成 18 年 4 月から平成 19 年 3 月までに、75 カ国から 426 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 18 年 4 月から平成１9 年 3 月までに、43 カ国 387 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、関係国との国際シンポジウムの開催、新興・再興感染症の発生地域への緊急職員派遣等を行っており、その概要は以下の通りである。

１．アジア各国との感染症協力体制

(1)　平成 18 年 4 月 28 日　韓国疾病予防対策センター（韓国 CDC）と感染症協力に関する覚書を締結（韓国 CDC において）

(2)　平成 18 年 8 月 22 日　中華人民共和国疾病対策予防センター(中国 CDC)と感染症協力に関する覚書を締結（当所戸山庁舎において）

(3)　平成 19 年 3 月 16 日　柳沢厚生労働大臣とインドネシア共和国保健省スパリ大臣の同席の下、インドネシア共和国国立保健研究開発研究所（NIHRD）と包括的な感染症協力の推進について共同宣言を締結（厚生労働省大臣室において）

２．韓国におけるボツリヌス抗毒素供給緊急支援

(1)　平成 18 年 9 月　韓国国内において原因不明のボツリヌス疑い患者が発生、韓国からのボツリヌス抗毒素の提供依頼要請を受け、抗毒素運搬及び緊急的な治療のため、感染症情報センター職員を派遣

３．ベトナムにおける P3 ラボ運用と鳥インフルエンザウイルス等の BSL3 病原体診断のための技術協力

(1)　平成 18 年 4 月　鳥インフルエンザ対策及び人新型インフルエンザ準備対応に関する国家総合計画に対する評価調査団参加のためウイルス第三部職員をベトナムに派遣

(2)　平成 18 年 5 月　国立衛生疫学研究所(NIHE)高度安全性検査室整備計画基本設計概要説明調査参加のためバイオセーフティ管理室職員を派遣

(3)　平成 18 年 9-10 月　麻疹ワクチン・インフルエンザワクチン品質研修のため国立ワクチン生物薬剤研究所並びに NIHE より研修員受入(3 名)

(4)　平成 18 年 11 月・平成 19 年 1 月　ベトナム NIHE 能力強化計画に参加しバイオセーフティに関する指導を行うためバイオセーフティ管理室職員を派遣

(5)　平成 18 年 11 月　ベトナム NIHE においてバイオセキュリティシステムの調査を行うためバイオセーフティ管理室職員を派遣

(6)　平成 19 年 1-3 月　ウイルス学、バイオセーフティ技術研修のため NIHE から研修員受入(3 名)
(7)　平成 19 年 2 月　ベトナム NIHE において感染症アウトブレイク探知のサーベイランスに関する情報交換を行うため感染症情報センター職員を派遣
(8)　平成 19 年 3 月　ベトナム NIHE 関連スタッフに対する BSL-3 実験室の運用技術指導・助言等を行うためバイオセーフティ管理室職員を派遣

４．中華人民共和国におけるワクチン予防可能感染症対策支援
(1)　平成 18 年 12 月　中華人民共和国ワクチン予防可能感染症のサーベイランス及びコントロールプロジェクト運営指導調査団員として感染症情報センターー職員を派遣（疫学サーベイランス）
(2)　平成 19 年 3 月　中華人民共和国ワクチン予防可能感染症のサーベイランス及びコントロールプロジェクト短期派遣専門家としてウイルス第三部職員を派遣（麻疹実験室）

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及び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ミャンマー、カンボジアのラボ担当者を招聘し、「BSL3 レベル病原ウイルス等の診断技術習得のためのワークショップ」を実施(平成 19 年 2 月 24 日～3 月 18 日 3 名)。

６．セミナー開催
(1)　平成 18 年 8 月　中国 CDC 研究者の参加を得て、「日中感染症サーベイランス」セミナーを開催
(2)　平成 18 年 11 月　ベトナム国立感染症熱帯病医学研究所長等による「鳥インフルエンザ H5N1 の発生状況とその病態解明」セミナーを開催
(3)　平成 18 年 11 月　韓国 NIH 院長による「韓国 NIH の活動状況と今後の感染研との連携について」セミナーを開催
(4)　平成 18 年 12 月　ユニセフとの共催シンポジウムとして WHO 感染症対策部門長代理による「世界のポリオ根絶に向けて」を開催
(5)　平成 18 年 12 月　日本国内における狂犬病輸入症例の発生をうけて「狂犬病患者の発生を踏まえてー京都と横浜の発生事例からー」セミナーを開催
(6)　平成 19 年 1 月　ベトナム NIHE 所長による「NIHE 研究所について」セミナーを開催
(7)　平成 19 年 3 月　英国 NIBSC 細菌ワクチン部長による「欧州における生物学的製剤の管理状況と NIBSC の役割について」セミナーを開催

７．要人来訪
(1)　平成 18 年 7 月　Admiral John O. Agwunobi 米国保健・福祉省　保健担当次官補（ＷＨＯ執行理事）来所
　新型インフルエンザの取り組み及び感染症・バイオテロに対する危機管理について面談
(2)　平成 18 年 10 月　フランス保健省次官ディディエ・ウッサン氏来所
　鳥インフルエンザ、新型インフルエンザについて意見交換
(3)　平成 18 年 12 月　デビット・ヘイマン WHO 事務局長補代理来所
　ポリオ対策等について意見交換
(4)　平成18年12月　Mr. Andrzej Jan Rys
(Director, Public health and risk assessment、DG Health and Consumer Protection (SANCO)：保険・消費者保護総局）他4名来所
　日本の疾病（感染症）管理への取り組み方等について意見交換・Ｐ3 施設見学
(5)　平成 19 年 1 月　Dr. Douglas Holtzman
(Senior Program Officer, Infectious Diseases Global Health Program Bill & Melinda Gates Foundation)来所
　呼吸器感染症(含インフルエンザ）対策について意見交換

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 とまた地域協力では ASEAN+3 等に適宜専門家を派遣。

２．その他
　交流協会からの依頼に基づく台湾 CDC との国際シンポジウムの開催（平成 18 年 9 月、台北にて HIV を題材に）、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。

別表１　　国際協力室

平成１８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〔１８国〕		**オセアニア地域〔３国〕**	
インド	1	パプアニューギニア	4
インドネシア	21	フィジー	3
韓国	34	キリバス	1
カンボジア	14		
シンガポール	1		
スリランカ	4		
タイ	10	**北米地域〔１国〕**	
台湾	7	アメリカ合衆国	4
中国	142		
ネパール	2		
パキスタン	3		
バングラデシュ	7	**中南米地域〔１５国〕**	
フィリピン	15	アンティグア・バーブーダ	1
ベトナム	22	ウルグアイ	1
マレーシア	3	エルサルバドル	1
ミャンマー	14	キューバ	1
モンゴル	8	コロンビア	1
ラオス	10	スリナム	1
中東地域〔４国〕		セントルシア	1
アフガニスタン	2	チリ	1
イエメン	1	ドミニカ共和国	2
イラク	1	ハイチ	1
トルコ	1	パラグアイ	1
アフリカ地域〔２４国〕		ペルー	1
アルジェリア	1	ブラジル	2
ウガンダ	1	ホンジュラス	1
エジプト	2	メキシコ	1
エチオピア	2		
カメルーン	4		
ガーナ	4		
ギニア	1	**ヨーロッパ地域〔１０国〕**	
ケニア	6	アルバニア	1
コートジボワール	2	イギリス	2
ザンビア	1	イタリア	1
ジンバブエ	3	ウズベキスタン	1
スーダン	2	オーストリア	1
セネガル	1	キルギス	2
セイシェル	2	スイス	1
タンザニア	5	ドイツ	2
チャド	1	フランス	1
ナイジェリア	7	ポーランド	1
ニジェール	3		
ブルキナファソ	3		
ペナン	2		
ボツワナ	1		
マラウイ	4		
マリ	1	国　数　計	75
モザンビーク	2	人　数　計	426

国際協力室
平成１８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）
H18.4.1	～H19.3.31	中国	LIU JING CHAO	中国河南中医学院基礎医学部中西医合医学研究室助教授	エイズ研究グループ	HIV感染治療と病態に関する研究（中国河南中医学院）
H18.4.1	～H19.3.31	中国	LI WEI	中国河南中医学院病理学教室主任	エイズ研究グループ	HIV感染症と薬剤耐性に関する研究（中国河南中医学院）
H18.4.5		ベトナム	Dang Duc Anh	ﾍﾞﾄﾅﾑ国立衛生疫学研究所副所長	副所長 細菌第一部 細菌第二部 バイオセーフティ管理室 感染症情報センター	ベトナム国立衛生疫学研究所副所長（ベトナム国立衛生疫学研究所）
H18.4.5		中国	杜 昌智	安徽省衛生庁副庁長	感染病理部 バイオセーフティ管理室	中国安徽省衛生庁副所長他来訪（財団法人エイズ予防財団）
			陳 湄	安徽省衛生庁衛生監督処副処長		
			楊 志平	安徽省衛生庁衛生監督所所長		
			徐 世民	蕪湖市衛生局衛生監督所所長		
			邱 宏民	宿州市衛生局衛生監督所所長		
			呉 英	合肥市CDC副主任		
			李 成斌	馬鞍山市CDC主管医師		
			王 継平	宿州市CDC主任		
			王 学明	安慶市CDC主任		
			李 杭建	蚌埠市CDC主任		
			謝 勝雲	准北市CDC主任		
			呉 徳祥	六安市CDC主任		
			陳 可芳	銅陵市CDC副主任		
			程 周祥	蕪湖市CDC副主任		
			王 育紅	安徽省衛生庁JICAPHCﾌﾟﾛｼﾞｪｸﾄ事務局		
H18.4.6	～H19.3.28	中国	LING HUA	重慶市疾病予防控制中心病毒検験科	ウイルス第二部	日中笹川医学研究者制度第29期研究者Ｃ群エンテロウイルスの血清型に関する解析研究」（日中医学協会）
H18.4.6	～H19.3.31	中国	LI JIN	北京生物制品研究所乙肝疫苗室	ウイルス第二部	日中笹川医学研究者制度第15期特別研究者「肝炎ウイルスの複製増殖機構に関する研究」（日中医学協会）
H18.4.14		インドネシア	Erna Tresnaninhsih	National Institute of Health Research and Development,Ministry of Hearth	ウイルス第三部 バイオセーフティ管理室 免疫部	インドネシア保健省研究者来訪（インドネシア保健省）
			Ondri Dwi Sampurno	National Institute of Health Research and Development,Ministry of Hearth		
			Hendro Martono	National Institute of Health Research and Development,Ministry of Hearth		
H18.5.8	～H18.12.8	チャド	Hissein ABICHO	Microbiorogist(Thechnician Superior in Microbiology)/Bacteriological Department Laboratory,Laboratory Technician/General Hospital.National Reference	ハンセン病研究センター	平成１８年度JICA集団研修コース　「ハンセン病の治療及び予防の実践」（JICA）
		エルサルバドル	Karla Maria Auxiliadora MENA ACEVEDO	Internal Medicine Doctor(Physician)/Hospital Rosales National		
		ハイチ	JEANTY Marie Mona Islande	Resident in Training/Hospital State Unuversity of Haiti,Department of Dermatology		
		インドネシア	Iswahyudi	Lab researcher/Tropical Disease Center,Airlangga University		
H18.5.17		中国	秦 川	中国医学科学院実験動物研究所長	動物管理室 バイオセーフティ管理室	中国実験動物学会員施設見学（日本実験動物学会国際交流委員会）
			孫淑貨	中国医学科学院実験動物研究所副主任技師		
			魏 強	中国医学科学院実験動物研究所研究員		
			邢若斉	中国医学科学院科研処所長		
			戸 菁	中国医学科学院研究生院研究生招生処長		
			周 宁	安徽省医学科学研究所科長		
			薗振文	首都医科大学実験動物科学部教授		
			唐利窄	湖北省疾病予防控制中心副所長		
			范薇	医学実験動物研究所　副研究員		
			謝夏阳	上海詞斯菜克実験動物有限公司助理研究員		
			王建国	内蒙古大学生命科学学院実験動物研究中心		
			賀争鳴	中国葯品生物制品検定所主任研究員		
			李 飛	深圳市葯品検験所主任		
			刘年双	江蘇省葯品検験所副主任		
			肖杭	南京医科大学主任教授		
			楊偉敏	上海交通大学医学院実験動物科学部副主任		

国際協力室
平成１８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）
			邵永利	山東省実験動物中心副主任研究員		
			呂建敏	浙江中医学院動物実験研究中心副研究員		
			王徳牢	浙江中医学院動物実験研究中心助理研究員		
			高駿	上海科学院実験動物研究所処長		
			楊志偉	中国医科学院実験動物研究所処長		
			江　霞	深圳市薬品検験所副主任薬師		
			鄔暁鴎	深圳市薬品検験所主任薬師		
			趙宏旭	中国医学科学院実験動物研究所主管技師		
H18.5.18		アフガニスタン	HAMIDA ALAM	ﾏｻﾞﾘ市民病院小児科医	感染症情報センター	JICA集団研修平成１８年度「保健衛生管理セミナー」（国立保健医療科学院）
		インドネシア	BENNY CAHYANTO	ｸﾊﾞﾋｱﾝ県経済社会福祉部長		
			N.NURLINA SUPARTINI	保健省計画予算局国際協力部職員		
			FONDHA HERAWATI	呼吸器疾患ｾﾝﾀｰ保健士（結核専門）		
		ウズベキスタン	TAGIROV CHINGIZ IRIKINOVICH	ﾀｼｹﾝﾄ卒後医学教育院講師		
		ガーナ	SAMUEL A.BOATENG	保健省地上自治体保健部薬剤師		
		カンボジア	PHEAK DARA CHAU	国立保健研究所技術支援部ｽﾀｯﾌ		
			UY SOPHAT	人事院保健担当官		
			BUN MAO	生殖・児童健康同盟HIV・性感染症課ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ担当職員		
			KHIEU KIMLEE	CAREｶﾝﾎﾞｼﾞｱ、ｶﾝﾎﾞｼﾞｱCAREｲﾝﾀｰﾅｼｮﾅﾙﾎﾞﾝﾄﾛｯｸ・ﾄｩﾒｲ・ﾌﾟﾛｼﾞｪｸﾄﾍﾙｽ・ｼｽﾃﾑ・ﾏﾈｰｼﾞｬｰ		
		キルギス	SHIMAROVA MEMERIAN SULAIMANOVNA	健康保険基金主任専門員		
			BOZGUNCHIEV MARATBEK	CAR健康情報ｾﾝﾀｰ長		
		ケニア	ESTHER ANNA ARTHROGARA	保健省保健情報管理ｼｽﾃﾑ部長		
		スリランカ	M.D.S.RAJAMANTHREI	北西州保険局次長		
		タイ	PETJU MAYTHINEE	ﾊﾞﾝｸﾞﾝｶﾞ州保健事務局歯科主任		
			PALANUWONG BUNCHA	保健省関連ﾌﾞﾝｶﾝ病院病院長		
		タンザニア	FAKI HAJI FAKI	保健福祉省予防保健部行政官		
			ALI OMAR ALI	保健福祉省病院管理担当官		
		中国	LIANGYONG LU	医学学士ｺﾝﾋﾟｭｰﾀﾈｯﾄﾜｰｸｴﾝｼﾞﾆｱ（北海）		
			LI TAIRAN	保健省保健法施行監視課課長補佐		
			TIAN XIANQING	日中友好病院医事課課長代理		
		日本	大澤　絵里	看護師		
			樫葉　由美子			
			中窪　優子	看護師・助産師		
		ﾊﾟﾌﾟｱﾆｭｰｷﾞﾆｱ	TARUA DALE FRANK	ｺﾞﾛｶｾﾝﾀｰ病院小児科		
		バングラデシュ	RIAZ BAIZID KHOORSHID	保健家族福祉省感染症病院医師・医療技官		
			KHALEQUZZAMAN	保健省所属ｼｪﾙ・ｲｰ・ﾊﾞﾝｸﾞﾗ医科大学微生物学部講師		
		ベトナム	NGUYEN TRI DUNG	保健省ﾎｰﾁﾐﾝ市保険局公衆衛生専門官		
		ミャンマー	NYI NYI LATT	保健省国際保健課対外関係担当		
		モンゴル	DANGAA BAIGALMAA	保健省行政管理部部長補佐		
			SHIBEE ENKHTSETSEG	保健省公衆衛生担当官公衆衛生全国委員会秘書		
			ERUDENETUYA SUKHEE	保健省行政管理部人事・医療・倫理担当者		
			NANSALMAA BAZARRAGCHAA	保健省ﾍﾙｽｾｸﾀｰ戦略計画ｺｱｸﾞﾙｰﾌﾟﾍﾟﾝﾊﾞｰ		
		ラオス	BOUALA PHOMMACHACK	保健省ﾁｬﾑﾊﾟｻｸ県保健部食品医薬品課次長		
			SIMANOVONG BOUATHONG	国立ｴｲｽﾞｾﾝﾀｰ国立ｴｲｽﾞｺﾝﾄﾛｰﾙ委員会企画部技術ｽﾀｯﾌ		

国際協力室
平成１８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）
H18.5.29	～H18.5.30	中国	Qin Ying	中国医科大学動物実験ｾﾝﾀｰ主管技師	動物管理室	中国医科大学実験動物センター技師および講師の実験動物微生物モニタリング技術研修（慶應義塾大学）
			Yang Wei	中国医科大学動物実験ｾﾝﾀｰ講師		
H18.6.12	～H18.7.14	エチオピア	SHUNKA Muhe Bilal	Senior Medical Laboratory,St.Paul's General Specialized Hospital	エイズ研究センター	JICA集団研修第４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」（JICA）
		ケニヤ	Boru Hapicha BILALA	Medical Laboratry Technologist,Isiolo District Hospital		
		ジンバブエ	Baramhanya Gibson HLEREMA	Senior Scientific Technician,National institute of Health Research,Blair Research Laboratories		
		セイシェル	Linette Fagiana MUSSARD	Senior Laboratory Thechnician,Ministry of Health Victoria Hospital		
		パプアニューギニア	Joseph Hohick SO-ON	Medical Laboratry Technician,Pathology Department,Angau Memorial General		
		フィジー	Mereani LEWARAVU	Medical Lab Technologist,Ministry of Health		
		フィリピン	Marco Reza Javier HERNANDO	Medical Technologist,National Reference Laboratory for HIV/AIDS and Hepatitis and other Blood-borne STIs.,STD/AIDS Cooperative Central Lab.Department of Health		
		マラウイ	Amos Levi MAENJE	Chief Laboratory Technician,Mangochi District Hospital		
		ミャンマー	THAR Yar Htwe	Medical Technologist,Virology Section.National Health Laboratory		
		モザンビーク	Tufaria Nazimo Ibrahimo Mussa	Scientist Department of Immunology,National Institute of Health		
H18.6.21		アフガニスタン	HAMIDA ALAM	ﾏｻﾞﾘ市民病院小児科医	ハンセン病研究センター	平成１８年度JICA保健衛生管理セミナー（国立保健医療科学院）
		インドネシア	BENNY CHAYANTO	ｸﾊﾞﾋｱﾝ県経済・社会福祉部長		
			N.NURLINA SUPARTINI	保健省計画予算局国際協力部員		
			FONDHA HERAWATI	呼吸器疾患ｾﾝﾀｰ保健士（結核専門）		
		ガーナ	SAMUEL A.BOATENG	保健省地上自治体保健部薬剤師		
		カンボジア	PHEAK DARA CHAU	国立保健研究所技術支援部ｽﾀｯﾌ		
		ケニア	ESTHER ANNA ARTHROGARA	保健省保健情報管理ｼｽﾃﾑ部長		
		スリランカ	M.D.S.RAJAMANTHREI	北西州保険局次長		
		タンザニア	FAKI HAJI FAKI	保健福祉省予防保健部行政官		
			ALI OMAR ALI	保健福祉省病院管理担当官		
		中国	LIANGYONG LU	医学学士ｺﾝﾋﾟｭｰﾀﾈｯﾄﾜｰｸｴﾝｼﾞﾆｱ（北海）		
		日本	大澤　絵里	看護師		
		日本	樫葉　由美子			
		日本	中窪　優子	看護師・助産師		
		パプアニューギニア	TARUA DALE FRANK	ｺﾞﾛｶｾﾝﾀｰ病院小児科		
		ベトナム	NGUYEN TRI DUNG	保健省ﾎｰﾁﾐﾝ市保険局公衆衛生専門官		
		モンゴル	ERUDENETUYA SUKHEE	保健省行政管理部人事・医療・倫理担当者		
			NANSALMAA BAZARRAGCHAA	保健省ﾍﾙｽｾｸﾀｰ戦略計画ｺｱｸﾞﾙｰﾌﾟﾒﾝﾊﾞｰ		
		ラオス	BOUALA PHOMMACHACK	保健省ﾁｬﾑﾊﾞｻｸ県保健部食品医薬品課次長		
H18.6.28		中国	WANG ZIJUN	中国疾病預防控制中心疾控応急辦公室副処長	感染症情報センター バイオセーフティ管理室	中国衛生部日本視察団来訪（社団法人日中協会）
			ZHANG LIUBO	中国疾病預防控制中心環境与健康相関産品安全所室主任		
			CHEN HONGYI	中国衛生部人才交流服務中心副処長		
			WANG HUI	中国衛生部規劃財務司科員		
			MENG LI	中国衛生部医政司科員		
			YANG BO	中国衛生部衛生応急辦公室科員		
			LI NAN	中国衛生部外貨款辦公室専案官員		
			JIAO YANG	中国衛生部外貨款辦公室財務官員		
			ZHAO MINGWU	北京大学第三医院教授		
			LI LIUYI	北京大学第一医院科主任		

国際協力室
平成１８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）
H18.7.3		アルジェリア	BENBERNOU Leila	保健省EPIﾏﾈｰｼﾞｬｰ	ウイルス第二部	JICA集団研修「第３回ワクチン予防可能疾患の疫学及び対策セミナー」（財団法人国際保健医療交流ｾﾝﾀｰ）
		インドネシア	KENKONO Dimar	保健省免疫局EPI職員		
		キューバ	RAIZA Marlines Casanuewa	医療専門官		
		ケニヤ	NDEAWA Peter Muriuki	保健省病理学者		
		ナイジェリア	NUHU Adamu	国家免疫計画、ﾓﾆﾀﾘﾝｸﾞ評価・調査部長		
		パキスタン	Afridi Shams ur Rehman	保健省予防接種拡大計画部副部長		
			ABBASI Muhammad Sabir Khan	保健省地方ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ・ﾏﾈｰｼﾞｬｰ		
		バングラディシュ	BARI Tajui Islam Abdul	保健・世帯福祉省保健ｻｰﾋﾞｽ局、予防接種拡大計画（EPI）本部医官		
H18.7.3		カンボジア	KOL Hero	Ministry of Health	感染症情報センター バイオセーフティ管理室	平成１８年度地域別研修「生物テロの事前対処及び危機管理セミナー」ASEAN、中国、韓国の生物テロ対策担当官来所（JICA）
			MOUNG So Thea	Ministry of Interior		
			THONG Viro	Chief of Port Security Guard, Port Authority of Sihanoukville		
			OR Sophanary	Chief of Port Health Center, Port Authority of Sihanoukville		
		中国	WANG Qian	Ministry of Foreign Affairs		
			MU Jianfeng	Ministry of Foreign Affairs		
		インドネシア	SIMANJUNTAK Maruli Charles Conrad	Indonesia National Police		
			IRAWAN Bambang Supriyanto	Coordinating Ministry of Politics, Law and Security		
			TIANGON Carolina	Ministry of Foreign Affairs		
			ROCHMAN ARIF	Ministry of Health, Crisis Center		
		Southeast Asia Regional Center for Countre Terrorism	YEAN Yoke Heng	Ministry of Foreign Affairs		
			ZULKIFLI Bin Hj. Alias	Ministry of Foreign Affairs		
		フィリピン	FLORES Ferdinand Pantas	Technical Assistant, Presidential Situation Room, Office of the Executive Secretary		
			CORSINO Macarfhur Flores	Executive Director, United Nations and Other International Organizations, Department of Foreign Affairs		
			MAKALINAO Irma Reyes	University of Philippines,Professor, Department of Pharmacology and Toxicology		
			EMBANG JR Jose Segundo	Chief, Special Rescue Unit, Bureau of Five Protection ,Department of Interior and local government		
		ベトナム	DO Hong Cam	Ministry of Public Security		
			PHAM Van Ha	Ministry of Public Security		
			DO Tien Thuy	Ministry of Public Security		
			TRAN Duy Phuc	Counter Terrorism Division, Hanoi Police Department		
		ミャンマー	Pol. Brig. Gen. Myint Thein	Ministry of Home Affairs		
			Pol. Maj. Tin Maung Shin	Ministry of Home Affairs		
			Moe Moe Win	Ministry of Health		
			Su Le Htay	Ministry of Health		
		タイ	THEPAROONRAT Supannee	Scientist7, Biological Science Program, Department of Science Service		
			Kingnate Darika	Ministry of Public Health		
		ラオス	VONGPHOM Sivilay	Ministry of Public Security		
			MIDAPHONE Khaysy	Ministry of Public Security		
			SODOUANGDENH Bounpheng	Ministry of Public Health		
			DETLEUXAY Khamsay	Specialist in Anesthesia, Intensive Care Unit of the Adult, Mahosot Hospital		

国際協力室
平成１８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）
H18.8.1	～H18.8.2	アンティグア・バーブーダ	Maria Cecilia Pereira	保健省医療技官	血液・安全性研究部	JICA発展途上国医師のための集団研修コース第４回「AIDS/ATLの疫学及び対策セミナー」（国立病院機構熊本医療ｾﾝﾀｰ）
		コートジボワール	Elloh Kadjo Severin	AIDS対策省監視評価担当次長		
		コロンビア	Diaz Luis Angel Moreno	社会保護省HIV/AIDS顧問		
		スリナム	Beatrix Marjolein Jubithana	公衆衛生局疫学部局員		
		セントルシア	Ingrid Cox	保健省ﾋﾞｸﾄﾘｱ病院上級研修医		
		ブラジル	Andorea Sayaka Masada	ｻﾝﾊﾟｳﾛ老人病ｾﾝﾀｰ老人皮膚科医		
		ブルキナファソ	Bila Apolline Sanou Koshinga	保健省ﾋﾞｯｼｪ衛生地区ｻｰﾏﾝﾃﾞ医療ｾﾝﾀｰ長		
		ホンジュラス	Cesar Augusto Caballero Martinez	ｴｽｸｴﾗ病院内科・外科医		
		マラウイ	Sera Munthali	保健省ﾘﾛﾝｸﾞｳｴ地区衛生局医療技官		
			Lawrence Malizani David Chiwaula	ｶﾑｽﾞ中央病院医療事務局長		
H18.8.1	～H18.8.10	台湾	Yafen Cheng	台湾CDC	感染症情報センター	感染症サーベイランスシステムの研修（台湾CDC）
H18.8.9		ニジェール	HINSA Ide	保健省予防接種局ﾃﾞｰﾀ管理局	ウイルス第二部	JICA地域別研修「ワクチン予防可能疾患の疫学及び対策セミナー」（財団法人国際保健医療交流ｾﾝﾀｰ）
		ブルキナファソ	GANSONRE Mady	保健省東部保健衛生地区GAYERI地区保健局医長		
		ベナン	GANSE Celestin	保健省国立予防接種拡大計画局ﾌﾟﾗｲﾏﾘｰﾍﾙｽ部長		
		マリ	KIMISSOKO Mady	保健省保健局疾病予防対策部予防接種課医官		
H18.8.9	～H18.8.31	台湾	Jenn-Tyang,Chang	国立Cheng-Kung大学医学部医師	免疫部	結核免疫の研究（台湾CDC）
H18.8.22		中国	Yang Weizhong Feng Lin Li Dexin Kan Biao Li Li Jin Lianmei Shi Xiaoming	中国CDC副主任 中国CDC国際合作処副処長 中国CDC国立ｳｲﾙｽ病予防控制所処長 中国CDC国立伝染病予防控制所博士 中国CDC予防接種ｾﾝﾀｰ第一疫学室博士 中国CDC疾病控制応急処理弁公室医師 中国CDC国立公衆衛生監測・情報ｻｰﾋﾞｽｾﾝﾀｰ感染症ｻｰﾍﾞｲﾗﾝｽ室博士	所長 副所長 企画調整主幹 ハンセン病研究センター 感染症情報センター エイズ研究センター ウイルス第二部 ウイルス第三部 細菌第一部	協力覚書締結及び共同セミナー開催（中国CDC）
H18.8.30		カメルーン	BAKANG MBOCK Catherine Loise Marinette	社会問題担当大臣	企画調整主幹 エイズ研究センター 感染症情報センター	JICA
H18.9.7		ナイジェリア	Wenda Grace Ashiver	保健省ﾍﾞﾇｴ州ﾏｸﾙﾃﾞｨｲ本部AIDSﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑｺｰﾃﾞｨﾈｰﾀ	エイズ研究センター	JICA国別研修ナイジェリアHIV感染予防対策Ⅱコース（北海道大学）
			Aguguo Vitalis Okwudiri	国立輸血ｻｰﾋﾞｽ　主任臨床検査技師		
			Yola Mariya Mukhtar	ｶﾉ州ﾊﾞｲｪﾛ大学ｱﾐﾇｶﾉ教育病院上級小児科医		
			Arowolo Tolu Mojisola	保健省ﾗｺﾞｽ州HIV/AIDSﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑｺｰﾃﾞｨﾈｰﾀ		
			Shokunbi Wuragola Adebola	ｲﾊﾞﾀﾞﾝ大学病院血液病専門医・教授		
			Adedeji Adebayo Abel	連邦保健省国家ｴｲｽﾞ・性感染症防止事業主任科学技官		
H18.9.8		エジプト	GAD EL MOULA Mostafa Mohamed Ragheb	ｽｴｽﾞ運河大学医学部内科風土病及び感染症ユニット部門長・教授	血液安全性研究部 ウイルス第二部	平成18年第４回「肝炎の疫学とその予防 治療対策セミナー」（国立病院機構熊本医療ｾﾝﾀｰ）
			EL Raziky Mona El Said Hassan	ｶｲﾛ大学医学部小児科助教授		
		カメルーン	MWAGUIA Woguia Joelle Paulette	大学病院ｾﾝﾀｰ医師		
		キリバス	TERIBORIKI Burentau	保健・医療省医官、小児科ｺﾝｻﾙﾀﾝﾄ		
		ケニア	OWUOR Fredrick Otieno	保健省Makadaraﾍﾙｽｾﾝﾀｰ地方医官		
		コートジボワール	ALLAH-KOUADIO Emile	医療科学研究		
		スリランカ	WIJESINGHE Wijesinghe Mudiyanselage	保健省中央地区保健ｻｰﾋﾞｽ副局長室地方疫学者		
		中国	SHEN Qiang	寧波市感染症病院医師		
		ネパール	SIGDEL Deepak	Koshi Zonal病院上級医官		
		フィジー	SOWANI Setareki Fine	保健省Lakeba病院上級ｻﾌﾞﾃﾞｨﾋﾞｼﾞｮﾝ医官		
		ブルキナファソ	SONBIE Arsene Roger	中央Quagadougou大学病院消化器科医師		

国際協力室
平成１８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）
H18.9.11	～H18.9.15	台湾	Chen-dow Lee Cheng-peng Chang Shu-Ching Fu	衛生署疾病管制局科長 衛生署疾病管制局研究助手 保健省医薬食品局研究助手	ウイルス第三部	インフルエンザワクチン品質管理研修 （台湾CDC、台湾保健省）
H18.9.16	～H18.10.21	ベトナム	PHAM VAN CA	Head of QC on Vial Vaccine Department,National Institute of Control on Vaccines and Biologicals	ウイルス第三部	麻疹ワクチン・インフルエンザワクチン品質管理研修 （ベトナム国立ワクチン生物薬剤研究所）
			VU THI BACH TUYET	Staff of QC on VIAL Vaccines Department,National Institute of Control on Vaccines and Biologicals		
H18.9.16	～H18.10.21	ベトナム	TRINH TUAN VIET	Resercher,Company for Vaccine and Biological Production No1,National Institute of Hygiene and Epidemiology	ウイルス第三部	インフルエンザワクチン品質管理研修 （ベトナム国立衛生疫学研究所）
H18.9.19		韓国	KWON Jun-wook	Director of Comm Dis Surveillance Dept,Korea Centers for Disease Control and Prevention	所長 副所長	KCDC他韓国研究者来訪 （韓国CDC）
			Yoo Hyo-soon	Research Scientist,Dept.of Investigation and Surveillance	企画調整主幹	
			Jun Yong Choi	Fulltime Lecture,Division of Infectious Diseases,Dept.of Internal Medicine	感染症情報ｾﾝﾀｰ	
			Byung-Chul Chun	Assistant Professor,Department of Preventive Medicine,College of Medicine	バイオセーフティ管理室	
H18.10.2	～H8.10.25	ベトナム	Nguyen Thi Thuong	ﾍﾞﾄﾅﾑ国疫学衛生研究所（NIHE)研究者	ウイルス第一部	「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」の共同研究 （長崎大学熱帯医学研究所）
H18.10.12		インドネシア	Natalia Santi	Sinar Harapan紙	ウイルス第三部	外務省報道関係者招聘プログラム「地球的規模の課題」参加記者来訪 （外務省）
		韓国	LEE YONGSOO	朝鮮日報		
		シンガポール	Lee Yuet Har	連合早報紙		
		タイ	Kanya Sukpanich	Bangkok Post紙		
		中国	Wu Qi	三聯生活周刊		
			Huang LIN	瞭望東方周刊		
		中国(香港)	Wong Yee	明報紙		
		ﾌｨﾘﾋﾟﾝ	Tito John Amano	Philippine Daily Inquirer		
		ベトナム	Nguyen Ham Bao Truc	ｻｲｺﾞﾝ解放紙		
		マレーシア	Tuan Nazuri TUAN	ﾌﾟﾘﾀ・ﾊﾘｱﾝ紙		
H18.10.13		インドネシア	Hananto Miko	保健省自然環境保健研究開発ｾﾝﾀｰ研究員	感染症情報センター	平成18年度JICA衛生環境分析技術者Ⅱコース研修 （沖縄県衛生環境研究所）
		ジンバブエ	Catherine Dombo	保健児童福祉省国立分析研究室上級分析化学者		
		セイシェル	Alex Barney Inande	ｾｲｼｪﾙ公衆衛生研究所細菌学研究部分析技術者		
		タンザニア	Said Hamad Ramadhan	厚生省国立化学研究所研究室分析技術者		
		ボツワナ	Kealotswe Oabile	保健省環境衛生部保健担当官		
H18.10.16		フランス	ディディエ・ウッサン	ﾌﾗﾝｽ保健省事務次官	所長 副所長 感染症情報ｾﾝﾀｰ ウイルス第三部	鳥インフルエンザ、新型インフルエンザについて意見交換 （産経新聞社事業部）
H18.10.23		中国	Hu Feiyue	中国医科学院・中国CDC	所長 副所長 企画調整主幹	中国医科学院
H18.10.30		インドネシア	Victoria Indrawati	感染症対策・環境保健局ｴｲｽﾞ・性感染症部門ｽﾀｯﾌ		アジア地域エイズ専門家研修 （財団法人エイズ予防財団）
			Amelia Vanda Siagian	保健省結核ｴｲｽﾞ協力及び小児結核部ｺｰﾃﾞｨﾈｰﾀ/国家結核対策ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑｽﾀｯﾌ		
		韓国	Ji Young Hwang	韓国疾病予防対策ｾﾝﾀｰ上級研究員		
		カンボジア	Sou Sanith	保健省バッタンバンﾊﾞｯﾀﾝﾊﾞﾝ郡ｴｲｽﾞ在宅ｹｱﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑｺｰﾃﾞｨﾈｰﾀ		
		スリランカ	Wijesekara Mudiyanselage Amarasuriya	性感染症・ｴｲｽﾞ対策ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ医務官	感染症情報センター	
		タイ	Pradabporn Duangajna	ﾁｮﾝﾌﾞﾘ県疾病予防対策ｵﾌｨｽ調査官	エイズ研究センター	
			BoonCherd Kladphuang	保健省疾病対策課ｴｲｽﾞ・結核・性感染症部門公衆衛生技官	バイオセーフティ管理室	
		中国	Wang Cui	ﾘｱｵﾆﾝ疾病予防ｺﾝﾄﾛｰﾙｾﾝﾀｰ副所長	感染病理部	
			Zhu Xinpeng	河南省保健局疾病予防対策ｾﾝﾀｰ医師		

国際協力室
平成１８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）
		ネパール	Mahesh Prasad Khanal	国立結核ｾﾝﾀｰ上級医務官		
		バングラディシュ	Monjur Rahman	国家結核対策ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ医務官		
			Mozammel Hoque	国家ｴｲｽﾞ・性感染症ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ副ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑﾏﾈｰｼﾞｬｰ		
		フィリピン	Garfin Anna Marie Celina Gonzalez	国立疾病予防対策ｾﾝﾀｰ医務官		
			Atienza Joel Deleon	国立疾病予防対策　国家ｴｲｽﾞ・性感染症予防対策ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑｺｰﾃﾞｨﾈｰﾀ		
		ベトナム	Nguyen Bich Ngoc	国家結核対策ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ国立結核・肺疾患病院　医師		
		マレーシア	Ismawati Binti Ismail	保健省結核・ﾊﾝｾﾝ病ｾﾝﾀｰ副所長		
		モンゴル	Naranbat Nyamdavaa	保健省国立感染症ｾﾝﾀｰ結核部門主任		
		ラオス	Kestsaphne Nhativong	感染症対策室　郡ｴｲｽﾞ対策委員会主任		
H18.10.30		中国	馬永華	南京自然医学会会長・南京中医薬大学教授	感染症情報センター	薬膳と食生活国際学術シンポジウム参加者による日本の感染症サーベイランス研修（日本本草薬膳学院）
			陳徳華	南京中医薬大学教授		
			常　熹	南京自然医学会　秘書長		
			龐　浩	南京市衛生局市疾病控制処処長　南京予防医学会秘書長		
			李解権	南京市疾病控制ｾﾝﾀｰ主任・主任医師		
			劉澤忠	南京市浦口区衛生局　副局長		
			楊庭洲	南京市浦口区疾病控制ｾﾝﾀｰ主任・主管医師		
			程年根	南京市溧水区疾病控制ｾﾝﾀｰ主任・主管医師		
			邵林寧	南京市秦淮区疾病控制ｾﾝﾀｰ		
			汪林傑	南京市下関区疾病控制ｾﾝﾀｰ主管医師		
			王世宇	南京市玄武区疾病控制ｾﾝﾀｰ副主任医師		
			洪　斌	南京市六合区疾病控制ｾﾝﾀｰ主任・主管医師		
			劉　寧	南京市栖霞区疾病控制ｾﾝﾀｰ主任・主管医師		
			廖小秋	南京市白下区疾病控制ｾﾝﾀｰ主管医師		
			湯愛紅	南京市江寧区疾病控制ｾﾝﾀｰ主管医師		
			王義忠	南京市江寧区疾病控制ｾﾝﾀｰ主管医師		
			方建平	南京市予防医学会事務室主任・主管医師		
			史澤民	江蘇省高淳県疾病控制ｾﾝﾀｰ主任・主管医師		
			倪　正	江蘇省中西医結合医院主任医師		
			童正華	南京自然医学解副会長		
			李明吾	南京中西医結合学会　副理事長・南京中西医結合医院　主任医師		
			蔡　榕	南京中西結合学会秘書長・中西医結合医院主任医師		
			魏睦新	江蘇省人民医院教授		
			劉永年	南京市中医院主任医師		
			葉　平	南京市江寧区中医院副主任医師		
H18.11.2		中国	謝　貴林	蘭州生物制品研究所所長	所長	中国蘭州生物制品研究所所長他来訪（中国蘭州生物制品研究所）
			王　玉琳	蘭州生物制品研究所副所長	企画調整主幹	
			張　新創	蘭州生物制品研究所動物室副室長	感染症情報センター	
			陳　平紆	蘭州生物制品研究所科学技術管理部副部長	細菌第二部	
					ウイルス第二部	
					ウイルス第一部	
					ウイルス第三部	
					バイオセーフティ管理室	
H18.11.8	～H18.11.9	ベトナム	De Le Van.Phung	National Institutue for Control of Vaccine and Biologicals, VIETNAM 所長	所長	ベトナム国立ワクチン生物製品管理研究センター所長来訪（ベトナム国立ワクチン生物製品管理研究ｾﾝﾀｰ）
					副所長	
					企画調整主幹	
					細菌第二部	
					ウイルス第二部	
					ウイルス第三部	
					動物管理室	

国際協力室
平成１８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）
H18.11.12	～H18.11.25	台湾	Chan-wen Chi	Chief,Animal manegement Center of BFDA	細菌第二部	予防接種後副反応調査システム並びにワクチン市販後調査システム等研修 （台湾BFDA;The Bureau of Food and Drug Analysis）
H18.11.14		アルバニア	Merita Kucyuku	公衆衛生研究所分析官	細菌第二部 動物管理室	平成１８年度JICAワクチン品質管理技術 （阪大微生物病研究会観音寺研究所）
		中国	Yin Dapeng	中国疾病予防抑制ｾﾝﾀｰ国立免疫ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ助教授		
		ドミニカ共和国	Mayra Fredesvinda Canario Cespedes	保健省予防接種拡大計画部ｺｰﾙﾄﾞﾁｪｰﾝｺｰﾃﾞｨﾈｰﾀ		
		パキスタン	Muhammad Nadeem Asghar	ｲｽﾗﾏﾊﾞｰﾄﾞ国立衛生研究所品質管理研究所　化学部門医療技術者		
		ブラジル	Adriano Alves Ferreira	ﾌﾞﾀﾝﾀﾝ研究所生物工学研究者		
H18.11.16		ベトナム	Nguyen Duc Hien	Director-General,National institute of Infectious and Tropical Diseases,Hanoi National Institute of Health	所長 企画調整主幹 生物活性物質部 ウイルス第三部 感染症情報センター	ベトナム国立感染症熱帯医学研究所所長来訪及び感染研セミナー「鳥インフルエンザＨ５Ｎ１の発生状況とその病態解明にて講演 （ベトナム国立感染症熱帯医学研究所）
H18.11.20		韓国	Hyeng-Il Cheun	韓国保健研究院保健研究士	寄生動物部 バイオセーフティ管理室	韓国寄生虫関係研究者来所、施設見学等 （韓国疾病管理本部国立保健研究院）
			Je-Wan Lee	韓国保健研究院保健主事		
			Ki-Yeon Lee	韓国保健研究院技術研究員		
			Won-Hong Park	Naju-Si保健所保健衛生課長		
			Su-Gap Kim	Gimhae保健所保健衛生課長		
			Mi-Son Park	Gwangyang-Si保健所検査業務担当		
			Sang-Ha Woo	Sangju-si保健所保健主事補		
			Youn-Sim Lee	Muan-Gun保健所予防医薬担当		
			Eun-Jueng Hwang	Muan-Gun保健所予防医薬担当		
			In-Hwa Park	Goksong-Gun保健所予防医薬担当		
			Doo-Sub Lee	Yeongam-Gun保健所予防医薬担当		
			Jeong-Hwa Hong	Sanchong-Gun医療院予防医薬担当		
			Heung-Ai Lee	Hadong-Gun保健所予防医薬担当		
			Yang-Soon Lee	Imsil-Gun医療院予防医薬担当		
			Kwang-Duk Oh	Imsil-Gun医療院保健行政担当		
			Sun-Ho Jeong	Jollanam-Do保健環境研究院研究支援担当官		
			Gyeong-Chull Choi	Jollanam-Do保健環境研究院保健研究士		
			Doo-Young Jeon	Jollanam-Do保健環境研究院保健研究士		
			Hyeon-Je Song	Jollanam-Do保健環境保健研究士		
			So-Youn Lee	Geongki-Do保健環境研究院保健研究士		
			Myong-Gee Park	Geongki-Do保健環境研究院保健研究士		
H18.11.24		韓国	Haewol Cho	韓国NIH（National Institute of Health）院長	所長 企画調整主幹 ウイルス第一部 感染症情報センター	韓国NIH院長来訪及び感染研セミナーにて講演 （韓国NIH）
H18.11.28	～H19.12.8	台湾	Ho-shin Lee	assistant investigator,Laboratory animal management,Taiwan CDC	バイオセーフティ管理室 動物管理室 ウイルス第三部	実験動物並びにバイオセーフティ管理研修 （台湾CDC）
H18.11.30	～H20.11.23	バングラディシュ	Md Zahidunnabi Dewan	Research Resident,AIDS Researcher Center,National Institute of Infectious Diseases	エイズ研究センター	平成１８年度日本学術振興会外国人特別研究員「種々の癌とウイルス感染症に対する活性化免疫細胞治療法の確立」の研究 （日本学術振興会）
H18.12.2	～H18.12.29	ベトナム	Nguyen Thi Thanh Thao	Reseacher,Pasteur Onstitute of Ho Chi Minh City	ウイルス第二部	「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」研究 （長崎大学熱帯医学研究所）
H18.12.6	～H18.12.18	ドイツ	Jügen H.Helbig	Institute Medical Microbiology and Hygiene,TU Dresden,Germany	細菌第一部	ドイツInstitute Medical Microbiology and Hygiene,TU Dresdenからの研究者来訪 （日本公衆衛生協会）
H18.12.6		米国	David Heymaan	WHO事務局長補代理ポリオ・新型インフルエンザ対策特別代表	所長 副所長 企画調整主幹 ウイルス第三部 感染症情報センター	表敬及び感染研・ユニセフ共催セミナー「世界のポリオ根絶について」講演 （WHO）

国際協力室
平成１８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）
H18.12.7		ミャンマー	SAW Lwin NI Ni Aye THAN Win	Director(Disease Control), Department of Health,Naypyitaw Malariologist,Divisional V.B.D.C,Divisional Health Department,Myeik Team Leader(HIV/AIDS),Mandalay AIDS/STD Team,Mandalay General Hospital	エイズ研究センター 感染症情報センター	JICAミャンマー主要感染症対策プロジェクト「HIV/AIDS対策プロジェクト管理」研修（JICA）
H18.12.8		ポーランド	Andrzej Jan RYS	Director,European Commission Public Health and Risk Assessment Directorate General SANCO	所長　副所長	欧州連合（EU)本部感染症担当部長他来所、表敬・施設見学・意見交換（欧州連合駐日欧州委員会代表部）
		ドイツ	Stefan SCHIRECK	Dupty Head of Unit,European Commission Health and Consumer Protection Directorate Genelal Health Threats	企画調整主幹	
		オーストリア	Albrcht WERNER	European Commission,Policy Officer	感染症情報センター	
		イタリア	パオロ・カリディ	欧州連合駐日欧州委員会代表部　通商部一等書記官	バイオセーフティ管理室	
		日本	Mutumi KANAZAWA	欧州連合駐日欧州委員会代表部　通商部調査役	ウイルス第三部	
H18.12.8		ギニア	Lamine BANGOURA	Consultant and Public Relations,Leprosy Center of Dubreka	免疫部	長崎大学熱帯医学研究所JICA研修員来訪、「日本の感染症の現状と対策に関する研修」（長崎大学熱帯医学研究所）
		モザンビーク	Olga Maria ｄa Conceicao Nelson AMIEL	Medical Doctor Health Community Department,MOH Mozambique	感染症情報センター	
H18.12.14		イラク	Betool Hadi Mahdi	保健省薬剤管理及び研究ｾﾝﾀｰ抗生物質評価科科長	細菌第二部 業務管理課	（財）国際保健医療交流ｾﾝﾀｰ JICA集団研修「第３回薬剤耐性病原体の実験室診断（Ⅱ）コース」研修員来所（財団法人国際保健医療交流ｾﾝﾀｰ）
		ウルグアイ	Grisel Rodriguez Cuns	共和国大学国立火傷ｾﾝﾀｰ微生物学準教授微生物検査科科長		
		ジンバブエ	Joseph Chipinduro	国立保健研究所検査技師		
		中国	Wu Xin Wei	広州市疾病管理予防ｾﾝﾀｰｳｲﾙｽ及び免疫部副部長		
		パラグアイ	Maria Gloria Centurion De Morinigo	保健・社会福祉省公衆衛生中央研究所細菌学研究員		
		フィジー	Shalini Pravin Singh	保健省植民地戦争記念病院病理部微生物検査室長		
		ベナン	Loko Firmin Djidjoho	保健省　国立公衆衛生検査ｻｰﾋﾞｽ査察官		
		モンゴル	Amarsanaa Amartuvshin	国立ﾓﾝｺﾞﾙ癌ｾﾝﾀｰ中央検査部検査診断医師		
H18.12.15		中国	He Guoping	江西省衛生庁副処長、視察団団長	所長 感染症情報センター バイオセーフティ管理室	中国江西省衛生庁日本視察団による施設見学等（社団法人日中協会）
			Nie Wenlong	江西省発展改革委員会副調研員		
			Lu Yuping	江西省財政庁主任科員		
			Zhang Liwa	江西省撫州市第一医院副院長		
			Luo Yanping	江西省吉安市衛生局副局長		
			Bao Chunyan	江西省宣春市人民政府科長		
			You Conghuan	江西省宣春市衛生局調研員		
			Zhang Yue	江西省疾病預防控制中心主任		
			Deng Xu	江西省撫州市疾病預防控制中心主任		
			Liu Guangfu	江西省新余市疾病預防控制中心副主任		
			Peng Jun	江西省上饒市疾病預防控制中心副主任		
			Yan Renji	江西省贛州市疾病預防控制中心副主任		
			Huang Jiasheng	江西省九江市疾病預防控制中心科長		
			Chen Shu	江西省上饒市第二人民医院院長		
			Zheng Zongli	江西省上饒市第二人民医院科長		

国際協力室
平成１８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）
			Zhou Fangneng	江西省宣春市人民医院副院長		
			Cao Minjun	江西省吉安市中医院副院長		
			Jiang Xiaoyun	江西省九江市第三人民医院副院長		
			Xie Ping	江西省南昌救急中心主任助理		
			Zhao Wu	江西省衛生庁会計師		
			付　偉良	通訳		
H18.12.19	～H18.12.20	韓国	Yong-Soo CHO Kwang-Hu KIM Chun-Sang JO Haeng-Seop SHIN Sang-Hee PARK	Dupty Team Leader,National Institutions Relocation Team Dupty Team Leader,National Institutions Relocation Team Assistant Team Leader,National Institutions Relocation Team Senior Researcher,Division of Planning and Research,NIH Senior Researcher,Division of Zoonoses,NIH	所長　企画調整主幹 放射能管理室　獣医科学部 バイオセーフティ管理室 ウイルス第一部 ウイルス第三部 会計課施設係　業務管理課	韓国厚生省・ＮＩＨ職員による施設設計及び管理に関する戸山庁舎及び村山庁舎の見学（韓国NIH）
H19.1.22		ベトナム	Nguyen Tran Hien	Director,National Institute of Hygiene and Epidemiology	所長 副所長 感染症情報センター バイオセーフティ管理室 細菌第二部・ ウイルス第三部	ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）所長他来訪、意見交換、施設見学及び感染研セミナーにて講演（NIHE）
H19.1.25		米国	Douglas Holtzman	ﾋﾞﾙｹﾞｲﾂ財団	所長 副所長 企画調整主幹 感染症情報センター ウイルス第一部 細菌第二部 バイオセーフティ管理室	ビルゲイツ財団より来訪、意見交換、施設見学（ビルゲイツ財団）
H19.1.29	H19.2.2	チリ	Cachicas Cubillos,Viviana Eugania	ﾁﾘ公衆衛生研究所環境衛生ﾗﾎﾞ食品微生物課	感染症情報センター	平成18年度チリ国別研修「腸炎ビブリオおよびノロウイルスの検出技術」コースに係る研修（JICA）
H19.1.29	～H19.3.16	ベトナム	Nguyen Thanh Thuy Trinh Quynh Mai Doan Hai Yen	Resarcher,DOHA Department,National Institute of Hygiene and Epidemiology,Ministry of Health Contract-based staff,Bacteriology Department,National Institute of Hygiene and Epidemiology, Ministry of Health Resarcher,Virology Institute of Hygiene and Epidemiology Hygiene and Epidemiology, Ministry of Health	バイオセーフティ管理室 ウイルス第三部 放射能管理室 感染症情報センター 動物管理室 病原体ｹﾞﾉﾑ解析研究ｾﾝﾀｰ 獣医科学部 ウイルス第一部 ウイルス第二部 エイズ研究センター 感染病理部 免疫部	JICA平成１８年度国別研修「ベトナム国立衛生疫学研究所能力強化計画プロジェクト」バイオセーフティ・ウイルス学研修（JICA）
H19.1.29	～H19.2.16	エチオピア	HAILE Eshetu Lemma	Assistant Researcher,Medical Laboratory Technologist/Ethiopian National Porio and Measles Laboratory,Ethiopian Health and Nutrition Resarch Institute	ウイルス第二部	JICA集団研修ポリオ根絶計画ウイルス検査技術コース「地球規模ポリオ根絶のためのウイルス検査技術質的向上」（JICA）
		ケニヤ	GITUKU Japheth Gakuu	Virogist/National Public Health Laboratories		
		ミャンマー	KHIN Zaw Latt	National Health Laboratory,Department of Health		
		ニジェール	GARBA Aminata	Thchnicienne Superieure Dajor du Laboratoire Biologie/Hopital National de Niamey		
		スーダン	HATIM Babiker Osman Ali	Superviser of Polio Laboratory/National Poliovirus Laboratory		
		イエメン	ALROMEMA Nabeel Ahmed	Microbiorogist/NCPHL		
		ザンビア	MSISKA Simon Tom	Senior Med.Techn./Virology Laboratory.Department of Pathology and Microbiology.University Teaching Hospital		

国際協力室
平成１８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）
H19.2.7		ウガンダ	Winifred Abong Omara	ﾑﾗｺﾞ国立基幹病院上級看護管理官	寄生動物部 昆虫医科学部 感染症情報センター	財団法人日本寄生虫予防会JICA研修員来訪 （日本寄生虫予防会）
		ガーナ	Kawabena Mante Bosompem	ｶﾞｰﾅ国立大学野口記念医学研究所寄生虫学準教授		
			Joseph Kwatei Quartey	ｶﾞｰﾅ国立大学野口記念医学研究所検査技師		
		スーダン	GIBRIL Nouman Abd Alla	保健省住血吸虫予防事業部次長		
		セネガル	Moussa Dieng Sarr	保健・疾病予防省寄生虫予防課課長		
		タイ	Thitima Wongsaroj	公衆衛生省疾病予防局感染症予防部寄生虫予防担当課長		
			Supaporn Nuamtanong	ﾏﾋﾄﾞﾝ大学熱帯医学部蠕虫学教室上級研究員		
		ドミニカ共和国	Lourdes Flerida McDougall Alarcon	保健福祉局感染症対策疫学担当医務官		
		トルコ	H.Aysegul Taylan Ozkan	保健省感染症研究部寄生虫研究所寄生虫研究官		
		ニジェール	Maman Ousseini	国立公衆衛生専門学校講師		
		ﾊﾟﾌﾟｱﾆｭｰｷﾞﾆｱ	Leo Sora Makita	保健省疾病予防部ﾏﾗﾘｱ及び媒介動物対策主席顧問		
		バングラディシュ	Moazzem Hossain	保健・家庭福祉省保健部ﾌﾗﾘｨｱ対策事業主事		
		ペルー	Carmen Maritza Luis Gonzales	ﾀﾞﾆｴﾙ・ｱﾙｼﾃﾞｽ・ｶﾛﾝ病院臨床検査技師		
		マラウイ	Noah Hastings Henryy	保健省環境保健主任担当官		
		メキシコ	Norma Elene Alvarez	国立疫学研究所寄生虫部		
H19.2.14		インドネシア	Nandipinta	ｲﾝﾄﾞﾈｼｱ疾病対策環境衛生局総務人事課課長	感染症情報センター	JICA感染症対策研修 （社団法人国際厚生事業団）
		カンボジア	MornChheng	ｶﾝﾎﾞｼﾞｱ保健省国家予防接種ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ主任		
		フィリピン	Pareja Ernesto Ebon	ﾌｨﾘﾋﾟﾝｶﾗｶﾞ地方健康開発ｾﾝﾀｰ医療技官		
		ベトナム	Le Thanh Dong	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省予防医療検疫課課長		
		ミャンマー	Khin Win	ﾐｬﾝﾏｰ保健局特別疾病対策課疫学研究者		
		ラオス	Kongmany Southalack	ﾗｵｽ国立疫学研究所疫学ｻｰﾋﾞｽ局局長		
H19.2.26	～H19.3.18	ミャンマー	Poa Poe Linn Khin Khin Mu	Medical Officer , National Health Laboratory Medical Officer , National Health Laboratory	ウイルス第三部 バイオセーフティ管理室 獣医科学部 ウイルス第一部 感染病理部 免疫部 エイズ研究センター	BSL3ﾚﾍﾞﾙ病原ウイルス等の診断技術の習得のためのワークショップ （ミャンマー国立健康研究所・カンボジアパスツール研究所）
		カンボジア	Channa May	Senior Lab Technician,Virology Unit , Institut Pasteur in Cambodia		
H19.2.27		インドネシア	Nandipinta	ｲﾝﾄﾞﾈｼｱ疾病対策環境衛生局総務人事課課長	感染症情報センター	感染症対策研修アウトブレーク対策セミナー （社団法人国際厚生事業団）
		カンボジア	MornChheng	ｶﾝﾎﾞｼﾞｱ保健省国家予防接種ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ主任		
		タイ	Narongsakdi Aungkasuvapala	ﾀｲ保健省健康局総局長		
		フィリピン	Pareja Ernesto Ebon	ﾌｨﾘﾋﾟﾝｶﾗｶﾞ地方健康開発ｾﾝﾀｰ医療技官		
			Joanne Tolrntino	Public Investment Staff,Neda,the Philippines		
		ベトナム	Le Thanh Dong	ﾍﾞﾄﾅﾑ保健省予防医療検疫課課長		
		ミャンマー	Khin Win	ﾐｬﾝﾏｰ保健局特別疾病対策課疫学研究者		
		ラオス	Kongmany Southalack	ﾗｵｽ国立疫学研究所疫学ｻｰﾋﾞｽ局局長		
H19.3.6	～H19.3.7	英国	Andrew J Hall	Professor of Epidemiology,London School Of Hygiene and Tropical Medicine,UK	所長 ウイルス第二部	WHO第３回Ｂ型肝炎専門家会議 （WHO）
		韓国	Youngme Jee	Senior Scientific Officer,Korea CDC,South Korea		
		カンボジア	Ork Vichit	National Immunization Officer,Ministry of Health		
		スイス	Craig Shapiro	Medical Officer,WHO,Swizerland		
		中国	Hui Zhauang	Department of Microbiology,Beijing Medical University		
		フィリピン	Ernesto Domingo	Vice-President,Philippine Cancer		
			Yang Baoping	Regionall Adviser,WPRO,Philippines		
			Manju Rani	Scientist,WPRO,Philippines		
			Stephen Hadler	Medical Officer,WPRO,Philippines		

国際協力室
平成１８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）
		米国	John Ward	Director,CDC,USA		
			Suzan Wang	CDR,US.Public Health Service		
		マレーシア	nor Zahrin bt Hasran	Assistant Director,Ministry of Health		
		日本	Yukichi Usui	Programme Officer,JICA		
			Masashi Mizokami	Director and Professor,Nagoya City University		
H19.3.9		英国	Michel John Corbel	Head,Division of Bacterilogy National Institute for Biological standards and Control	副所長 企画調整主幹 細菌第二部 バイオセーフティ管理室	英国ＮＩＢＳＣ細菌ワクチン部長来訪意見交換、施設見学及び感染研セミナー講演 （NIBSC）
H19.3.14		インド	Ramjiban Mukher jee	ｲﾝﾄﾞ国下痢症及びｺﾝﾄﾛｰﾙｾﾝﾀｰ施設総務部門上級技術補佐	動物管理室 バイオセーフティ管理室 総務部会計課施設係	JICA研究施設維持管理技術研修員来訪 （JICA）
H19.3.15		カメルーン	OROK,Samuel OTANG NYAMBI Ⅲ DIKOSSO,Henri	社会問題省国家連帯局長 社会問題省広報室室長兼視察官	感染症情報センター エイズ研究センター	カメルーン国社会問題省幹部来訪、意見交換、施設見学 （JICA）
H19.3.27		中国	YANG,Feng WANG,Hua-Qing LUI,Zeng-Rong AN,Yan-Bo WANG,Dong-Hai GOU,Ai-Li ZHOU,Li-Wei	Dupty Director,Division of Vaccine Preventable Disease,Department of Disease Control.Ministry of Health Profrssor,National Immunization Program of Chinese Centers of Disease Prevention and Control Investigator,the Division of Disease prevention and Control.Ganse Prevencial Health Department Consultant,Section of Disease Control.Health Department EPI,Center for Disease Control and Prevention of Jiangxi Province. Director of Section EPI,Xinjiang Uygur Autonomous Regional Center for Disease Control and Prevention Surveillance and Control for Disease,Ningxia Hui Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention	所長 感染症情報センター	JICA中国国別研修「予防接種行政」研修員戸山庁舎来訪 （JICA）
H19.3.29		中国	YANG,Feng WANG,Hua-Qing LUI,Zeng-Rong AN,Yan-Bo WANG,Dong-Hai GOU,Ai-Li ZHOU,Li-Wei	Dupty Director,Division of Vaccine Preventable Disease,Department of Disease Control.Ministry of Health Profrssor,National Immunization Program of Chinese Centers of Disease Prevention and Control Investigator,the Division of Disease prevention and Control.Ganse Prevencial Health Department Consultant,Section of Disease Control.Health Department EPI,Center for Disease Control and Prevention of Jiangxi Province. Director of Section EPI,Xinjiang Uygur Autonomous Regional Center for Disease Control and Prevention Surveillance and Control for Disease,Ningxia Hui Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention	ウイルス第一部 ウイルス第二部 ウイルス第三部 細菌第二部 バイオセーフティ管理室	中国国別研修「予防接種行政JICA研修員村山庁舎来訪 （JICA）

国際協力室

別表2

専門家海外派遣について

（単位：人）

派遣国＼年度	平成9	平成10	平成11	平成12	平成13	平成14	平成15	平成16	平成17	平成18
アイルランド										1
アメリカ合衆国								3	6	60
イギリス								2	10	17
イタリア									3	2
インド			2	1			3	4	2	4
インドネシア	2	1	1	1				3	12	10
ウガンダ		1								
ウクライナ										1
エジプト	1	1	2	1		1	1			
エチオピア		1				1	1			
エルサルバドル										1
オランダ										4
オーストラリア								2		19
オーストリア										5
ガーナ	8	3	3		3	1	3			
カナダ								1	2	19
カメルーン			1							
韓国								2	6	15
カンボジア	2	1	1	1	2	1	1			4
キューバ										1
ギリシア										1
コートジボワール			1							
ザンビア									1	
ジャマイカ										1
シンガポール							1		3	11
スイス								30	19	30
スウェーデン								1		2
スペイン										1
スリランカ								1		
セネガル			1							
ソロモン諸島										2
タイ	2	5	7	8	10	10	8	10	5	18
台湾							1	4	4	17
タンザニア		1	1	1						
中国	7	5	3	1		2	8	10	12	39
デンマーク										2
ドイツ									2	12
ドミニカ共和国										1
トルコ			1	3	2	1				1
ニューカレドニア									1	
ニュージーランド										3
パキスタン							1		1	
パラオ										1
バングラデシュ	2									2
東ティモール								2		
フィリピン	1	3	3	3	1		1	4	4	16
フィンランド										2
ブラジル										2
フランス				1				3	2	16
ベトナム	2					2	2	8	7	26
ベルギー									2	2
ポルトガル										6
ポーランド										1
マルタ									2	
マレーシア		2	3	2				1	2	1
南アフリカ								2		
ミャンマー						1				5
メキシコ								1	1	
モンゴル			1	2		2				
ラオス		2	1							
ロシア										3
合　計	27	26	32	25	18	22	31	94	109	387

１５.バイオセーフティ管理室

室長　杉山　和良

概　要

当室は、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と実施、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」を規定したが、平成18年には所定の様式に輸入禁止品をチェックする項目を入れるように変更を行った。平成18年には、感染症法の一部改正が行われ、テロに使用されると影響の大きい特定の病原体についてはその使用・保管を法規制する法案が成立した。平成19年6月1日から施行予定となったので、これを受けて、病原体等安全管理規程の見直しの作業を開始した。

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ヶ月毎にバイオセーフティ講習会を行った。また、今年度は家畜伝染病予防法の周知を目的とする臨時講習会を実施した。引き続き、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BSL3実験室、村山庁舎高度安全実験室、6号棟および3号棟のBSL3実験室の年次点検を実施した。

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、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、バイオセキュリティに関する一括管理システムの検討、ノロウイルス代替としてネコカリシウイルスを用いた強電解水、アルカリ剤による不活性化効果の研究、病原体保管用フリーザーのセキュリティ機能についての検討等を行った。

第49回米国バイオセーフティ学会総会に出席し、防護服素材の合成血液体に対する浸透防護試験法の比較および炭疽菌芽胞の汚染サンプルの取扱法とトレーニング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。

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に当たって地方衛生研究所（以下「地衛研」という。）等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）、ポリオウイルスなどを含む病原体保有等に関するアンケート調査を実施し、その解析を行った。実際に、地衛研単位でバイオセーフティの実習を含む講習会を実施し、今後の教育プログラム作成のための準備を行った。病原体の保存管理に関して、病原体を取り扱う現場で現地調査を行い、病原体の盗難防止のために ID タグを用いる新規セキュリティシステムの導入に必要な調査を行った。バイオセキュリティについて、米国、カナダ等の研究機関と研究協力を行い、わが国へのリスク評価法の導入についての方法論を調査した。海外との間の実験室ネットワークに参加し、情報収集した。病原体を含む可能性のある粉体の取扱いのためのグローブバックの検討を行った。テロ対策用の野外で使用する移動式グローブボックスを作成した。

［杉山和良、篠原克明、高木弘隆、富田康浩、安藤秀二(ウ

イルス第一部)、重松美加(感染症情報センター)、倉田毅(富山衛生研)、原井基博（富士ソフト)］

2． BSL3 実験室の給排気量、室圧の検証

BSL3 実験室内の圧力変動や安全キャビネットの風量変化などを長期間観察中である。

［篠原克明、深見　哲、大久保孝雄、狩野文雄］

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

現存のバイオハザード対策専用防護服の防護性能、人工血液浸透防護性能、耐水圧、快適性などを総合的に検証し、その性能を整理した。さらに、バイオハザード対策専用防護服に求められる性能評価方法を提案した。

［篠原克明、渡邉道彦、小野澤哲夫、熊谷慎介、戸谷千夏、磯田実］

5． バイオセキュリティーに関する一括管理システムの検討

病原体の保管、輸送、廃棄における一括管理システムを構築するために、関連機器、装置の開発、作製と、性能の検証を行っている。また、データ管理システムの開発と構築を行っている。

［篠原克明、熊谷慎介、戸谷千夏、磯田実、高木弘隆、杉山和良］

6． ノロウイルス(NV)の代替としてネコカリシウイルス(FCV)を用いた強電解水による不活性化効果に関する研究

強電解水によるNVあるいはFCVの不活性化効果については、いくつか既報はあるが、強酸性電解水のみでの検討であること、ほとんどがF9株を使用した結果のみということから、供試株および作用条件を検討した。またFCV及びNV陽性糞便を用いて強電解水処理後のRNA検出を実施して、不活性化にかかわる作用点の推定を行なった。F9株を用いた作用比率の検討ではFCV:電解水=1:9にすることで、強酸性電解水では60秒、強アルカリ性電解水では10分で6log10減少に至った。また臨調分離株であるGon及びYm3を用いると、強酸性電解水では120秒、強アルカリ性電解水では 5-20 分と株による感受性差が示唆された。また RT-PCR による強電解水処理後の FCV の RNA 検出は不活性化との相関が認められず、これはNV陽性糞便でより顕著なものであった。

既報では不活性化によりFCV内部のRNA切断に及ぶとするもののあるが、今回の結果からではCapsid表面の構造変性にとどまることが示唆され、今後新たな手法による解析を試みる。

本研究は平成 18 年度機能水研究振興財団調査研究事業により実施した。またNV陽性糞便サンプルは山口県環境保健センターの協力によるものである。

［高木弘隆、杉山和良、堀田国元(機能水研究振興財団)］

7． ノロウイルス(NV)の代替としてネコカリシウイルス(FCV)を用いたアルカリ剤による不活性化効果に関する研究

昨年度からの継続研究として、炭酸ナトリウムに対するFCV供試株による感受性差および過炭酸ナトリウムによる不活性化効果の検討を行なった。炭酸ナトリウムによる株間での感受性差はF9株を含む6株で検討したところ、Ym3のみ120秒で3log10の減少となり、その他は60秒で5log10の減少が認められた。過炭酸ナトリウムではFCV に対し 1:4 の比率で作用させた場合 1.0～2.0%では40秒で、0.5%では120秒で5log10以上の減少が認められた。また株間における感受性差については F9、Gon、Ym3 の 3 株を用いた場合、F9 及び Gon で 60 秒、Ym3 では200秒以上で5log10以上の減少が認められた。次亜塩素酸ナトリウムと同様、FCV 株間でのアルカリ剤に対する感受性差は認められたが、衣類用洗剤の成分として、また酸素系漂白剤として多く用いられている当該アルカリ剤の有用性が認められ、NV除染の有効な手段として期待できる。

本研究は花王㈱化学品研究所と花王プロフェッショナル・サービス㈱との共同研究契約に基づき実施した。

［高木弘隆、杉山和良、日置祐一(花王ﾌﾟﾛﾌｪｯｼｮﾅﾙ･ｻｰﾋﾞｽ)、吉松明(花王㈱化学品研究所)］

8． ユビキタスマイクロサーバーを利用した病原体保管用ディープフリーザーの認証開閉システムの構築と実用化

特定病原体の保管管理にあたり、BSL3実験室における特定2種病原体のワーキングストックのセキュリティ強化と従来ある保管庫を生かした形でのシステム実用化を

目指し、ユビキタス・マイクロサーバーによるICタグによる個人認証・ログ管理システムの構築を試みた。対象は2種病原体に含まれる細菌を保管しているフリーザーとし、電磁ロック-Felicaリーダー-マイクロサーバーという構成のシステムを対象フリーザーに組み込むこととした。データはLANを通じて中央サーバーに定期的に取り込み、停電時においてもマイクロサーバー本体にログが確保される設定とした。現在運用に入っているが、アラートメールやログデータの取り込み、認証開閉については順調である。今後、専用Felicaから各個人のIDカード認証へ移行することと、同マイクロサーバーによる菌体一時保管用の冷蔵庫へのアクセスログ確保も検討する。[高木弘隆、泉谷秀昌(細菌第一部)、杉山和良]

国際協力関係業務

Ⅰ.JICAによるベトナムでのバイオセーフティ技術協力

JICAの、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に主要なメンバーとして参加した。無償協力によるBSL3実験室とBSL2実験室を含むサポート実験室の基本設計説明、BSL3対応のマルチラボの設置と運転および調整と保守等、バイオセーフティシステムの導入およびバイオセーフティ教育の実施のため、杉山、篠原が2回、高木が1回、NIHEで指導を行った。また、NIHEから、バイオセーフティ部長と部員1名を、日本に招聘し、バイオセーフティ管理手法､バイオセーフティの規則の作成､安全キャビネット、安全装置の原理と扱い等についての研修を行った。

その他、台湾CDCから、動物バイオセーフティの研修のため1名を受け入れた。

研修業務

Ⅰ．バイオセーフティ講習会

新規受講者を対象としたバイオセーフティ講習会は年間予定に従い2ヶ月に一度、6回実施した。また、外国人を対象としたバイオセーフティ講習会は随時行い、14回開催した。佐多徹太郎感染病理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。家畜伝染病予防法の周知を目的とする臨時講習会を行った。

1．バイオセーフティ講習会受講者数

(1)平成18年度　新規・臨時講習会

実施年月日	新規	臨時
平成18年　4月　5日	44	
6月　6日	44	
8月　1日	32	
10月　4日	28	
12月　5日	18	
平成19年　2月　6日	24	
3月　19日		345
計	190	345

(2)平成18年度　外国人対象講習会

実施日	受講者数
平成18年　4月　11日	3
4月　26日	1
5月　12日	5
7月　10日	2
8月　14日	1
9月　11日	3
9月　20日	3
9月　22日	1
10月　5日	3
11月　28日	1
12月　8日	1
平成19年　1月　30日	3
2月　26日	3
3月　5日	2
計	32

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､野川加奈､佐藤真弓非常勤職員が担当した。引き続き、各庁舎指定実験室の日常の管理・運営、施設管理技術者との作業調整と監督、施設の定期総合点検の計画立案と実施および指定実験室利用者に対する講習等の教育指導等を行った。

指定実験室の利用登録者と指定実験室利用者講習受講者を表に示した。

1. 平成18年度　指定実験室(BSL3)登録者数

庁舎名	登録者数
戸山庁舎	116
村山庁舎	50
計	166

2. 平成18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	1	1	2
5月	2	4	3	4
6月	0	0	0	0
7月	0	0	0	0
8月	3	4	2	7
9月	2	3	0	0
10月	0	0	4	4
11月	1	1	1	2
12月	2	2	0	0
1月	1	3	3	4
2月	1	1	2	2
3月	0	0	1	1
計	13	19	17	26

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（地方衛生研究所九州ブロック研修会等）、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。長野県、北海道および九州での研修会では実習も試みた。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いる日本バイオセーフティ学会運営に参加し、2006年11月に行われた総会・学術集会に参加した。

厚生労働省科学研究の一環として、病原体輸送についてのトレーニングコースの開催、アジアパシフィックにおけるバイオセーフティをテーマとして国際バイオセーフティシンポジウムを開催した。また、感染研バイオセーフティセミナーを2回開催した。

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ. 誌　上　発　表

1. 欧文発表

なし

2. 和文発表

１）安藤秀二、佐多徹太郎、重松美加、杉山和良、倉田毅、中嶋建介：バイオリスクマネジメント　実験施設バイオセキュリティガイダンス　WHO（翻訳）2006年　国立感染症研究所

２）北村敬、小松俊彦、杉山和良、森川茂（北村敬、小松俊彦監修）：実験室バイオセーフティ指針 3版　WHO（翻訳）2006年　バイオメディカルサイエンス研究会

３）篠原克明：バイオハザード対策施設（バイオセーフティ施設）．公共建築　Vol.48　No.189．2006.7 月．社団法人　公共建築協会．

４）篠原克明：バイオハザード対策用防護服に求められるもの．　セイフティ・ダイジェスト．（Safety & Health Digest）Vol.52．No.11．2-6．2006．11月．社団法人　日本保安用品協会（JSAA）．

５）高木弘隆、杉山和良：ネコカリシウイルス(FCV)を代替としたノロウイルス(NV)不活性化効果の検討 －アルカリ剤、過酸化水素および過炭酸ナトリウムによる不活性化効果、医学と薬学　Vol.57　NO.3　2007

Ⅱ. 学　会　発　表

1. 国際学会

1) Shinohara, K., Tomita, Y., Takagi, H., Sugiyama, K., Watanabe, M., Kozuka, M., Kumagai, S., Toya, C., Matsuda, M., Fujimura, S., Yamaoka, K. Protective performance of biological protective clothing materials against penetration of synthetic blood. European Biological Safety Association, 9th Annual Conference, June 1-3, 2006, Den Haag, Netherland.

2) Takagi, H., Shigematsu, M., Taniguchi, K., Tomita, Y., Shinohara, K., Sugiyama, K. Efficacy of common

detergents in SARS Coronavirus and Influenza virus disinfection. 12th International Congress on Infectious Diseases, June, 2006, Lisbon.

3) Tamura, T. and Shinohara, K. Evaluation of heat resistance of bio−protective clothing using a skin model and a sweating thermal manikin. The 35th Textile research Symposium at Hangzhou, 2006, August 22-24, 2006, Zhejiang Sci-Tech Univ, RP, China.

4) Shinohara, K., Takagi, H., Sugiyama, K.,Watanabe, M., Kumagai, S., Toya, C., Fujimura, S., Sato, K., Mitsuhashi, T. Comparison of protective performance test methods against penetration of synthetic blood in biological protective clothing materials. American Biological Safety Association, 49th Annual Biological Safety Conference, October 15-18, 2006, Boston, USA.

5) Hirotaka Takagi, Kenichiro Ito, Mika Shigematsu, Katsuaki Shinohara, Kazuyoshi Sugiyama, The Handling Method and Training Plan for Samples Possibly Contaminated with Anthrax spores. The 49th Annual Biological Safety Conference, American Biological Safety Association, Boston Massachusetts, 2006

2. 国内学会

１）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 30-31 日、東京

２）熊谷慎介、篠原克明、戸谷千夏、小野澤哲夫、渡邉道彦、藤村彰治、堀井二三男、松田憲彦：バイオハザード対策用防護服素材の人工血液浸透性防護性能試験についての検討。第 6 回　日本バイオセーフティ学会学術総会・学術集会、2006 年 11 月 24-25 日、東京

３）篠原克明：バイオハザード対策。2006 年度　呼吸器保護に関する研究発表会、パネルディスカッション呼吸保護の多様な社会的ニーズ、国際呼吸保護学会 ISRP アジア支部、日本呼吸用保護具工業会、2006 年 12 月 1 日、東京

４）篠原克明：バイオハザード対策用防護服。第 4 回日本防護服研究会学術総会、2007 年 2 月 15 日、東京

５）高木弘隆、電解水の抗ノロウイルス活性　機能水研究振興財団機能水研修会・ウォーター研究会セミナー、2007 年 3 月 9 日、東京

16. 放 射 能 管 理 室

室 長　前 川 秀 彰
室 長　土 田 耕 三
(平成19年1月1日より)

概 要

当室は、放射性同位元素等の安全取り扱いの徹底を図り、また放射性同位元素の研究利用に関する研究と指導を行なっている。放射性同位元素の保管、取扱い等に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。

講習会は下表の通り新規(6回)、外国語(1回)及び継続（3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1名、継続357名であった。新規受講者は講習終了後、確認テストを行い、全員合格した。継続者について、今年度は新しい試みとして外部から講師を招聘した。日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所小林泰彦室長に放射線生物学一般及び最新の重粒子線を利用した重要課題についてご講演いただき、パーキンエルマー（株）蓼沼利幸部長に液体シンチレーションカウンターの測定原理についてご講演いただいた。その後、土田、前川が安全取扱の徹底を図った。戸山、村山とも法改正後初めての定期検査及び定期確認が行われ合格判定をいただいた。放射線障害予防法の改正に伴い、放射線取扱規則を戸山庁舎と村山庁舎で変更し、ハンセン病研究センターでは新たに細則を定めた。新法令では下限数量以下の放射性同位元素を放射線管理区域外でも使用できるとしているが、国立感染症研究所では、従来通りすべての放射性同位元素は管理区域内で使用することとし、管理区域外での使用を認めないことにした。

今まで放射能管理室に併任されていた国立健康栄養研江崎部長が併任解除となり合わせて放射線取扱主任者も解任となった。放射線取扱主任者は村山庁舎、ウイルス第二部の武田直和、ハンセン病研究センター中永和枝が行った。戸山研究庁舎放射線取扱主任者として前川、土田、藤本が登録された。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。信州大学繊維学部の及川美代子氏が就職のため退所し、信州大学院の中島健陽氏が在籍し、新たに日本大学生物資源学部の横山健氏が入所した。

放射能管理室長前川秀彰は平成18年12月31日で退職し、琉球大学遺伝子研究センター教授となった。平成19年1月から室長は土田耕三が務めている。研究については、以下の項目を行った。

Ⅰ．新たな導入ベクターに関する研究
Ⅱ．放射線感受性部位の高次構造の解析
Ⅲ．放射線損傷DNAのシミュレーション計算による解析
Ⅳ．放射線照射による損傷指標としての翅原基の利用
Ⅴ．脂質輸送機構の解析

Ⅰ．放射性同位元素使用状況

1. 戸山庁舎

（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	858220	426425	418525
^{14}C	139724	17840	22141
^{32}P	1080602	1507750	1380477
^{33}P	0	0	0
^{35}S	469900	249750	317252
^{51}Cr	18500	0	18500
^{125}I	81400	444	7400

保管量下限数量比合計 12171.6264

2. 村山庁舎

（単位　kBq）

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	288722	77700	192850
^{14}C	1696.9	9250	2600
^{32}P	37025	425500	421025
^{33}P	0	0	0
^{35}S	168340	810300	903350
^{51}Cr	0	0	0
^{125}I	0	0	0

保管量下限数量比合計 416.761162

Ⅱ．従事者登録数

1. 戸山庁舎　　347名

(独法健康栄養研分も含む)

2. 村山庁舎　　104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18年 4月 7日	23	新規
5月 8日	253	継続
5月 9日	76	継続(村山)
5月12日	28	継続
6月 5日	27	新規
8月 4日	12	新規
10月 3日	10	新規
12月 4日	3	新規
平成19年 2月 5日	10	新規
合計	447	

2. 外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成18年 10月4日	1	新規
合計	1	

業　績

調査･研究

生物学研究における放射性同位元素の利用を図るために、生化学、遺伝学、分子生物学に応用可能な放射性同位元素を用いた研究を展開し、以下の研究を行った。

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をバキュロウイルスへ組み込む操作に問題が生じ組換えウイルス作成を再度試みている。［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

新たな活性型マリナー様配列の単離を試みている。［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による増幅度が熱処理条件により約10倍も変化することが明らかになっている。この条件の差により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によって切断誘発確率の値を今まで設定されていた値より高くすることで損傷がより多く生じていることが説明できることから上記の推定が確認された。［斎藤（原研東海）、藤本、土田、高田、前川］

2. 人為的変異導入による方法論の確認

1によって確認された温度差を利用したリアルタイムＰＣＲ法による軽微な損傷検出の可能性について、修飾した塩基を導入することでこの方法の有効性を確認すべく準備を進めている。［前川、藤本、土田、高田、斎藤（原研東海）］

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。この条件ではKuヘテロダイマーは、結合した位置から動くことが非常に困難であると計算された。

［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。重イオンビームを利用して原基の前後2組のどれかあるいはその一部を照射することで羽全体に影響が出るかどうかを検証している。これによりバイスタンダー効果を解析できる系の確立を図ることとした。［前川、小林（原子力機構）、白井（信大）、木口（信大）、高田、藤本、土田］

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テ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がカロテ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。研究は、カロテノイドの放射能によるラベリング方法を葉緑体におけるカロテノイド合成系にカロテノイドの前駆体を加える等の改良がなされた。

［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］

1. CBP遺伝子の解析

カロテノイドの取込機構は未だ明確ではない。カロテ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

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

新規放射線取扱業務従事者、継続者、新規外国人放射線取扱業務従事者、RIを使用しない管理区域立入者に対する講習会を実施した。実施詳細は、最初の表を参照。

Ⅱ．日常管理業務

1. 通常の日常管理業務を行った。放射性同位元素の購入、入荷登録、管理、放射性同位元素の廃棄物の集荷と払い出し、施設点検、汚染検査、排気、排水の放射性同位元素量の測定、施設日常点検、定期点検、自主点検、放射線取扱業務従事者の被ばく管理、放射線取扱業務従事者出入り管理、一時立ち入り者の出入り管理と講習、他日常の管理。

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。

Ⅲ. その他

1. 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た。それぞれ2名の検査官が原子力安全技術センターから立入、施設の検査と法律上義務付けられている必要書類の検査を行った。戸山、村山共、一部に改善箇所があったが直ちに対応できるものであり、改善後合格判定をいただいた。

2. 放射能委員会、RI3施設協議会等の開催。

3. 放射線取扱主任者講習会等へ出席し研修した。

4. 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に基づく取扱規則の改定を進めた。

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 gamma-ray irradiation. J. Insect Biotech. Sericol. 75, 161-165

2) M. Takahashi, J.-M. Lee, H. Mon, H. Yoshida, Y. Kawaguchi,

H. Maekawa, K. Koga and T. Kusakabe (2006) Radiation resistance and its inheritance in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Fac. Agr., Kyushu Univ., 51, 261-264.

3) Gopalapillai R., Okuda K., Tsuchida K., Yamamoto K., Nohata J., Ajumura M. and Mita K. Lipophorin receptor from the silkworm, *Bombyx mori:* cDNA cloning, genomic structure, alternative splicing and isolation of new isoform.
Journal of Lipid Research, 47, 1005-1013, 2006.

4) Zang P., Aso Y., Yamamoto K., Banno Y., Wang Y., Tsuchida K., Kawaguchi Y. and Fujii H.: Proteome analysis of silk gland proteins from the silkworm, *Bombyx mori*. Proteomics 6, 2586-2599, 2006.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) M. Oikawa, H. Fujimoto, Z. Tu , K.Saito, R. Watanabe,E.Yamauchi, K. Tsuchida, M. Nakagaki, N. Takada, T.Shimada, and H. Maekawa. Detection of DNA strand break using real-time PCR amplification for irradiated plasmid pBR322 and application for the genomic DNA analysis. 2006 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) M. Oikawa, H. Fujimoto, Z. Tu , K.Saito, R. Watanabe, K. Tsuchida, M. Nakagaki, N. Takada, E.Yamauchi,and H. Maekawa. Detection of DNA strand breaks using real-time PCR amplification for irradiated plasmid pBR322 and application for its structural analysis. The 29th Japanese Mol. Biol. Meeting and 20thIUBMB, June, 2006, Kyoto Japan.

3) Kawanishi, Y., Takaishi, R., Banno, Y., Fujimoto, H., Maekawa, H., Nakajima, Y. The relationship between the mariner-like elements classified into the Bmmar2 and the inserted elements L1Bm and Bmmar6 among the populations of *Bombyx mandarina* inhabiting in Japan, Korea and China. The 29th Japanese Mol. Biol. Meeting and 20thIUBMB, June, 2006, Kyoto Japan.

4) Yukuhiro, K., Itoh, M., Banno, Y., Kômoto, N., Kosegawa, E., Hirokawa, M., Tatematsu, K., Nishimura, M., Maekawa, H., Kawanishi, Y., Nakajima, Y. Molecular evolutional comparison among some populations of *B. mandarina* distributing in China, Korea, and Japan while as comparing with some strains of B.mori by analyzing og gene, mitochondrial cox1 gene, Alp genes, and mariner-likeelements. The seventh International Workshop on the Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera, August , 2006, Kolimpari, Crete, Greece

5) 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. Numerical value for radiation sensitivity of *Bombyx mori* was determined using the wing size reduction of the pupae caused by gamma ray irradiation. Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology October, 2006, Sangju, Korea

6) K. Tsuchida , T. Sakudoh , T. Nakajima , H. Fujimoto , T. Shimada , N. Takada, H. Maekawa and H. Kataoka Retrotransposon induced cocoon color mutation in *Bombyx mori*. 5th International Symposium of Insect Molecular Science, Tucson, USA, 2006.

7) Tsuchida K. Intracellular carotenoid transport by yellow blood gene of silkworm, Gordon research conference, Ventura, USA, 2007.

8) H. Fujimoto, M. Pinak, T. Nemoto and J. Kotulic Bunta, Structural analysis of base mispairing in DNA containing oxidative guanine lesion, European Radiation Research (ERR) 2006; The 35th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology (ESRB), Kiev, Ukraine, 2006

9) H. Fujimoto, H. Maekawa Molecular Dynamics simulation of Ku heterodimer with double strand DNA molecule and detection of radiation damaged DNA by using PCR technique. New Nuclear Research Symposium of Biological Response to Low Dose Radiation - New Aspects of Low Dose Radiation Effects, Sapporo, Japan, 2006.

10) T. Sakudoh, H. Sezutsu, T. Tamura, H. Kataoka, K. Tsuchida Gene for Cocoon Color: Genomic Structure of a Carotenoid-binding Protein of the Silkworm (Bombyx mori) The Fifth Okazaki Biology Conference: "Speciation and Adaptation - Ecological Genomics of Model Organisms and Beyond", Okazaki, Japan, 2007

2. 国内学会

1) 川西祐一、高石礼子、伴野豊、藤本浩文、前川秀彰、間野修平、中島裕美子： 転移因子 mariner-like element (MLE) およびMLEに挿入されたレトロトランスポゾンの配列比較に基づくカイコとクワコの分岐経路の推定。東京、8 月、2006 年

2) 及川美代子、斎藤公明、藤本浩文、屠振力、渡辺立子、山内恵美子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子、前川秀彰：リアルタイム PCR 法を利用した新たな切断誘発確定法の提唱。日本放射線影響学会第 49 回大会。札幌、8 月、2006

年

3) 川西祐一、高石礼子、伴野豊、藤本浩文、前川秀彰、間野修平、中島裕美子：転移因子 mariner-like element (MLE) および MLE に挿入されたレトロトランスポゾンの配列比較に基づくカイコとクワコの分岐経路の推定。日本進化学会 2006 年大会、東京、8 月、2006 年

4) 及川美代子、斎藤公明、藤本浩文、屠振力、渡辺立子、山内恵美子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子、前川秀彰：温度処理を利用した放射線による DNA 損傷検出法の開発。日本分子生物学会 2006 フォーラム冬、名古屋、12 月、2006 年

5) 藤本 浩文、Miroslav Pinak, Juraj Kotulic Bunta、 根本 俊行、土田 耕三、前川 秀彰：Ku タンパク質と二重鎖 DNA 分子との分子動力学的シミュレーション。日本分子生物学会 2006 フォーラム冬、名古屋、12 月、2006 年

6) 中島健陽、作道隆、藤本浩文、高田直子、前川秀彰、中垣雅雄、土田耕三：クワコのカロチノイド結合タンパク質遺伝子について。日本分子生物学会 2006 フォーラム冬、名古屋、12 月、2006 年

7) 土田耕三、作道隆、片岡宏誌：カイコが白い繭を作る理由－カイコの細胞内カロチノイド輸送とその分子生物学的研究 第 20 回カロテノイド研究談話会 沖縄、2006 年

8) 前川秀彰、及川美代子、斎藤公明、藤本浩文、屠振力、渡辺立子、山内恵美子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子：リアルタイム PCR 法を利用した新たな切断誘発確定法の提唱、第 49 回日本放射線影響学会、札幌、2006 年

9) 中島健陽、作道隆、片岡宏誌、土田耕三：カイコ白色繭ができる分子機構、昆虫ワークショップ 06、金沢、2006 年

10) 作道隆、片岡宏誌、土田耕三：カイコ黄血遺伝子について、昆虫ワークショップ 06、金沢、9 月、2006 年

１７．動 物 管 理 室

室 長　山 田 靖 子

概　要

実験動物の動物福祉における世界的な基本原則、いわゆる３Ｒｓ(Replacement, Reduction, Refinement)が「動物の愛護及び管理に関する法律」（動愛法）に平成 17 年度に明文化され、平成 18 年 6 月 1 日に施行の運びとなった。これに伴い、実験動物の飼養に関しては「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」が環境省より告示され、また動物実験に関しては「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」が文科省、農水省とは別に厚労省独自に策定された。感染研ではこれまで、実験動物管理運営規程および動物実験委員会規程に則り、動物実験施設の管理運営を行ってきたが、今回の新たな法、基準、基本指針の内容に沿うため、従来の２つの規程の上に新たに「国立感染症研究所動物実験実施規程」を作成した。平成 18 年度はこれら新規及び改正された法、基準、基本指針、感染研内規程を全所の関連職員等に周知する年度であった。平成 19 年度より改正された規程等に基づく管理運営を実行していく予定である。

動物、特に霊長類に有効な麻酔薬として、塩酸ケタミンが使用されている。塩酸ケタミンがドラッグユーザーの間で乱用されているため、厚労省は塩酸ケタミンを麻薬として指定した。平成 19 年 1 月 1 日より麻薬としての管理が必要となるため、戸山庁舎、村山庁舎の動物管理室職員それぞれ１名を麻薬研究者として東京都に登録し、厳重な管理を行うこととなった。

平成 17 年度に引き続き、感染研の動物実験施設の機器等の補修を行った。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。

動物管理室は、動物実験施設の管理運営を業務とし、その一環として動物実験施設の定期的微生物検査及び検査に関わる研究を行った。また、昨年度に引き続き、実験動物に関する研究を行なった。実験動物の感染症に関する研究では、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスの持続感染及びその検出に関する研究、また、マウス肝炎ウイルスの感受性におけるリセプターの役割について、及び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、各動物のウイルスリセプターについて研究が行われた。

前年度までハンセン病研究センターの動物実験施設の管理運営に動物管理室が関与していなかったが、平成 18 年4月1日より同センター生体防御部松岡正則室長に動物管理室に併任していただき、連携を取っていくこととなった。平成 18 年 7 月 1 日に平井明香研究員が着任し、平成 19 年 1 月より座本　綾研究員がアメリカに長期出張となった。平成 19 年 3 月に動物飼育担当の大池正明、吉岡利夫が定年退官を迎えた。

講習会開催及び動物管理区の利用状況

動物管理室は動物実験委員会の事務局を担当し、講習会を開催している。平成 18 年 7 月 31 日までの動物実験講習会は新規に動物実験を行う研究者を対象に改正前の内容で行った。11 月 6 日以降は前述の法、基準、基本指針、感染研内規程の改正内容を周知するため、感染研で動物実験を行うすべての職員等を対象に動物実験委員会の講習会を開催した。初回講習会では鍵山直子先生に講演をお願いし、法、基準、基本指針の内容を解説していただいた。平成18年度内に改正後の講習会を受講した人数は414名、平成18年度に申請された動物実験計画は275件であった。

動物実験委員会の講習会とは別途に、戸山・村山各庁舎ではそれぞれの動物実験施設の利用方法および実験動物の飼養・保管に関する講習会を行い、受講者を施設利用者として登録している。各施設の利用登録者数は平成 19 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 350 人、村山庁舎 231 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		
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4日	戸山	19		30
4月25日	*戸山（臨時）*	*2*		*4*
5月28日	*戸山（臨時）*			*2*
6月5日	戸山	7		13
7月31日	戸山	9		11
8月8日	村山		8	
8月9日	村山		3	
10月3日	戸山	3		
10月30日	村山		2	
11月6日	戸山			269
11月13日	戸山			52
12月4日	戸山	3		15
12月14日	村山			64
2月5日	戸山	8		14
合計		51（新規）	13（新規）	414（改正後受講者数）

（斜字は外国人対照講習会）

業　績

調査・研究

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18年度より村山庁舎の検査項目に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、滝本一広、田原口元子、座本　綾、平井明香、増子芳郎、大池正明、吉岡利夫、小川敏雄、山田靖子］

I-2　定期微生物検査（細菌）におけるリファレンス株の遺伝子学的検討

1969-1985年に動物管理室で分離し形態学・生化学的性状を基に同定された細菌株をリファレンス株として使用している。近年16S rRNA遺伝子解析により細菌の分類が再編成されそれにより同定されていることから、*Bordetella bronchiseptica* R5、*Citrobacter rodentium* 660、*Pasteurella multocida* Ku-F-2、*P. pneumotropica* MaM、MaR、*Salmonella typhimurium* KOM-30、*Streptococcus pneoumoniae* 6Lおよび*S. zooepidemicus* TOHOについて同遺伝子の塩基配列を調べデータベース上で比較検討した。その結果すべての株が遺伝子レベルでも従来通りに同定され、リファレンス株として適切であることが確認された。［平井明香、須崎百合子、網　康至］

Ⅱ．実験動物の感染症に関する研究

II-1　持続感染マウスにおけるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス汚染検査条件の検討

新生仔期にリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)を感染させて持続感染マウスを作製し、その親マウスおよび同居成熟マウスとともにELISAによる抗体検出およびRT-PCRによるウイルス遺伝子検出を行い、持続感染マウスのLCMV汚染摘発に適切な条件を検討した。持続感染マウスと同居した親マウスでは同居6週目にLCMVに対する特異抗体が検出されたが、同居成熟マウスでは8週目でも検出されない場合があった。RT-PCRでは、全同居マウスで8週目にウイルス遺伝子が検出された。ELISAによるLCMV汚染検査には複数のマウスと最低6週間の同居が必要で、RT-PCRと合わせて実施することにより、より確実な検査が可能になると思われた。［滝本一広、 山田靖子、森川　茂(ウイルス第一部)、池　郁生(理研BRC)］

II-2　異なる受容体を持つマウスのマウス肝炎ウイルス感受性に関する研究

マウス肝炎ウイルス(MHV)はCEACAM1を受容体として利用し、感受性C57BL/6 (a/a)はCEACAM1aを、抵抗性SJLはCEACAM1bを発現している。両系統のMHV感受性が受容体に依存するかを検討するため、1aを1bで置き換えたC57BL/6 (b/b) 置換マウスを作製し、C57BL/6 (a/a)および(b/b)マウスにMHV-A59を感染させ、生存率および組織中のウイルス力価を検討した。その結果、b/bマウスはa/aマウスと比べMHVに対する生存率が顕著に高く、肝、脾、脳および血液中のウイルス力価は著しく低かった。以上のことは、MHV感受性はその受容体により決定されることを示唆している。[平井明香、網　康至、山田靖子、田口文広(ウイルス第三部)]

II-3 マウス肝炎ウイルス感染におけるマスト細胞の役割の解明

MHV感染によって遺伝的にマスト細胞を欠損する

WBB6F1-W/W マウスは、そのコントロール+/+マウスと比較して致死率が高いことが明らかになった。そこで、MHV を接種後、経時的に採材し検討を行った。抗体価は、W/Wv および+/+マウス共に MHV 接種後、1 週間から徐々に上昇し、両マウス間で差は認められなかった。臓器内のウイルス遺伝子の検出は、接種後 4 日では W/Wv および+/+マウス共に全ての臓器および糞便でウイルスが認められ、1 週間では+/+マウスで肝臓、小腸、腎臓のみに少しだけ認められたのに対し、W/Wv マウスでは全ての臓器で認められ、特に脳での検出が著しかった。+/+マウスは、脳での増加が見られなかったことにより発症せず生存したと思われる。臓器内のウイルス価は、MHV 接種後、W/Wv マウスの肝臓では 4 日に検出されてから 1 週間まで、脳では 1 週間のみで増殖が認められた。+/+マウスの肝臓では 1 週間のみで増殖し、脳では全てにおいて増殖が認められなかった。
［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２００週においても、高力価の血清中麻疹ウイルス中和抗体、脳脊髄液中の麻疹ウイルス中和抗体が持続して検出され、麻疹ウイルス特異的抗原刺激が持続しているものと考えられる。麻疹ウイルス特異的刺激における細胞内 γIFN の産生 T 細胞反応は、対照サルと比較して高いが減少傾向を示している。［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 16 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 1.8 倍、小脳で 1.4 倍、脳幹で 1.6 倍に増加し、投与群のアシアロ GM1 は非投与群に比べ、大脳で 2.8 倍、小脳で 2 倍、脳幹で 1.6 倍に増加した。今回のマウスは投与群が 9.6 ヶ月齢、非投与群が 7.9 ヶ月齢でもともとの蓄積量に差があった為、NOEV の効果を示すことができなかったと思われる。［滝本一広，鈴木義之（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　各実験動物の ACE2 に対する SARS-CoV 感受性について

アンギオテンシン変換酵素（ACE）2 は SARS-CoV のレセプターであることが報告されている。既に報告のある動物に加え、ネコ、フェレットなどの ACE2 の配列を決定し系統樹解析を行ったところ、各動物種の ACE2 が大きく 4 つのクラスターに分かれた。ヒト、ネコ、フェレット、マウスについて ACE2 発現細胞を作成し、SARS-S VSV pseudotype を用いて SARS-CoV S 蛋白との親和性を調べたところ、ヒト、ネコ、フェレット、マウス、ラットの順で 24 時間後の GFP 陽性細胞数が多かった。また、SARS-CoV 感染実験でも、同様の結果が得られた。以上のことから、実験動物の SARS 感受性には違いがあり、ネコやフェレットの感受性が高いことが予想された。［座本　綾、山田靖子、福士秀悦・森川　茂（ウイルス第一部）］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌 上 発 表

I-1　欧文発表

1)　Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. (2006)：LC16m8, a highly attenuated vaccinia virus vaccine lacking expression of the membrane protein B5R, protects monkeys from monkeypox. J Virol. 80:5179-88.

I-2　和文発表

1)　平井明香 (2006): マラセチアの菌学．ViVeD, Vol.2:199-202.
2)　山田靖子(2006): 動物実験と労働安全衛生：実験動物からヒトへの感染を防御するには。実験動物と環境、14（2)、155-162.　及び実験動物技術、41（2)、58-62.
3)　山田靖子（2007）：サルの感染症について―総論―。LABIO21、27、13-16.

Ⅱ．学　会　発　表

II -1　国内学会

1)　池 郁生、青木弘良、加瀬 廣、森川 茂、滝本一広、吉木 淳、山形 豊：マウス微量血清を用いた抗体アイソタイプのマイクロ流体チップによる検出。第 53 回日本実験動物学会総会、平成 18 年 5 月、神戸。
2)　山田靖子、小原　徹：動物実験の現場におけるアレルギー及び人獣共通感染症について。第 53 回日本実験動物学会総会、平成 18 年 5 月、神戸。
3)　座本　綾、福士秀悦、田口文広、森川　茂、山田靖子：フェレット ACE2 と SARS-CoV　S 蛋白質の親和性の解析。第 54 回日本ウイルス学会、平成 18 年 11 月、名古屋。

4)　山田靖子、田原口元子、座本　綾、平井明香、滝本一広：マウス肝炎ウイルスの流行株分離の実例。第 32 回日本実験動物技術者協会関東支部懇話会、平成 19 年 2 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			村山庁舎		
			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	0/283	0/2	0/10	0/189	0/72	0/96
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/283	0/2	0/10	0/189	0/72	0/96
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	0/283	0/2	1/10	40/189	0/72	0/96
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	4/283	0/11	24/55	55/189	1/72	48/96
腸粘膜肥厚菌	Citrobacter rodentium	培養	0/283			0/189		
肺パスツレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/283			0/189		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/283			0/189		
肺マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養･血清反応	0/283			0/189		
ウサギパスツレラ	Pasteurella multocida	培養		0/11			0/72	
気管支敗血症菌	Bordetella bronchiseptica	培養		0/11	0/55		0/72	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	0/283	0/2	0/10	0/189	0/72	0/96
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus(MHV)	血清反応	0/283			0/189		
エクトロメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/106			0/78		
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス	Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)	血清反応	0/106			0/48		
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/283					
スピロヌクレウス（ヘキサミタ）	Spironucleus muris (Hexamita muris)	鏡検	0/283					
ネズミ盲腸蟯虫	Syphacia spp.	鏡検	0/283					
ネズミ大腸蟯虫	Aspiculuris tetraptera	鏡検	0/283					
嚢尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検･肉眼所見	0/283					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/283					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/283					
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 1－5 類感染症（平成 15 年 11 月 1－5 類に類型が変更された。それまでは 1－4 類感染症）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感染症危機管理対策上、極めて重要である。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：事務取り扱い　岡部信彦センター長）

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、ノロウイルスの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：木村博一室長）

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。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。 また、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、新規検査法の開発研究なども行っている。

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）
- 厚生労働省厚生科学審議会生活環境水道部会委員
- 内閣府食品安全委員会専門委員（肥料・飼料等専門調査会委員・緊急時対応専門調査会専門委員・微生物ウイルス専門委員）
- 農林水産省食料・農業・農村政策審議会臨時委員
- 厚生労働省地域保健対策検討会委員（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
- 厚生労働省健康局エイズ動向委員会委員
- 日本学術会議連携委員
- 厚生労働省厚生科学審議会臨時委員（健康危機管理部会委員）

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

厚生労働省新興再興感染症研究事業として「効果的な感染症発生動向調査のための国及び県の発生動向調査の方法論に関する研究」(主任研究者　谷口清州)を組織し、感染症サーベイランスの在り方について研究を行い、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、大日康史、菅原民枝、中島一敏、重松美加、安井良則、多田有希、山下和予、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。
［多田有希、安井良則、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)］

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、救急外来初診時の症状、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、１０月から全自動で稼働しており、その情報を保健所、県庁にも提供し、情報の早期の共有化に貢献した。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を全自動で 8 月から運用し、院内感染が広がる前に発

生阻止に貢献している。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、東南アジア諸国、あるいは中国や韓国に紹介されている。
［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 2004 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て以来、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・Mary Andrus・Jonathan Edwards（CDC）］

5. 麻疹発生ＤＢの構築・運用

茨城、千葉での麻疹流行を受けて麻疹疑い症例の登録を行う麻疹発生 DB を構築、運用した。
［大日康史、菅原民枝 、上野久美 、多屋馨子 、安井良則 、西藤なるを、砂川富正 、岡部信彦］

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。特に、首都圏、福岡県、仙台市において世界で最も精密なモデルを開発し、新型インフルエンザの流行拡大に関しての現実的なイメージを地図上で表現し関係者及びマスコミを通じて国民に提供した。 (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、菅原民枝、田中政宏、安井良則、重松美加、宮城裕人］

2. バイオテロ対策の数理モデルの開発

数理モデルをバイオテロに使用される可能性のある感染症、特に天然痘と狂犬病に関して応用し、そこでの公衆衛生対応について事前的に評価した。またその結果を地図上で表現し、より現実的に被害の探知、地域的な拡散を検討した。天然痘の数理モデルは天然痘対応指針の改訂の議論に提供した。
［大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦］

3. バイオテロ対策指針の開発

「生物テロに使用される可能性の高い細菌・ウイルス等による感染症の蔓延防止、予防、診断、治療に関する研究班」主任研究者（佐多徹太郎）における臨床小班とともに、臨床医のためのガイドラインを策定し、ホームページを開発した。
［谷口清州、松岡静香、佐多徹太郎（感染病理部）］

4. 感染症情報の発信に関する研究

厚生労働科学研究費補助金　地域健康危機管理研究事業「健康危機管理情報の網羅的収集/評価および統合/提供に関する調査研究」（主任研究者：緒方裕光）の一環として、感染症の情報発信について検討した。サーベイランスなどにより得られた感染症情報を対策につなぐためには、正確で迅速な情報の発信は不可欠である。多くの人がメディアを通して情報を得ていることから、メディア（情報発信する人々）との適切なコミュニケーションが必要であり、この実践を行った。これにより、メディアやその情報を受け取る人々が求めている情報が何かを知ることもできた。今後もよりよい方策を検討していく。
［岡部信彦、谷口清州、多屋馨子、多田有希、安井良則、田村優子］

5. バイオテロ防止におけるバイオリスク管理、教育、訓練の方法論に関する研究

厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業「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」（主任研究者：杉山和良）の一環として、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とバイオセーフティの融合によるリスク管理における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の改良などを行った。また、地方衛生研究所の技術研修におけるバイオセキュリティ概論のプログラムの試作を行

った。
［重松美加、安藤秀二（ウイルス第一部)、杉山和良（バイオセーフティ管理室)］

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。
［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
　16 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。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、厚生労働省健康局結核感染症課、16 大都市・特別区衛生主幹部局］

3.　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)］

4.　手術部位感染の疫学に関する研究
　日本環境感染学会の学会事業である JNIS（Japanese Nosocomial Infections Surveillance）の一環として、院内感染の中でも発生の影響が特に大きい手術部位感染に関して、医療機関で行われるサーベイランスのデータを集積し集計を行い、各施設へのフィードバックを実施した。さらに、手術部位感染のリスク因子に関する研究的解析を行い、学会報告した。
［森兼啓太、日本環境感染学会 JNIS 委員会］

5.　透析施設における C 型肝炎の伝播防止に関する研究
　厚生労働科学研究班「透析施設における C 型肝炎院内感染の状況・予後・予防に関する研究」（主任研究者：東京女子医科大学・秋葉隆教授）の分担研究者として、世界における透析関連感染のデータベース調査や感染防止ガイドラインの調査を行なった。その知見に基づき、日本透析医学会などによる透析関連感染防止ガイドラインの改訂作業に協力した。
［森兼啓太、吉田真紀子、満田年宏（横浜市立大学)、操華子（国際医療福祉大学)］

6.　リケッチア症サーベイランスの評価
　新興・再興感染症研究事業「リケッチア感染症の国内実態調査および早期診断体制の確立における早期警鐘システムの構築」（主任研究者　岸本寿男、分担研究者　岡部信彦）により、熊本県、宮崎県の皮膚科医におけるつつが虫病、日本紅斑熱のサーベイランス認知度および、2005 年における診断・届出の現状を調査し、学会発表、および論文発表を行った。
［松井珠乃、佐藤弘、岡部信彦］

7.　医療機関の職員における麻疹予防対策の現状調査
　厚生労働科学研究医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「ワクチンの安全性向上のための品質確保の方策に関する研究」（主任研究者　下田 智久　分担研究者　岡部信彦)、および、「予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究」（主任研究者　岡部信彦）により、熊本県の医療機関の職員における麻疹予防対策の現状調査を行い、現場へ注意喚起をするとともに論文発表を行った。
［松井珠乃、中島一敏、大日康史、菅原民枝、多屋馨子、岡部信彦］

8.　乳幼児施設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、大阪府内 4 施設、愛媛県内 4 施設の合計 8 保育施設における、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、近藤弘一、岡部信彦、谷口清州］

9. 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）］

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）「性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究（主任研究者　小野寺昭一）」の分担研究として、岐阜県、千葉県、兵庫県、石川県でＳＴＤの全数把握を実施した。また、そこでの発生状況を現行の STD 発生動向調査で報告されている５疾患に関して発生動向調査と比較し、解析した。定点の妥当性、信頼性を検討した。
［岡部信彦、多田有希、大日康史］

11. 性感染症（STD）発生動向に関する研究
厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業「性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究」（主任研究者：小野寺昭一）の一環として、感染症法に基づきサーベイランスが実施されている性器クラミジア感染症、性器ヘルペス、尖型コンジローマ、淋菌感染症（以上定点把握）及び梅毒（全数把握）の発生動向を解析した。また、定点把握疾患については、地域毎の定点数や診療科（産婦人科、産科、婦人科、泌尿器科、皮膚科、性病科）についての検討も行い、今後の定点設計の方法について考察を行った。
［岡部信彦、多田有希、宮城裕人、阿保満、鈴木智之、五十嵐正巳］

12. 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、2006 年 4 月号：麻疹・風疹、5 月号：HIV/AIDS、6 月号：腸管出血性大腸菌感染症、7 月号：カンピロバクター腸炎、8 月号：サルモネラ症、9 月号：Ｂ型肝炎、10 月号：結核、11 月号：インフルエンザ、12 月号：ジフテリア、2007 年 1 月号：マラリア、2 月号：マイコプラズマ肺炎、3 月号：狂犬病である。
［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、木村博一、井上栄、渡邊治雄（副所長、細菌第一部）、寺嶋淳・泉谷秀昌（細菌第一部）、倉根一郎・岸本寿男（ウイルス第一部）、脇田隆字・米山徹夫・鈴木哲朗（ウイルス第二部）、田代真人・小田切孝人（ウイルス第三部）、荒川宜親・新谷三春・高橋元秀・小宮貴子・佐々木次雄・見理剛（細菌第二部）、遠藤卓郎・大前比呂志（寄生動物部）、小林睦生（昆虫医科学部）、今岡浩一・山田章雄・井上智（獣医科学部）、佐多徹太郎（感染病理部）、森　亨・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・北島智子（企画調整主幹）、宮村達男（所長）、吉倉廣（元所長）、金成由美子・滝本浩司・高山研・三木朗・井上隆弘・仲庭裕司・小島三奈（厚生労働省）］

Ⅳ．予防接種ならびに予防接種で予防可能疾患における今後の感染症対策に関する研究

1. 水痘、帯状疱疹、ムンプスに関する研究
(1) 水痘、帯状疱疹、ムンプス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。2006 年度は、上記調査結果の回収、集計、解析を行った。
［多屋馨子、谷口無我、牧下大和、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) 水痘ワクチンに伴う水痘-帯状疱疹ウイルスに対する血清抗体価陽性率の推移に関する研究

水痘ワクチン導入前、導入直後、近年にわけて、水痘-帯状疱疹ウイルスに対する抗体保有率を年代別に検討し、水痘ワクチンの日本の水痘疫学への影響について検討した。

［上野久美、多屋馨子、佐藤　弘、岡部信彦］

2.　麻疹、風疹ワクチンに関する研究

(1) 麻疹の地域流行の原因ならびに今後の対策に関する研究

茨城県南部、千葉県を中心として発生した麻疹の地域流行に際して、自治体への対策支援に加えて、麻疹の流行に関する調査研究を行った。

［松井珠乃、阿保　満、鷲見　宏、多屋馨子、上野久美、中島一敏、安井良則、岡部信彦］

(2) 2006 年度第 2 期麻疹・風疹ワクチン接種に関する全国調査－2006 年 10 月 1 日現在中間評価－

2006 年 4 月 1 日から、麻疹風疹混合ワクチン(以下、MR ワクチン)を用いた定期接種が可能となり、同年 6 月 2 日からは麻疹及び風疹ワクチンの 2 回接種が定期接種に導入、開始された。我々は、全国の市町村（特別区）の現状を把握するために、初年度の第 2 期麻疹・風疹ワクチン接種率に関する調査を 2006 年 10 月 1 日現在と、2007 年 3 月 31 日現在の 2 回にわたり、全国 1,843 市町村（特別区）を対象とした往復はがきによる質問票調査を計画･実施した。1 回目の中間評価として実施した 2006 年 10 月 1 日現在の第 2 期麻疹･風疹ワクチン接種率では、有効回答数 1,455 (78.9%)で、2006 年 10 月 1 日現在の第 2 期対象者における麻疹を含むワクチンの接種率は 29.4%、同様に風疹を含むワクチンの接種率は 29.9%であった。2006 年 10 月 1 日現在の第 2 期麻疹・風疹ワクチンの接種率は全国的に非常に低く、2 回接種開始初年度の接種率は、積極的な接種勧奨を実施しなければ、低いまま次年度を迎えることが懸念された。2007 年 5 月に、2007 年 3 月 31 日時点の今年度最終評価の実施を予定した。

［上野久美、多屋馨子］

(3) 麻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］

3.　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

(1) 感染症発生動向調査に基づく急性脳炎発生動向ならびに特徴に関する研究

2005 年第１週～第 52 週、2006 年第 1 週～第 52 週に診断された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。症例は、2005 年 188 例(男性 108 例、女性 80 例)、2006 年 159 例(男性 80 例、女性 79 例)で、16 歳未満の報告数は 2005 年 109 例(58%)、2006 年 105 例(66%)であり、中でも 2005 年は 1 歳児が 20 例と最も多く、2006 年は 0 歳児と 1 歳児がそれぞれ 17 例と同数で最多であった。2 年間で 1 例の報告もない自治体もあり、特定の医療機関からのみの報告に偏っている可能性が否定できないことなどから、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、多田有希、安井良則、多屋馨子、岡部信彦］

(2) 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

2005 年に引き続き、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］

4.　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 3 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］

5. DPT ワクチン接種間隔に関する研究

松山市、金沢市、堺市、牛久市、西宮市医師会等との共同で、DPT ワクチン接種間隔に関する検討を行った。3−8 週間隔をすぎて接種している者の割合が多く、8 週間を過ぎると任意接種となる行政措置を実施すると、接種率が減少する可能性が高く、検討が必要である。

［多屋馨子、上野久美、安井良則、近藤弘一(松山市)、越田理恵(金沢市)、藤井史敏(堺市)、本多めぐみ(牛久市)、西本潤司(西宮市医師会)］

6. 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。また、ワクチン需給予測プログラム開発事業において MR2 回接種制度移行に伴う麻疹あるいは風疹の単味ワクチンの定期接種の中止の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］

7. ワクチン予防可能疾患における予防接種の費用対効果分析

ワクチン予防可能疾患における予防接種の費用対効果分析を広範囲に行っている。対象は、インフルエンザ、水痘、デング熱と多岐にわたる。インフルエンザに関しては、高齢者における予防接種公費補助の効果および抗ウイルス剤の費用対効果について検討した。水痘に関しては、松本及び大阪での流行に関して、ワクチンの有効性、ワクチン不全、軽症化も含めて検討した。また、化学や環境等幅広い費用対効果分析を行っているリスク研究会において、医療・公衆衛生分野を代表してその研究状況、政策への応用について報告し、そのアプローチの違いについて検討、研究交流を行った。また、環境省の懇談会においてデング熱に対するワクチン需要からその疾病負担を予測した。

［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。

2005 年沖縄県で夏期のインフルエンザ流行が確認されたのを受けて、2006 年全国の夏期におけるインフルエンザ流行の有無に関して、感染症発生動向調査データを用いて検討した。全ての都道府県で 2005/06 冬期のインフルエンザ流行の後、14〜15 週まで急速に報告症例は減少したが、その後多くの道府県において症例数の増加が確認された。16 週以降の流行株は冬期と異なり、殆どが B 型であった。1/定点・週以上の小流行が、6 月には 17 道県で、7 月には 2 県で報告された。6 月以降のインフルエンザ活動が最も大きかったのは沖縄県で、続いて北海道・北東北であった。夏期流行の原因は不明であるが、ワクチン接種半年以降の効果が不確定であることからも、今後の注意深い監視が必要と考える。

［中島一敏、安井良則、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（その後は、政策創薬総合研究事業）「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 18 年度にはヒューマンサイエンス振興財団より研究成果等普及啓発事業費を得て、東京大学医科学研究所において市民公開講座「海外渡航での感染症のリスクに備えるには？」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、平成 19 年 1 月には従来の著者の大幅な見直しを行い、「寄生虫症薬物治療の手引き 2007 年改訂第 6.0 版」として印刷版および PDF 版を発行した。これは、日本寄生虫学会、日本臨床寄生虫学会、日本感染症学会の会員など、本分野に関係する人々に広く配付した。

［木村幹男］

10. トラベルワクチンの適切な接種方法に関する研究

厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業「海外渡航者に対する予防接種のあり方に関する研究」（主任研究者：尾内一信）の一環として、渡航者への適切なワクチン接種を含めた予防啓発や診療に役立てる目的で、感染症法の対象疾患のうち、ワクチンで予防可能な 11 疾患の国外感染例の報告状況を解析した。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から、日本居住者の渡航地別罹患率の算出を行った。

［岡部信彦、多田有希、上野久美、多屋馨子］

11. トラベルワクチンで予防できる疾患の認知状況に関する研究

厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業「海外渡航者に対する予防接種のあり方に関する研究」（主任研究者：尾内一信）の一環として、最近渡航を経験した者、もしくは、渡航を予定している者を対象に、ワクチンにより予防可能な 12 疾患の認知状況及び感染症情報の入手方法についてアンケート調査を実施し、ワクチン接種を含む予防策について啓発を行うべき対象者や方法を検討した。この結果等を踏まえ、当該研究班では、次年度に、予防啓発のための HP 及びパンフレットを作成する予定である。

［岡部信彦、多田有希、鈴木智之、菅原民枝、大日康史］

12. 海外在留邦人のワクチン接種および罹患状況に関する調査

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」（主任研究者：尾内一信）の一環として実施された、JICA 派遣者および在留邦人を対象に実施されたアンケート調査結果の集約および解析に技術的支援を行った。

［重松美加］

Ⅴ．病原体等の研究

1. エンテロウイルスの病原性に関する研究

エコー16 株をモデルにエンテロウイルスの病原性に関する研究を行った。最近の流行株と標準株との性状、および遺伝子配列特に 5UTR、３UTR の違いを調べた。

［荒木和子、多屋馨子、岡部信彦］

2. 発疹症の病因ウイルスの同定

小児における流行性発疹症の病因ウイルスの同定を行った。a. 保育園における流行例：発熱および発疹を主症状とする１園児の糞便を検索した結果コクサッキーA9 のウイルスゲノムが検出された。b. 手足口病：発疹症状が激しい患者であり、また検査センターで同定不能であった検体を調べた結果、コクサッキーA16 のウイルスゲノムが検出された。標準株との相同性が低い株であった。

［荒木和子、多屋馨子、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 接種後のポリオウイルス（PV）の排出を血清型別に real-time PCR で調べた。OPV 接種した一幼児（1 歳 6 か月）の糞便を接種前日から 35 日後まで採取し、対象とした。ウイルスの排出は接種後 1 日から始まり、7-9 日をピークとし、その後急速に減少した。PV2 型が最も優位であった。15-24 日の排出は見られず、また 25 日以降の排出は断続的であったが、排出は 35 日まで続いた。PV１，3 型は接種後 2-7 日に少量の排出があった。調査期間中に、軽度の気道症状および発熱等があり、糞便からアデノウイルス 2 型を検出した。アデノウイルスの排出量を real-time PCR で調べた結果、排出期間は OPV 接種後 14 日をピークとした 7-23 日であり、臨床症状と一致していた。

［荒木和子、多屋馨子、松野重夫、岡部信彦］

4. C 型肝炎ウイルス（HCV）複製に関与する宿主因子の同定と機能解析

HCV の複製及び感染性に重要である NS3 と結合する宿主因子を単離した。単離した宿主因子は、小胞体とゴルジ体間の輸送に関与していることが既に報告されており、HCV の複製に重要な機能を果たすことが示唆された。NS3 と結合する宿主因子は免疫沈降法により直接的な結合が認められた。また、siRNA による細胞内 HCV 複製の阻害効果が得られた。同定した宿主因子による感染性への影響を IFH1 株を導入したヒト肝癌細胞を用いて、Taq-manRT-PCR 法および Core-ELISA 法で検討した。

［浜本いつき、村上恭子・勝二郁夫（ウイルス第二部）］

5. ロタウイルスの中枢神経系合併症（脳髄膜炎）に関する研究

ロタウイルスに合併する脳炎や脳脊髄炎の病態には不明な点が多い。今回、G1P[8]ロタウイルス胃腸炎に合併した脳脊髄炎患者から検出したウイルスについて、病原性に強く関与するといわれる VP4 と VP7 遺伝子に関する解析を行った。その結果、両遺伝子の特定の場所にアミノ酸置換が見られ、この置換が脳炎などの病態に関与している可能性が示唆された(Scand J Infect Dis., in press)。

［木村博一、多屋馨子、谷口清州、岡部信彦、後藤珠子・

桃井真理子（自治医科大学小児科）、大金映子（栃木県保健環境センター）］

6. 胎便吸引症候群(Meconium Aspiration Syndrome, MAS)と血清サイトカインに関する研究

胎便吸引症候群（MAS）は、重篤な肺炎・肺障害を引き起こすことが知られているが、これらの病態には不明な点が多い。そこで、MAS 児における血清サイトカインプロファイルに関する研究を行った。その結果、TNF-α、IL-1βのような炎症性サイトカインとある種のケモカイン（IL-8、MIP-1β）が有意に MAS 児血清で上昇していることが明らかになった（Pediatrics, in press)。

［岡崎薫・西田朗（東京都立八王子小児病院新生児科)、野田雅博（ウイルス第三部)、加藤政彦（群馬県衛生環境研究所)、谷口清州、木村博一］

7. High mobility group box-1 (HMGB-1)と新生児感染症に関する研究

HMGB-1 は、感染症のようなストレスに対し、種々の免疫細胞などから産生され、炎症性サイトカインを誘導する。そこで、新生児期における種々の感染症児の血清中 HMGB-1 に関する研究を行った。その結果、仮死児あるいは G 群溶連菌のような細菌感染症に対し、出生児早期に、より有意な血清中の HMGB-1 の上昇が見られることが明らかになった（Nenatology, in press)。

［岡崎薫・西田朗（東京都立八王子小児病院新生児科)、野田雅博（ウイルス第三部)、加藤政彦（群馬県衛生環境研究所)、木村博一］

8. RS ウイルス（RSV）と好酸球顆粒蛋白による気道上皮細胞障害に関する研究

RSV は、急性呼吸器感染症のみならず、感染喘息を引き起こす病原として認識されている。RSV による感染喘息は、遅延型発作の主な原因となる好酸球と密接な因果関係があることが推察されるが、その因果関係には不明な点が多い。そこで、RSV 感染気道上皮に対する好酸球顆粒蛋白の細胞障害に関する研究を行った。その結果、RSV 感染気道上皮（A549 細胞）は非感染細胞に比し、有意に好酸球顆粒蛋白による細胞障害が生じることが明らかになった。

［木村博一、秋山美穂、石岡大成・加藤政彦（群馬県衛生環境研究所)］

9. 麻疹ウイルスの分子疫学に関する研究

2006/07 シーズンにおいて、主に関東地区を中心に比較的大きな麻疹の流行が発生した。そこで、群馬県で検出された麻疹ウイルスの N（nucleoprotein）遺伝子に関する分子疫学解析を行った。その結果、群馬県を含む関東地域で検出されたほとんどの麻疹ウイルスの遺伝子型は D5 型で、非常に遺伝学的に相同性が高いことが明らかになった。

［森田幸雄･加藤政彦･小澤邦壽（群馬県衛生環境研究所)、野田雅博（ウイルス第三部）、多屋馨子、安井良則、岡部信彦、木村博一］

10. 新規な方法によるウイルス等の微生物除去・殺滅法の開発に関する研究

炭素繊維電極やオゾンによるインフルエンザウイルスやネコカリシウイルス（ノロウイルスの代用ウイルス）に関する新規かつ効果的な除去･殺滅法の開発を行った。

［小澤邦壽・加藤政彦（群馬県衛生環境研究所）、井関正博・鈴木大輔（三洋電機株式会社）、木村博一］

11. カキのノロウイルス汚染と食中毒事件発生に関する疫学的解析

内閣府食品安全委員会　食品健康影響評価技術研究「生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究」（主任研究者 西尾治）により、平成 18 年度に群馬県および山口県で発生した食中毒事例について疫学解析を行った。カキ関連事例以外の患者及び従業員から検出された Genogroup II の遺伝子型はすべて GII/4 であり、人から人への感染の可能性が示唆された。

［木村博一、西尾治、西田知子・岡本玲子（山口県環境保健研究センター)、吉澄志摩（北海道立衛生研究所)、森田幸雄（群馬県衛生環境研究所）、荒川美果（栃木県保健環境センター）］

12. 輸入食肉の E 型肝炎ウイルス汚染状況調査に関する研究および群馬県における野生イノシシおよび肥育豚の E 型肝炎ウイルス感染状況

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「輸入生鮮魚介類および動物生肉のウイルス汚染のサーベイランスに関する研究」（主任研究者 西尾治）により本研究を実施した。E 型肝炎ウイルス汚染に関するサーベイランスを目的とし、輸入生肉 26 検体の HEV 遺伝子検出を行ったところ全ての検体において検出されなかった。また、群馬県内の野生イノシシおよび肥育豚の HEV の浸潤状況を把握する目的で、血清中の抗 HEVIgG 抗体検査および HEV 遺伝子検査を実施した

ところ野生イノシシおよび肥育豚は一定頻度で HEV を保有していることが判明した。

［木村博一、坂野智恵子・塩野雅孝・信澤敏夫（群馬県食肉衛生検査所）、森田幸雄・小沢邦壽（群馬県衛生環境研究所）、壁谷英則・丸山総一（日本大学）］

13. 輸入食品のウイルス汚染状況に関する研究

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「輸入生鮮魚介類および動物生肉のウイルス汚染のサーベイランスに関する研究」（主任研究者 西尾治）により、二枚貝のウイルス汚染状況を調査し、安全性を評価するための基礎データの蓄積を目的とした。主に中国、韓国から輸入された二枚貝などについて、ノロウイルス、A 型肝炎ウイルスの汚染状況を調べた。中国産二枚貝に汚染度が高い傾向が認められた。HAV はすべて陰性であった。

［西尾治、田中俊光（千葉市食品衛生検査所）、木村博一、秋山美穂、菊池正悟（愛知医科大学公衆衛生学）］

14. 腸管病原性大腸菌（EPEC）の研究

日本とタイで分離された 55 株の EPEC のマイクロコロニー形成に関与する *bfpA* 遺伝子と自己凝集能を調べた。タイ株で新しい遺伝子型が見つかり、1 種類増えて 6 種類になった。タイの分離株は、標準株と同じ 2 型及び 3 型、6 型が多く、自己凝集能は非常に強かった。一方、日本の分離株は 1 型と 4 型が多く、自己凝集能は一部を除いて弱く、同じ典型的 EPEC だが病原性が弱いと思われた。

［飯田真里子、伊藤健一郎、Orn-Anong Ratchtrachenchai（タイ国保健衛生研究所）、山﨑貢（愛知県）、八柳潤（秋田県）、成松浩志（大分県）、鈴木理恵子（神奈川県）、倉園貴至（埼玉県）、蛭田徳昭（横須賀市）、磯部順子（富山県）、勢戸和子（大阪府）、金子通治（山梨県）、河野喜美子（宮崎県）、岡村登（東京医科歯科大学）］

15. 旅行者大腸菌下痢症の調査

名古屋検疫所中部空港検疫所と共同で海外渡航者下痢症における大腸菌下痢症について調査した。血清型と病原因子を調べた。旅行者下痢症といわれている ETEC の他に、凝集性付着大腸菌及び EAST1 単独保有大腸菌が多く分離された。

［伊藤健一郎、重松美加、飯田真里子、熊谷則道・原田誠・一戸邦彦・久世敏輝・吉澤慎悟・橋本迪子（名古屋検疫所中部空港検疫支所）］

16. 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

赤痢を中心に、コレラ、腸チフス・パラチフスについて、国内事例発生の際に、標準化された調査票を活用し九州・山口県地区自治体で積極的疫学調査を行った。赤痢患者数(2006 年第 1 週～第 48 週）は 438 例、国内発生数 92 例で大半がソンネ菌であった。九州・山口県地区の患者数は 62 例で、国内発生は 6 件あった。そのうち 3 件で標準調査票による調査が行われた。

上記感染症の推定原因食品を 10 年前まで遡り邦文誌から検索した。市販の生鮮野菜 18 種類、計 103 検体について調査した。

［伊藤健一郎、飯田真里子、多田有希、松崎充宏（日本海事検定協会食中毒チーム）、九州山口地区 19 自治体担当者、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. 感染症発生動向調査（患者情報）全国データの集計・解析・還元

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」（平成 15 年 11 月改正法施行、平成 17 年 4 月改正法施行）に基づき、対象疾患を診断した医師、保健所、地方感染症情報センター（都道府県、政令市に設置）と連携し、感染症発生動向調査を実施している。

感染症情報センターは中央感染症情報センターとして、全数把握疾患及び週単位定点把握疾患については毎週 1 回、月単位定点把握疾患については毎月 1 回、全国データを集計し、各自治体に還元している。また、データの内容の確認及び解析を行い、感染症週報（IDWR）や病原微生物検出情報（IASR）として情報を公開するとともに、得られた情報を地方自治体と連携して必要な感染症対策へつないでいる。

［木村幹男、多田有希、安井良則、佐藤 弘、中里篤、加藤信子、大竹由里子、松岡静香、FETP 研修生 7 期＆8 期、松井一乃、中島一敏、大山卓昭、岡部信彦］

2. 感染症週報の作成・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」（平成 15 年 11 月改正法施行、平成 17 年 4 月改正法施行）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、個々の疾患の発生動向のまとめなどを掲載し、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や投稿など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、森兼啓太、佐藤弘、谷口清州、多屋馨子、山下和予、赤塚昌江、徳永真里子、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 7 期＆8 期、松井一乃、中島一敏、大山卓昭、上野久美、田中政宏、滝本浩司（厚生労働省結核感染症課)］

3. 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確認、問い合わせ、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：2006 年 1 月－2006 年 12 月の病原体検出報告数は、病原菌検出報告（３A：地研・保健所）は 8,575 件、病原体個票は病原菌が地研・保健所 3,154、検疫所 2,504 件、ウイルス（リケッチア，クラミジアを含む）が地研 17,235 件、検疫所 6 件、集団発生病原体票は病原菌が地研 209 件、検疫所 48 件、ウイルスが地研 1,254 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌が地研 338 件、ウイルスが 11 件であった。また、感染性腸炎研究会による都市立感染症指定医療機関からの感染性腸炎患者調査票 461 件の報告を受けた。

(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 27 巻）および第 27 巻索引が編集・発行さた。

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 2002 年年報が、Japan J. Infect. Dis., 2003 Vol.56 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、木村幹男、岡部信彦］

4. 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（2006 年 5 月以降は新しい NESID の病原体検出情報システム）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掲載した（2006 年 5 月以降、新しい NESID の病原体検出情報システムで作成される定型帳票のグラフと集計表については毎日更新)。地方衛生研究所などからの速報記事を随時掲載した。また、累積データに基づく統計表とグラフおよび病原体名、疾病名から検索できる月報特集記事索引を毎月作成し更新・掲載した。

(3) インフルエンザシーズン中、ウイルス第三部へのインフルエンザウイルス情報の転送と、WHO の FluNet への日本の週別型別分離数データのアップロードを毎週行った。

(4) 地方衛生研究所と検疫所の検査情報担当者メーリングリストを更新し、毎月の予定についての連絡、システムについての連絡、ウイルス第三部から地研への 2006/07 シーズン HI 試験成績還元データアップロードの連絡、FluNet 更新のお知らせなどウイルス担当者や細菌検査担当者への情報提供を行った。

［山下和予、赤塚昌江、徳永真理子、野地元子、加藤信子］

5. 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。2006 年度は 2005/2006 年シーズンに含まれる 2006 年第 14 週〜第 30 週、2006/2007 年シーズン中の 2006 年第 45 週〜2007 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］

Ⅱ．感染症発生動向調査のシステムの改善

1. 感染症発生動向調査新システムの開発支援と稼動後

の改良

「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、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たが、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、検討するため立ち上げられた「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。新システムは、一部システムを除き、2006 年 4 月に稼動開始された。新システムでは、中央データサーバーに、感染症発生動向調査（患者情報及び病原体検出情報）にとどまらず、疑い症例支援、症候群サーベイランス、感染症流行予測調査、インフルエンザ関連死亡、インフルエンザ施設別発生状況、さらに結核登録者情報に関する複数のシステムが統合され、一元的に管理されている。

2005 年度には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が、2006 年度にはシステム稼動後の改良について引き続き検討した。

(1) 感染症発生動向調査（患者情報）システム

患者情報では、特に迅速な判断・早期対応を可能とするため、従来どおりの週 1 回の定時集計以外での情報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なった。しかし稼動開始後、通信速度が遅い、全国集計に時間を要する、保健所の登録・修正を地方感染症情報センターが迅速に把握する機能がない、届出様式に応じた入力作業ができないものがある、取得データの内容が不十分など改善を要する数々の問題点が浮かび上がってきた。これらの問題点のいくつかは運用方法による解決策、人的・時間的作業により補ってきているが、システムのより一層の改善の必要性を含め、その解決方法を検討する必要がある。今後もさらなる改良すべき点、その解決方法を検討していく。

［多田有希、安井良則、木村幹男、加藤信子、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)、灘岡陽子（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)］

(2) 病原体検出情報システム

2006 年 4 月 3 日から運用開始した感染症発生動向調査等システムの中で、病原体検出情報サブシステムについてはプログラム開発が遅れて、2006 年 5 月 8 日から段階的に運用を開始し、5 月 26 日に全機能をリリースした。そのため、前年後に引き続きユーザー試験を行ない、プログラムの検証を行なった。運用開始後も引き続き、不具合に対するプログラム修正の検証を行なっている。システム運用開始後に正式版のマニュアルとコード表を完成させ、病原体検出情報システム利用機関に公開した。

［山下和予、赤塚昌江、徳永真里子、野地元子］

(3) 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開発の一部(データ移行)が平成 18 年 7 月稼働となり、その検証および確認を行った。また、本稼働以降の当該システム障害の原因調査、対応策の検討、および修正を行った。

［北本理恵、佐藤弘、多屋馨子］

Ⅲ. 感染症発生動向調査事業に関する業務

1. 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］

2. 海外感染症情報の収集と評価

WER (WHO)、MMWR (米国 CDC)、Eurosurveillance Weekly (EU)、CDR Weekly (英国)、SCIEH Weekly Report (スコットランド)、CDI(豪州)、Lancet、N. Engl. J. Med.、J. Infect. Dis.、Clin. Infect. Dis.、 J. Travel Med.などや、電子メールでの ProMED、Outbreak Verification List (WHO、参加機関のみ) や TravelMed (国際旅行医学会、会員のみ)、あるいは、その他種々のウエブページ上での感染症情報を収集・評価し、必要な情報を関係機関に提供した。

［岡部信彦、木村幹男、多田有希、安井良則、FETP 研修生 7 期＆8 期、菅原民枝、浜本いつき、森兼啓太、大山卓昭、中島一敏、松井一乃、上野久美、大日康史、谷口清州、多屋馨子、田中政宏、重松美加］

3. 感染症流行時の情報発信

感染症情報センターのホームページ上にはフォーカスのコーナーがあり、話題となる感染症や大きく流行して

国民に大きな影響を及ぼす可能性のある感染症についての情報提供を行っている。2006 年度にはノロウイルスの大規模な流行がみられたことから、流行期間中にフォーカスのコーナーに新たにノロウイルスのコーナーを立ち上げ、ノロウイルスへの対応・予防、感染経路に関する文書を作成して掲載すると共に、期間中に毎週感染症週報に掲載されていた注目すべき感染症「感染性胃腸炎」や病原微生物情報誌のノロウイルス感染に関する速報やウイルス検出状況等の情報を適宜更新しつつ掲載し、広くノロウイルスに関する最新情報の提供を行った。

［安井良則、森兼啓太、多田有希、山下和予、松岡静香、大竹由里子、木村幹男、岡部信彦］

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 17 年度（2005 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、谷口無我、牧下大和、荒木和子、浜本いつき、岡部信彦］

2. 感染症流行予測調査結果速報の発信

平成 18 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 2006 年 11 月 30 日から 2007 年 2 月 13 日まで計 4 回、B）ブタの日本脳炎 HI 抗体保有状況を 2006 年 6 月 19 日から 11 月 25 日まで計 18 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、北本理恵、上野久美、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 18 年度版を作成した。

［多屋馨子、佐藤弘、谷口無我、牧下大和、上野久美、北本理恵、荒木和子、岡部信彦］

4. 感染症流行予測調査システムの運用

平成18年4月稼働した感染症流行予測調査システムの各自治体におけるデータ入力のサポート、およびトラブルに対する調査、対応をおこなった。

また、集計を迅速におこない、一部をホームページに公開した。

［北本理恵、佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦］

5. 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、荒木和子、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」（主任研究者：細菌第 2 部・荒川宜親部長）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」および同分担研究班：「手術部位感染症における効果的な感染症発生動向の把握と感染症リスク因子解析に関する研究」に対して横断的に担当し、解析結果のフィードバックに関するアンケート調査や、入力支援・データ提出・解析・フィードバックの流れを一元的に管理できるソフトウエアの開発に参画した。

［森兼啓太、谷口清州、岡部信彦、荒川宜親（細菌第二部）、小西敏郎・針原　康（NTT 東日本関東病院）、徳本史郎（クレヴァシステムズフィンガルリンク株式会社）、片岡　穣・溝口達也（厚生労働省医政局指導課）］

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

中国 CDC が主催する北京オリンピックにおける症候群サーベイランスの実施に関する国際会議に参加した。

［岡部信彦、大日康史］

Ⅵ．感染症情報の収集、評価及び予防対策の策定

1. 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、また作業部会において IHR2005 における core capacity requirement についての議論を行った。またバイオテロ対策やパンデミック対策において、G7+メキシコの GHSAG の会議に参加し、技術的な支援を行った。また政府間調整会議で議論を行った。ASEAN+3 における新興感染症プロジェクト、あるいは GHSAG のリスクコミュニケーション会議に参加し、国際的な対応計画の策定に協力し

た。
［中島一敏、大日康史、田中政宏、安井良則、谷口清州］

2. スリランカ感染症対策プロジェクト
スリランカにおける効果的な感染症対策に関わるプロジェクトに協力し、現地調査を行った。
［谷口清州、玉城英彦（北海道大学）］

3. 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。
［谷口清州、重松美加、多屋馨子、佐藤弘、柴田博子、岡部信彦］

4. 動物園・水族館の感染症ハンドブック作成
動物園水族館協会と共に動物由来感染症対策の一環として感染症ハンドブックを作成し、ホームページでの公開を行った(http://jdbv3.jazga.or.jp/siryo/kansen_p.pdf)。
［新井 智、福本幸夫(広島市安佐動物公園)、香山薫(伊豆三津シーパラダイス)、坂東元(旭川市旭山動物園)、高橋雅之(大阪市天王寺動植物公園事務所)、中村彰(名古屋市東山動物園)、高田真理子(海の中道海浜公園動物の森)、大阪豊(横浜市立野毛山動物園)、寺沢文男(新江ノ島水族館)、長谷川一宏(鳥羽水族館)、成島悦雄(多摩動物公園)］

5. 鳥インフルエンザの世界的流行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、大山卓昭、FETP7 期＆8 期、松岡静香、大竹由里子、谷口清州、岡部信彦］

6. 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、中島一敏、柴田博子、FETP 研修生 7 期＆8 期］

国際協力関係業務

Ⅰ．国際的調査協力及び支援

１． 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 Supplementary Immunization Activity への参加 2006．5. 18. -25.
［上野久美］

２． Botulism antitoxin supply to Korea from Japan 2006．9. 21. – 23.
［上野久美］

Ⅱ．国際研修

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、病原体情報の説明、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 8 年目となり、平成 18 年 4 月、8 期生 3 名（五十嵐正巳、高橋亮太、徳田浩一）を迎えた。平成 19 年 3 月には 7 期生 3 名（阿保満、鈴木智之、鷲見宏）が研修終了した。また平成 13 年度から継続して 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 18 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。

- 施設内麻疹集団発生事例（茨城県取手市）
- 施設内 MDRP 集団発生事例（埼玉県入間郡）
- 施設内麻疹集団発生事例（東京都西東京市）
- 施設内 VRE 集団発生事例（埼玉県入間郡）

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；4 月）、初期導入研修後期（John Kobayashi, Wanna Hanshaoworakul；7-8 月）とともに、性感染症予防対策（Kathleen Irwin；9-10 月）、感染症対策の国際的なネットワーク（Arnabd Bejtullahu；10 月）、インフルエンザ・パンデミック対策（Tim Uyeki；2 月）、院内感染の理論と実際（Mike Bell；3 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（秋田県、茨城県、埼玉県、東京都、愛知県豊田市、熊本県）での講義・討論をおこなった。

5. 感染症疫学研究

平成18年度に研修終了した7期生が以下の長期プロジェクト研究発表をおこなった。

同時に論文作成し、国立保健医療科学院健康危機管理分野特別論文として提出して、公衆衛生学修士（MPH）を取得した。

「東京都『症候群別サーベイランスシステム』の初期評価」阿保満

「バンコマイシン耐性腸球菌感染症の集団発生時におけるスクリーニング検査の実施モデル」鈴木智之

「麻しんサーベイランスの届出方式・届出基準の検討―集団発生事例調査のデータに基づいて－」鷲見宏

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。

腸管出血性大腸菌感染症サーベイランスに対する情報交換・還元

レジオネラ症の発生動向

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

麻疹症例増加に対する予防接種推奨、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・医療関係者からの予防接種対象疾患（麻疹など）、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、FETP7 期＆8 期、感染症情報センター一同］

Ⅱ．感染症危機管理研修会

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 28 日、29 日に開催した。2006 年度の事務局は、多屋馨子、佐藤弘、上野久美、山野井茂利が担当した。研修内容として、「国の健康危機管理体制について」「感染症法・予防接種法改正について」「地域保健対策について」「国際保健規則（IHR）改正について」「茨城県竜ヶ崎市保健所管内における麻しん流行への対応」「沖縄県麻疹発生全数把握事業について－沖縄県及び保健所の取り組み－」「疑い症例調査支援システム・症候群サーベイランス」「知的障害者福祉施設における腸管出血性大腸菌 O157 感染症

集団発生事例対応」「埼玉県のO157等感染症に係る疫学的原因究明事業とその実績」「感染症法における動物由来感染症」「新型インフルエンザの世界的動向」「インフルエンザ（H5N1）・医療機関の対応」「インフルエンザ（H5N1）積極的疫学調査ガイドラインについて」、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。全国の感染症担当部局、保健所、衛生研究所から百数十名の受講者があった。
［感染症情報センター一同］

Ⅲ．国立保健医療科学院による研修

1.　新興再興感染症技術研修

国立保健医療科学院による特定課程新興再興感染症技術研修を、平成18年11月6日から11月28日まで感染症研究所村山庁舎で行った。地方衛生研究所あるいは保健所において細菌検査業務に従事する中級者を対象として、細菌学の体系的な理解と新しい知識及び技術の習得を目的としている。保健所3名・地方衛生研究所13名・食肉検査所2名の合計18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、海事検定協会の協力を得て遂行された。
［伊藤健一郎、木村博一、飯田真里子］

2.　特別課程ウイルスコース

本研修は、平成18年9月5日から10月6日まで、国立保健医療科学院及び感染症研究所村山庁舎・戸山庁舎で行った。本研修は、保健所あるいは地方衛生研究所においてウイルス検査業務を担当する職員を対象としている。本研修の主な目的は、ウイルス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である。今年度は地方衛生研究所の専門職員23名が受講した。本研修は、感染症情報センターをはじめ、感染研各専門部・室、各地方衛生研究所の支援・協力を得て行われた。
［木村博一、伊藤健一郎、飯田真里子、秋山美穂］

3.　健康危機管理保健所長等研修会

第2回および第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］

Ⅳ．その他の研修の実施

1.　希少感染症診断技術向上事業に関する業務

平成18年度は対象疾患として、チクングニヤ、E型肝炎、日本紅斑熱、多剤耐性緑膿菌、ジフテリア、マラリア、結核、インフルエンザ、狂犬病の検査法・ワクチン、感染症法改正後の病原体管理が取り上げられた。研修会は平成19年2月、当感染研で2日間開催され、76地研、約105名が参加した。それぞれの疾患は獣医科学部、ウイルス第一部、ウイルス第二部、細菌第二部、ウイルス第三部、寄生動物部、感染症情報センター、ハンセン病センター等の協力により行われた。
［上野久美、多屋馨子、岡部信彦、倉根一郎（ウイルス第一部）］

2.　インフルエンザ研修

厚生労働省血液対策課主催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］

3.　ＮＢＣ災害・テロ対策研修

厚生労働科研「テロに対する医療体制の充実および評価に関する研究」（分担研究者　岡部信彦）により、DMAT研修を終了した医療機関職員に対するバイオテロ対策の研修マテリアルを作成し、研修会の講師をつとめた。
「松井珠乃、中島一敏、岡部信彦」

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。一般からの電話相談が最も多く、特に、メディアで報道された場合、電話問い合わせが殺到した。医療従事者、自治体、保健所、メディア等を含めて、年間の問い合わせ件数は、研究者1人あたり、電話約500-1000件、メール約50-100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、佐藤　弘、上野久美、稲田敏樹、伊藤健一郎、木村博一］

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た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 100 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、感染症情報センター一同］

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し用いた後の余剰血清のうち、国内血清銀行での保管の承諾が得られた血清を受け入れ、保管した。平成 18 年度に受け入れた血清は、計 3,952 本であった。
［荒木和子、佐藤　弘、谷口無我、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 1,060 本の分与を行った。
［荒木和子、谷口無我、浜本いつき、佐藤　弘、上野久美、多屋馨子、岡部信彦］

3. その他
職員血清の保管
平成 18 年職員血清、計 481 本を受け入れ保管した。
［佐藤　弘、谷口無我、荒木和子、多屋馨子、岡部信彦］

4. 保管血清の管理
［荒木和子、佐藤　弘、谷口無我、上野久美、浜本いつき、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 2006 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、上野久美、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．レファレンス業務

アデノウイルスレファレンスセンターとして全国の衛生研究所にたいして、アデノウイルスの分離状況や分離に使用した細胞などのアンケート調査を実施し 52 の衛生研究所から回答を得た。その集計を回答していただいた衛生研究所にメールで報告した。
今年度から発足したノロウイルスレファレンスセンターでは 2006～2007 年の冬季に大流行したノロウイルスの遺伝子型の調査のため､全国の衛生研究所から PCR 産物の提供を得て民間の会社に遺伝子解析を依託して調査を実施した｡全国 64 衛生研究所の協力を得て約 850 検体の解析を行った。
［岡部信彦、松野重夫、荒木和子、渡辺裕子］

Ⅴ．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］
ワクチンビジョン委員会
［岡部信彦、大日康史］
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）］
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］

Ⅵ. 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）

谷口清州
- 北海道大学大学院医学研究科非常勤講師(感染症学)

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非常勤講師（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）

木村博一
- 群馬大学医学部講師（感染症学・ウイルス学）

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
- 大阪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)

森兼啓太
- 国立看護大学校非常勤講師（感染管理学）
- 神奈川県立保健福祉大学非常勤講師（感染管理学）
- 日本赤十字看護大学非常勤講師（感染管理学）
- 北海道医療大学非常勤講師（感染管理学）
- 滋賀県立大学非常勤講師（感染管理学）

松井珠乃
- 東京大学大学院医学系研究科非常勤講師（公衆衛生学）

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

Ⅶ. 検査実施状況

	行政	研究	合計
ウイルス分離同定	0	4	4
核酸・抗原検出	0	37	37
血清反応	5	0	5
合計	5	41	46

Ⅷ. 研究員・研究生

氏　　名	身　　分	期　　間	出　　身
中村明子	客員研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東京大学
金沢　保	客員研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	産業医科大学
加藤　茂孝	客員研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	米国疾病対策予防センター
押谷　仁	客員研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東北大学大学院
西尾　治	客員研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	元職員
John M. kobayashi	客員研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	ワシントン保健局
菅原民枝	流動研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	ヒューマンサイエンス新興財団
浜本いつき	協力研究員	H18. 4. 1- H18. 9.30	大阪大学微生物病研究所
〃	流動研究員	H18.10. 1- H19. 3.31	ヒューマンサイエンス新興財団
阿保　満　（FETP）	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東京都福祉保健局
鷲見　宏　（FETP）	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	兵庫県西播磨県民局山崎健康福祉事務所
鈴木智之　（FETP）	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	産業医科大学
五十嵐正巳（FETP）	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	自衛隊舞鶴病院
高橋亮太　（FETP）	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	陸上自衛隊
徳田浩一　（FETP）	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	鹿児島県立薩南病院
中瀬克巳	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	岡山市保健所
加來浩器	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東北大学大学院
田中　毅	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	福岡検疫所
浦島充佳	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東京慈恵会医科大学
松永泰子	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	元職員
藤井達也	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	三宿病院・自衛隊中央病院
逸見佳美	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	自衛隊中央病院
島田　靖	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	日本医科大学
吉田英樹	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	大阪市保健所
森　伸生	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	関西医科大学
齋藤章暢	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	埼玉県衛生研究所
上野正浩	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	慈恵医科大学大学院
増田和貴	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東京都健康局
三村敬司	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	陸上自衛隊衛生学校
山口　亮	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	北海道庁石狩保健福祉事務所
森山和郎	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	大阪府健康づくり感染症課
鈴木葉子	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東京女子医科大学東医療センター
松舘宏樹	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	岩手県環境保健研究センター
森下高行	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	愛知県食品衛生検査所
松崎充宏	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	(社)日本海事検定協会
宗村徹也	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	横浜市食肉衛生検査所
飯田真里子	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東京医科歯科大学大学院
太田正樹	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	結核研究所
神垣太郎	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東北大学大学院

小林幹子	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東北大学大学院
登坂直規	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	東京医科歯科大学
田中幸江	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	元職員
愛木智香子	協力研究員	H18. 4. 1- H19. 3.31	(財)日本冷凍食品検査協会
小林康人	協力研究員	H18. 7. 1- H19. 3.31	東京サラヤ(株)
加藤由実	協力研究員	H18. 7. 1- H19. 3.31	東京サラヤ(株)
Yafen Cheng	協力研究員	H18. 8. 1- H18. 8.21	台湾 CDC
宮城裕人	協力研究員	H18. 9. 1- H19. 3.31	聖マリア病院
隈下祐一	協力研究員	H18. 9. 1- H19. 3.31	サラヤ(株)
野澤康平	協力研究員	H18.10. 1- H19. 3.31	三洋電機(株)
鈴木大輔	協力研究員	H18.10. 1- H19. 3.31	三洋電機(株)
別所健太郎	協力研究員	H18.11.20-H19. 3.31	(財)日本冷凍食品検査協会
井内田科子	協力研究員	H18.12. 1- H19. 3.31	内閣府大臣官房国際課
渡辺裕子	協力研究員	H18.12. 1- H19. 3.31	
岡崎　薫	協力研究員	H18.12. 1- H19. 3.31	東京都立八王子小児病院
神谷　元	協力研究員	H19. 3. 1- H19. 3.31	

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1) Ohkusa Y, Sugawara T: Cost-effectiveness analysis and its application for policy evaluation for medicine or public health. Public Policy Review, 2(1): 45-75, 2006.

2) Kawazoe A, Kin L, Shigematsu M, Barrer R, Taniguchi K, Collier N: The development of a schema for the annotation of terms in the BioCaster disease detecting/tracking system. Proceedings of the International Workshop on Biomedical Ontology in Action, 222:77-85, 2006.

3) Hitani A, Nakamura T, Ohtomo H, Nawa Y, Kimura M: Efficacy and safety of atovaquone-proguanil compared with mefloquine in the treatment of nonimmune patients with uncomplicated *P. falciparum* malaria in Japan. Journal of Infection and Chemotherapy, 12:277-282, 2006.

4) Editorial Committee of Findings of Infectious Agents in Japan: Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan, 2002. Japanese Journal of Infectious Diseases, 56(Suppl), 2003.

5) Lu Y, Iyoda S, Satou H, Satou H, Itoh K, Saitoh T, Watanabe H: A new immunoglobulin-binding protein, EibG, is responsible for the chain-like adhesion phenotype of locus of enterocyte effacement-negative, shiga toxin-producing *Escherichia coli*. Infection and Immunity, 74(10):5747-5755, 2006.

6) Iyoda S, Koizumi N, Satou H, Lu Y, Saitoh T, Ohnishi M, Watanabe H: The GrlR-GrlA regulatory system coordinately controls the expression of flagellar and LEE-encoded type III protein secretion systems in enterohemorrhagic Escherichia coli. Journal of Bacteriology, 188(16): 5682-5692, 2006.

7) Ungchusak K, Chunsuttiwat S, Breden C, Aldis W, Ueno K, Wiboolpolprasert S: International rapid mobilization of essential medicine in case of public health emergency: Lessons learned from the Botulism outbreak, 2006, in Thailand. WHO Bulletin, 85(3):238-240, 2007.

8) Konishi E, Shoda M, Yamamoto S, Arai S, Tanaka-Ｔaya K, Okabe N: Natural infection with Japanese encephalitis virus among inhabitants of Japan: a nationwide survey of antibodies against nonstructural 1 protein. Vaccine, 24:3054-3056, 2006.

9) Takeuchi K, Tanaka-Taya K, Kazuyama Y, Ito YM, Hashimoto S, Fukayama M, Mori S: Prevalence of Epstein-Barr virus in Japan: trends and future prediction. Pathology International, 56(3):2006.

10) Iida M, Yamazaki M, Yatsuyanagi J, Ratchtrachenchai OA, Subpasu S, Okamura N, Ito K: Typing of *bfpA* Genes of Enteropathogenic *Escherichia coli* Isolated in Thailand and Japan by Heteroduplex Mobility Assay. Microbiology and Immunology, 50(9):713-717, 2006.

11) Ito K, Iida M, Yamazaki M, Moriya K, Moroishi S, Yatsuyanagi J, Kurazono T, Hiruta N, Ratchtrachenchai OA: Intimin Types Determined by Heteroduplex Mobility Assay of Intimin Gene (*eae*)-Positive *Escherichia coli* Strains. Journal of Clinical Microbiology, 45(3):1038-1041, 2007.

12) Okazaki K, Nishida A, Kato M, Kozawa K, Uga N, Kimura H: Elevation of cytokine concentrations in asphyxiated neonates. Biology of the Neonate, 89:183-189, 2006.

13) Nishina A, Kimura H, Sekiguchi A, Fukumoto R, Nakajima S, Furukawa S: Lysophosphatidy lethanolamine in Grifola frondosa as a neurotrophic activator via activation of MAP kinase. Journal of Lipid Research, 47:1434-1443, 2006.

14) Sekiguchi A, Nishina A, Kimura H, Fukumoto R, Kogami M, Ishihar H ,Koketsu M: Bis-(2-amino-5-selenazoyl) ketone as a Superoxide Anion-scavenger. Biological Pharmaceutical Bulletin, 29:1404-1407, 2006.

15) Tago H, Mogi K, Kimura H, Kozawa K, Fujie K: Comparison of Fogwater Composition and Ozone Concentration Measured at Two Different Mountainous Sites by a Long-term Observation in Japan. Water, Air and Soil Pollution, 175:385-391, 2006.

16) Kimura H, Yoshizumi M, Iijima M, Tsukagoshi T, Nishimura T, Kato M, Morita Y, Tanaka R, Kozawa K, Fujita M, Kojima M, Minakami H: Tuberculosis-like Peritonitis Due to an Atypical *Mycobacterium* Infection in a Japanese Woman. Japan Journal of Infectious Diseases, 59:189-191, 2006.

17) Nakamura T, Kimura H, Kato M, Kurashige S, Wakamatsu K: A sensitive and reliable quantitation method for mouse interleukin-12 p70 based on fluorometric sandwich ELISA (FS-ELISA). Cell Biology International, 31:173-179, 2007.

18) Nishida T, Nishio O, Kato M, Chuma T, Kato H, Iwata H, Kimura H: Genotyping and quantitation of noroviruses in oysters from two distinct sea areas in Japan. Microbiology and Immunology, 51:177-184, 2007.

19) Arai H, Morita Y, Izumi S, Katagiri T, Kimura H: Molecular typing by PCR-RFLP and PFGE of *Flavobacterium psychrophilum* isolates derived from Japanese fishes. Journal of Fish Diseases, 30:345-355, 2007.

20) Kobayashi T, Kimura H, Okada Y, Inoue Y, Shinohara M, Kobayashi T, Morikawa A: Increased CD11b expression on polymorphonuclear leukocytes and cytokine profiles in patients with Kawasaki disease. Clinical Experimental Immunology, 148: 112–118, 2007.

21) Iijima A, Sato K, Yano K, Tago H, Kato M, Kimura H, Furuta N: Particle size and composition distribution analysis of automotive brake abrasion dusts for the evaluation of antimony sources of airborne particulate matter. Atmospheric Environment, 41:4908-4919, 2007.

22) Hansman GS, Oka T, Okamoto R, Nishida T, Toda S, Noda M, Sano D, Ueki Y, Imai T, Omura T, Nishio O, Kimura H, Takeda N: Detection of human sapovirus in clams Japan. Emerging Infectious Diseases, 13:620-622, 2007.

23) Boonmar S, Morita Y, Fujita M, Sangsuk L, Suthivarakom K, Padungtod P, Maruyama S, Kabeya H, Kato M, Kozawa K, Yamamoto S, Kimura H: Serotypes, antimicrobial susceptibility, and *gyr A* gene mutation of *Campylobacter jejuni* isolates from humans and chickens in Thailand. Microbiology and Immunology, 51:531-537, 2007.

２．和文発表

1) 岡部信彦: 感染症法と感染症サーベイランス. 船田久(編). 感染症診療ガイドライン, 3-10, 永井書店, 2006.4.

2) 岡部信彦: 新興感染症（SARS、鳥インフルエンザなど）. 大関武彦, 古川漸, 横田俊一郎(編). 小児の治療指針, 第 14 版, 263-264, 医学書院, 2006.5.

3) 岡部信彦: 鳥のインフルエンザとヒトへの影響. ファルマシア, 42(6):577-582, 2006.

4) 岡部信彦: 鳥のインフルエンザとヒトへの影響. 保育と保健, 12(2):43-45, 2006.

5) 岡部信彦, 橋戸円: サーベイランスから見た日本の性感染症. 小児科, 47(9):1293-1300, 2006.

6) 岡部信彦: 感染症と法律（感染症法、予防接種法、結核予防法、食品衛生法）. 河野茂, 平潟洋一(編). 微生物検査ガイド, 534-554, 文光堂, 2006.7.

7) 岡部信彦: 生物兵器による感染症. 河野茂, 平潟洋一(編). 微生物検査ガイド, 556-564, 文光堂, 2006.7.

8) 岡部信彦: 特殊な微生物検査の依頼先一覧. 河野茂, 平潟洋一(編). 微生物検査ガイド, 582-588, 文光堂, 2006.7.

9) 岡部信彦: ジフテリア. 日本小児感染症学会(編).

小児感染症マニュアル, 31-35, 東京医学社, 2006.11.
10) 岡部信彦: 輸入（外来性）感染症. 日本小児感染症学会(編). 小児感染症マニュアル, 569-585, 東京医学社, 2006.11.
11) 岡部信彦: 国家危機管理の観点から見た感染制御－わが国における感染症危機管理の現状－. 医学のあゆみ, 218(13):1058-1062, 2006.
12) 岡部信彦: （医療機関）職員に接種するワクチンについて. 感染と消毒, 13(2):121-124, 2006.
13) 岡部信彦: 麻疹・風疹（MR）混合ワクチン. 日本医師会雑誌, 135(10):2173-2177, 2006.
14) 岡部信彦: 新型インフルエンザからどう守るのか－サーベイランス実施期間の立場から－. 医学のあゆみ, 219(10):771-775, 2006.
15) 岡部信彦: 新型インフルエンザ流行に備える. 武田薬報, 447:25-30, 2006.
16) 岡部信彦: ペスト. 山口徹, 北原光夫, 福井次夫(総編集). 今日の治療指針, 2007, 132-133, 医学書院, 2007.1.
17) 横田俊平, 多屋馨子, 岡部信彦: ACIP について　－わが国の予防接種プラン策定に新しいシステムの導入を－. 日本小児科学会雑誌, 110(6):756-761, 2006.
18) 柳川洋, 岡部信彦: スギヒラタケの関与が疑われている原因不明の脳症. 1. 本邦での患者発生. 日本内科学会雑誌, 95(7):1305-1309, 2006.
19) 斉藤義弘, 岡部信彦: 呼吸器感染症をおこすウイルス感染症. 臨床と微生物, 33(増刊):595-602, 2006.
20) 加來浩器, 岡部信彦: 国際的に重要なウイルス感染症. 臨床と微生物, 33(増刊):649-655, 2006.
21) 田中政宏, 岡部信彦: 新型インフルエンザとその対策行動計画. 感染、炎症、免疫, 36(3):235-237, 2006.
22) 世古留美, 川戸美由紀, 橋本修二, 加藤昌弘, 岡部信彦: 母親の予防接種に対する認識と接種状況. 公衆衛生学会雑誌, 53(12):884-888, 2006.
23) 大日康史, 川口行彦, 谷口清州 他: 救急車搬送数による症候群サーベイランスのための基礎的研究. 日本救急医学会雑誌, 17(10): 712-720, 2006.
24) 大日康史: 新型インフルエンザの広がり方：数理モデルの応用. 臨床と研究, 83(12):16-20, 2006.
25) 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. 家畜衛生学雑誌,　32:9-11, 2006.
26) 大日康史: 医療経済学的観点からのインフルエンザの予防と治療. 公衆衛生, 70(10):772-774, 2006.
27) 児玉和夫, 菅原民枝, 大日康史: 高齢者中心の診療所における外来受診時症候群サーベイランスの検討. 島根医学, 26(2):13-19, 2006.
28) 大日康史, 菅原民枝, 谷口清州 他: パンデミック時の抗ウイルス剤およびワクチンの使用優先順位に関する調査研究. 厚生の指標, 53(8):17-24, 2006.
29) 大日康史, 菅原民枝, 多屋馨子, 上野久美, 安井良則, 岡部信彦, 砂川富正, 西藤成雄: インターネットの利用で参加できる麻疹様疾患報告システムの構築－全数報告による麻疹把握のための一歩として－. 日本医事新報, No.4292:68-72, 2006.
30) 大日康史, 杉浦弘明, 菅原民枝, 谷口清州, 岡部信彦: 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. 感染症学雑誌, 80(4):366-376, 2006.
31) 大日康史, 菅原民枝: 1 QALY 獲得に対する最大支払い意思額に関する研究. 医療と社会, 16(2):157-165, 2006.
32) 菅原民枝, 大日康史 他: 水痘ワクチン定期接種化の費用対効果分析. 感染症学雑誌, 80(3):212-219, 2006.
33) 高橋謙造, 菅原民枝, 大日康史: 麻疹における麻疹風疹混合ワクチン 2 回接種の医療経済学的評価. 病原微生物検出情報, 27(4):13-14, 2006.
34) 大日康史, 岡部信彦, 多屋馨子: 麻疹・風疹ワクチンの 2 回接種導入に伴う単味ワクチンの需要に及ぼす影響. 病原微生物検出情報, 27(4):14-16, 2006.
35) 田中政宏, 菅原民枝, 大日康史, 岡部信彦: 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施調査. 病原微生物検出情報, 27(4):17-18, 2006.
36) 谷口清州: 鳥インフルエンザの世界的現状. 医学のあゆみ, 218(10):821-826, 2006.
37) 谷口清州: 国際インフルエンザサーベイランス. 日本臨床, 64(10):1950-1953, 2006.
38) 谷口清州: 夏の胃腸炎とその対策. 東京小児科医会報, 87:48-52, 2006.
39) 谷口清州: 鳥インフルエンザ発生の現状と注意点. 成人病と生活習慣病, 36(8): 915-919, 2006.
40) 谷口清州: 新型インフルエンザパンデミックへの対応. 日本胸部臨床, 65(10): 897-905, 2006.
41) 森山和郎, 登坂直樹, 谷口清州 他: 山梨県A病院における VanB 型バンコマイシン耐性腸球菌集団分離事例. 環境感染, 21(3):168-174, 2006.
42) 谷口清州: 鳥インフルエンザと新型インフルエンザに対する対策. ICU と CCU, 30(9): 649-650, 2006.
43) 橋本修二, 川戸美由紀, 村上義孝, 多田有希, 重松美

加, 谷口清州, 泉田美知子, 永井正規: 感染症発生動向調査に基づく 2002～2004 年の罹患数推計. 日本公衆衛生誌, 53(10):794-799, 2006.

44) 谷口清州: 鳥インフルエンザから新型インフルエンザへ. 内科, 98(5):773-778, 2006.
45) 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, 泉田美知子, 永井正規: 感染症発生動向調査に基づいた警報・注意報発生法における基準値変更の影響. 日本公衛誌, 54(3):168-177, 2007.
46) 橋本修二, 川戸美由紀, 村上義孝, 多田有希, 重松美加, 谷口清州, 泉田美知子, 永井正規: 感染症発生動向うに基づく流行情報把握. 藤田学園医学会誌, 30(2):77-82, 2006.
47) 谷口清州: 鳥インフルエンザの現状と対策. 日病薬誌, 43(3):339-343, 2007.
48) 松井珠乃: FETP の活動と日常. 公衆衛生, 70:304-307, 2006.
49) 松井珠乃, 岡部信彦: 集団発生時の安全対策と危機管理. 臨床と微生物, 33: 223-227, 2006.
50) 松井珠乃: 市中における Salmonella Enteritidis 感染症集団発生　長い潜伏期が問題となった事例. 公衆衛生, 70:621-624, 2006.
51) 森兼啓太: 欧米のガイドラインとその遵守. 日本外科学会雑誌, 107(5):207-210, 2006.
52) 森兼啓太: 手術部位感染.感染制御, 2(2):150-154, 2006.
53) 森兼啓太: 手術部位感染の減少を目指して－手術部スタッフの果たす役割－. 手術医学, 27(2):110-113, 2006.
54) 森兼啓太: 血管内留置カテーテル由来血流感染の概要. INFECTION CONTROL, 15(7):668-672, 2006.
55) 森兼啓太: 隔離予防策ガイドラインの改訂. 感染制御, 2(3):253-256, 2006.
56) 森兼啓太: 日本における耐性菌の現状と基本的な予防策. 月間薬事, 48(10):1485-1488, 2006.
57) 森兼啓太: 欧米にみる感染制御の新しい流れ.医学のあゆみ, 218(13):1067-1070, 2006.
58) 森兼啓太: 術直前から術後までの患者管理と諸問題. 感染対策 ICT ジャーナル, 1(1): 26-27, 2006.
59) 森兼啓太: MRSA 保菌・感染外科患者の周術期管理のポイント. 感染対策 ICT ジャーナル, 1(1):48-51, 2006.
60) 森兼啓太: 合併症からみた術前準備. レジデントノート, 8(9):1232-1236, 2006.
61) 森兼啓太: CDC による医療関連感染アウトブレイクの調査. 感染制御, 2(4):352-356, 2006.
62) 森兼啓太: APIC:その設立から今後の展開まで. 感染制御, 2(4):301-304, 2006.
63) 森兼啓太: アジアにおける鳥インフルエンザ（A/H5H1）の状況. 病原微生物検出情報, 27(11):311-312, 2006.
64) 森兼啓太: 感染症動向 2006：耐性菌. メディカル朝日, 36(1):42-43, 2007.
65) 森兼啓太: 全国サーベイランスにみる MDRP 発生動向. 感染対策 ICT ジャーナル, 2(1):39-42, 2007.
66) 森兼啓太: SARS などの 1 類感染症患者発生時の対応. 最新医学, 62(2):268-274, 2007.
67) 森兼啓太: 新型インフルエンザについて私たちが知っておきたいこと. INFECTION CONTROL, 16(3):66, 2007.
68) 森兼啓太: 医療施設における多剤耐性菌の管理に関する CDC のガイドライン. 感染制御, 3(1):3-7, 2007.
69) 森兼啓太: 第 2 章－9　外科感染症－治療. 渡辺彰(編集). 抗菌薬臨床ハンドブック, 207-212, ヴァンメディカル, 東京, 2006.
70) 森兼啓太: IV-6 サーベイランスの種類. IV-7　NNIS の診断基準. 奥住捷子, 小栗豊子(監修). 臨床微生物の基礎知識, 224-230, メディカ出版, 東京, 2006.
71) 森兼啓太: I-2　各国の MRSA の現状と対策. 河野茂(編集). MRSA－基礎・臨床・対策－, 24-29, 医薬ジャーナル社, 大阪, 2006.
72) 阿保満: 東京都『症候群別サーベイランスシステム』の初期評価. 国立保健医療科学院, 健康危機管理分野, 特別論文, 2007.
73) 鈴木智之: バンコマイシン耐性腸球菌感染症の集団発生時におけるスクリーニング検査の実施モデル, 国立保健医療科学院, 健康危機管理分野, 特別論文, 2007.
74) 鷲見宏: 麻しんサーベイランスの届出方式・届出基準の検討　－集団発生事例調査のデータに基づいて－. 国立保健医療科学院, 健康危機管理分野, 特別論文, 2007.
75) 徳田浩一, 多田有希, 安井良則, 岡部信彦: 溶連菌感染症サーベイランス. 小児科, 47(12):1849-1853, 2006.
76) 中島一敏: 麻疹－2012 年排除（elimination）に向けて－. 小児科, 47(4):429-436, 2006.
77) 森山和郎, 登坂直規, 三村敬司, 都倉昭彦, 砂川富正, 中島一敏, 谷口清州, 岡部信彦: 山梨県 A 病院における VanB 型バンコマイシン耐性腸球菌集団分離事

例. 環境感染, 21(3):168-174, 2006.
78) 木村幹男: 第 1 章 全身疾患に精神疾患が由来する病態, 18) 感染症, 5-1. 帰国者の感染症：マラリア. 症候性（器質性）精神障害の治療ガイドライン, 精神科治療学, 21(増刊号):134-135, 2006.
79) 木村幹男: 第 1 章 全身疾患に精神疾患が由来する病態, 18) 感染症, 5-2. 帰国者の感染症：その他（ウイルス性脳炎）. 症候性（器質性）精神障害の治療ガイドライン, 精神科治療学, 21(増刊号):136-138, 2006.
80) 木村幹男: 実地医家が理解しておく外来における感染症, わが国の国際化に伴い問題となっている感染症 マラリア. メディカルダイジェスト, 55(6);44-52, 2006.
81) 木村幹男: トラベルメディスンと寄生虫疾患. 日本臨床寄生虫学会誌, 17:1-12, 2006.
82) 木村幹男，波川京子: 日本の旅行者におけるマラリア予防. 病原微生物検出情報, 28:4-6, 2007.
83) 木村幹男: シリーズ･感染症との新たな闘い 海外旅行で注意すべき感染症への対応. 日本薬剤師会雑誌, 59:175-180, 2007.
84) 木村幹男: 感染症学各論 II. 感染症法分類 －発症・病態・診断・治療－, 四類感染症 マラリア. 新感染症学下 － 新時代の基礎・臨床研究 －, 日本臨床, 65(増刊 3):236-240, 2007.
85) 木村幹男: ワクチンの最新事情と渡航者の接種. 連載を始めるに当たって. 日本医事新報, No.4316:65, 2007.
86) 木村幹男: 11 章 感染症, 赤痢アメーバ症. 大田健, 奈良信雄(編集). 今日の診断基準, 752-753, 南江堂, 2007.
87) 木村幹男: 11 章 感染症, トキソプラズマ症. 大田健, 奈良信雄(編集). 今日の診断基準, 754-755, 南江堂, 2007.
88) 木村幹男: 11 章 感染症, マラリア. 大田健, 奈良信雄(編集). 今日の診断基準, 756-757, 南江堂, 2007.
89) 多田有希: 予防接種の素朴な疑問に答えます－ワクチンで自閉症になるって本当？－. チャイルドヘルス, 9(12):28-32, 2006.
90) 多田有希: 冬の感染症－冬に流行する感染症～発生動向調査からみた流行のパターン～. チャイルドヘルス, 10(1):4-8, 2007.
91) 多田有希: トリとヒトにおける鳥インフルエンザ（H5N1）の現状 パート 1. 複十字, No.311:25, 2006.
92) 多田有希: トリとヒトにおける鳥インフルエンザ（H5N1）の現状 パート 2. 複十字, No.312:22, 2006.
93) 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 27 巻 4 号-28 巻 3 号, 2006-2007.
94) 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, Nos.416-427, 2006-2007.
95) 山下和予: 特集:インフルエンザ－我が国のインフルエンザサーベイランス. 日本臨床, 64(10):1789-1794, 2006.
96) 安井良則, 柴田仙子, 飯盛順子: 堺市の保育所における麻疹、風疹の罹患状況とワクチン接種に関する調査. 病原微生物検出情報, 27:90-92, 2006.
97) 安井良則: 予防接種について. チャイルドヘルス, 9:333-337, 2006.
98) 安井良則: 堺市の保健所、幼稚園、小・中学校における水痘、ムンプス、麻疹、風疹の罹患状況とワクチン接種に関する調査について. チャイルドヘルス, 9(5):361-372, 2006.
99) 安井良則, 岡部信彦: 通常のインフルエンザの発生動向および鳥インフルエンザにおける疫学調査について. ウイルス, 56:67-76, 2006.
100) 安井良則: 水痘，流行性耳下腺炎. 臨床と微生物, 33:691-697, 2006.
101) 安井良則，上野久美，岡部信彦: 平成 17/18 年（2005/06 シーズン）感染症発生動向調査からのインフルエンザ脳症報告について. 病原微生物検出情報, 27:307-308, 2006.
102) 安井良則: インフルエンザ流行の現状と対策. 治療学, 40:1289-1292, 2006.
103) 安井良則: 鳥インフルエンザと新型インフルエンザの展望. 総合臨床, 55:2813-2818, 2006.
104) 上野久美, 多屋馨子: ワクチンで予防できる小児の感染症 ～ワクチンの接種時期・注意点と麻疹をめぐる変化～. エキスパートナース, 22(11):24-26, 2006.
105) 上野久美: アウトブレイク. 院内感染, 1.VRE. 公衆衛生, 70(12): 967-970, 2006.
106) 上野久美, 多屋馨子: インターネットから得られる有用な感染症関連情報. 新感染症学(上)－新時代の基礎・臨床研究－, 日本臨床, 65(増刊 2):40-44, 2007.
107) 上野久美: ロタウイルスワクチンの現況. チャイルドヘルス, 10(1):30-31, 2007.
108) 新井智: 動物由来感染症. 新感染症学(上)－新時代

の基礎・臨床研究－, 日本臨床, 65(増刊 2):27-33, 2007.

109) 多屋馨子: ワクチンの最新事情と渡航者の接種　ワクチン接種の免疫学.日本医事新報, No.4323:91-97, 2007.

110) 多屋馨子: 五類感染症（定点把握）突発性発疹. 新感染症学(下)－新時代の基礎・臨床研究－, 日本臨床, 65 (増刊 3): 349-354, 2007.

111) 多屋馨子: 2006 年の麻疹流行と今後の麻疹対策について. 東京小児科医会, 25（3）:61-63, 2007.

112) 多屋馨子: サイトメガロウイルス感染症. 感染症学総論 IV 慢性化、潜伏化、再発再燃の機序, 新感染症学（上）－新時代の基礎・臨床研究－, 日本臨床, 65 (増刊 2):136-140, 2007.

113) 多屋馨子: 病態・治療 Q&A　水痘 水痘ワクチン接種の必要性についてお教えください(Q&A)**.** 臨床のあゆみ, 71:14-15, 2007.

114) 多屋馨子, 奥野良信: 微生物学　インフルエンザワクチン接種後の副反応発現時間(Q&A). 日本医事新報, No.4320:132, 2007.

115) 馬場宏一, 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, 三田村敬子: 日本小児保健協会予防接種・感染症委員会: 子育ての基本　育み、育まれた経験を次世代へ. 小児保健研究, 66(1):134-136, 2007.

116) 多屋馨子, 岡部信彦: 日本脳炎の現状と予防接種(Q&A). 日本医事新報, No.4313: 89-90, 2006.

117) 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, 社団法人日本小児保健協会予防接種･感染症委員会: 全国市町村の予防接種の実施状況　平成 18 年全国調査より. 小児保健研究, 65(6):814-821, 2006.

118) 住友眞佐美, 加藤達夫, 岡田賢司, 庵原俊昭, 宇加江進, 古賀伸子, 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・感染症委員会: 感染症・予防接種レター　予防接種制度の改正をめぐって. 小児保健研究, 65(6):846-847, 2006.

119) 多屋馨子: 【予防接種 2006】 麻疹・風疹対策と MR ワクチン. 小児保健シリーズ, 60:6-12, 2006.

120) 堀内善信, 片岡紀代, 山本明彦, 落合雅樹, 永田典代, 豊泉裕美, 多屋馨子, 岡部信彦, 高橋元秀, 倉田毅: DPT 予防接種とワクチンを巡る現状と問題点. 臨床とウイルス, 34(4):306-318, 2006.

121) 多屋馨子: アウトブレークとその対応　麻疹. 臨床と微生物, 33(増刊):657-660, 2006.

122) 多屋馨子: ICP として知っておくべきウイルス病発疹および皮膚疾患を伴うウイルス感染症. 臨床と微生物, 33(増刊):603-610, 2006.

123) 古賀伸子, 加藤達夫, 岡田賢司, 庵原俊昭, 宇加江進, 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・感染症委員会: 予防接種と副反応. 小児保健研究, 65(5):698-699, 2006.

124) 多屋馨子: 2006 年の関東地方での麻疹流行と麻疹対策. 小児科臨床, 59(9):2079-2084, 2006.

125) 多屋馨子: 麻疹風疹混合ワクチン(MR ワクチン),麻疹ワクチン,風疹ワクチンに関する定期予防接種スケジュールの改正. 臨床と微生物, 33(4):400-401, 2006.

126) 横田俊平, 多屋馨子, 岡部信彦: 米国「予防接種の実施に関する諮問委員会」 Advisory Committee on Immunization Practices(ACIP)について　わが国の予防接種プラン策定に新しいシステムの導入を. 日本小児科学会雑誌, 110(6):756-761, 2006.

127) 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: 北海道および札幌市の麻疹ゼロ作製について. 小児保健研究, 65(3):516-517, 2006.

128) 多屋馨子: 微生物学講座[1]ウイルス　麻疹. 感染制御, 2(2):139-143, 2006.

129) 多屋馨子: 麻しん風しん混合生ワクチン(MR ワクチン). 日本小児科学会, 日本小児保健協会, 日本小児科医会, 日本小児科連絡協議会ワーキンググループ(編集). 日本小児保健協会予防接種・感染症委員会委員長加藤達夫(監修). 予防接種のすべて 2006, 60-65, 日本小児医事出版社, 2006.

130) 多屋馨子: 予防接種のこつとポイント. 高原亮治, 中谷比呂樹(編). 現役行政医が書いた臨床公衆衛生ハンドブック, 154-157, 医療文化社, 東京, 2006.7.

131) 多屋馨子: 突発性発疹(HHV-6、HHV-7 感染症). 日野治子(編集). 第２版こどもの発疹のみかた急性発疹症へのアプローチ, 39-49, 中外医学社, 2006.

132) 多屋馨子: 予防接種、麻疹風疹混合ワクチン、麻疹ワクチン、風疹ワクチン. 巷野悟郎(監修). たまひよ新･基本シリーズ 初めての育児, ひよこクラブ特別編集. 株式会社ベネッセコーポレーション, 2006.

133) 多屋馨子: 第 2 章注目される感染症 6.麻疹,風疹,水痘の病態と予防. 小池和彦･森屋恭爾, 猪狩淳(編集), 国公立私立大学病院臨床検査技術者研修協議会編集協力. 臨床微生物学（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－臨床病理レビュー特集号, 臨床検査 Year book 2006, 67-74, 2006.

134) 岡部信彦, 多屋馨子: 2006 予防接種に関する Q&A 集. 岡部信彦, 多屋馨子(監修). 社団法人細菌製剤協会. pp1-98, 2006.9.

135) 飯田真里子, 朝倉宏, 牧野壮一, 岡村登, 伊藤健一郎: 我が国における腸管病原性大腸菌 O157:H45 の付着関連遺伝子 *eae*, EAF, *bfpA* の保有状況. 感染症学雑, 80(5):531-533, 2006.

136) 野村裕子, 新井茉莉, 加藤直子, 森田幸雄, 木村博一, 中嶋隆: 市販の鶏挽肉から分離した Sallmonella の薬剤耐性遺伝子の接合伝達性. 医学と生物学, 150:281-286, 2006.

137) 木村博一, 森田幸雄, 太田郁朗, 高齋進也, 小澤邦壽: オゾン水による微生物の殺滅. 臨床と微生物, 33(3): 281-285, 2006.

138) 加藤政彦, 山口貴史, 鈴木雅登, 丸山健一, 林泰秀, 木村博一: ヒト好酸球および好中球の機能調節における protein kinase (PK) C-zetaの役割の相違. 呼吸, 25:S34- S35, 2006.

139) 木村博一, 野田雅博, 塚越博之, 加藤政彦: ウイルスの顕微鏡検査法と培養検査法. 臨床と微生物, 33:569-574, 2006.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Morikane K: Surgical site infections surveillance for the decrease of SSI. The 10 th Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases. Fukuoka, Japan, 2006.12.5.

2) Ohkusa Y, Sugawara T: Pandemic Plan in Japan and Enhanced Surveillance System. Healthy Pepole. 2007, 2007.3.

3) Ohkusa Y, Kikuchi K, et al.: Examination of Syndromic Surveillance for Early Detection of Nosocomial Outbreaks. Syndromic Surveillance Conference. 2006.10.

4) Ohkusa Y, et al.: An Examination of Cost-Effectiveness Analysis of MS/MS New Born Screening in Japan. International Society for Neonatal Screening. 2006.9.

5) Ohkusa Y, Maeda H, et al.: Evaluation of Pandemic Plan using Individual Based Model. The Joint Meeting of Japan and Korea Biological Mathematics. 2006.9.

6) Ohkusa Y: Syndromic Surveillance during the FIFA World Cup 2002 in Japan and experiments thereafter, Preparing for Beijing 2008 Olympic Games. Workshop on Public Health Safety and Emerging Response. 2006.

7) 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. 12th International Congress on Infectious Diseases. Lisbon, Portugy. 2006.6.

8) Ohkusa Y, Maeda H, Aihara K: Application of individual based model (ibm) to Pandemic Flu in Japan. Transmission Infectiousness Disease Modeling. 2006.2.

9) Ohkusa Y: Some Experimental Syndromic Surveillance in Japan for Early Detection on of Biotterorism Attack. International Conference of Bioterrorism Attack, KCDC. 2006.12.

10) Ohkusa Y: Proposition of Real Data individual based model-Application to Pandemic Planning- Joint meeting of Imperial College, HPA and NIID. 2006.

11) Ohkusa Y: "Experimental Syndromic Surveillance in Japan". Joint Meeting with KCDC. 2006.9.

12) Abo M, et al.: Measles Outbreak in Junior and Senior High School, Ibaraki, Japan, 2006 (poster presentation). TEPHINET Global Scientific Conference. Brazil. 2006.

13) Kobayashi M, et al.: E. coli O157 VT1VT2 Outbreak in two nursing homes, Japan, 2005 (oral presentation). TEPHINET Global Scientific Conference. Brazil. 2006.

14) Ota M, et al.: Indigenously Acquired Cholera Cases ? Japan, 2000 January ? 2006 February (poster presentation). TEPHINET Global Scientific Conference. Brazil .2006.

15) Shigematsu M, Ohkusa Y, Taniguchi K: Two Years of Surveillance on Over-the-Counter Medication Sales Data in Japan. 12th International Congress on Infectious Diseases. Lisbon, Portugy. 2006.6.

16) Ando S, Shigematsu M, Ogawa M, Kishimoto T: Trend of Tsutsugamushi Disease in Japan. 12th International Congress on Infectious Diseases. Lisbon, Portugy. 2006.6.

17) Shigematsu M, Yamashita K, Okabe N: Travel Associated Shigellosis from the National Infectious Disease Surveillance in Japan, 1999-2005. 12th International Congress on Infectious Diseases. Lisbon, Portugy. 2006.6.

18) Takagi H, Shigematsu M, Taniguchi K, Tomita Y,

Shinohara K, Sugiyama K: Efficacy of Common Detergents in SARS Coronavirus and Influenza Virus Disinfection. 12th International Congress on Infectious Diseases. Lisbon, Portugy. 2006.6.

19) Takagi H, Ito K, Shigematsu M, Shinohara K, Sugiyama K: The Handling Method and Training Plan for Sample Possibly Contaminated Anthrax Spore. 49th Annual American Biological Safety Association Meeting. Boston, USA. 2006.10.

20) Shigematsu M: Risk Assessment for Surveillance and Preparedness. The Third International Symposium on Transmission Models for Infectious Diseases. Kyoto, Japan. 2007.1.

21) Kawazoe A, Jin L, Shigematsu M, Barrero R, Taniguchi K, Collier N: The development of a schema for the annotation of terms in the BioCaster disease detecting/tracking system. KR-MED 2006 Second International Workshop on Formal Biomedical Knowledge Representation: "Biomedical Ontology in Action". Baltimore, USA. 2006.11.

22) Fujii T, Kaku K, Jelinek T, Kimura M: Malaria and mefloquine prophylaxis in Japan Ground Self Defense Force members deployed in East Timor for a peacekeeping operation. Northern European Conference on Travel Medicine. Edinburgh. 2006.

23) Namikawa K, Kikuchi H, Kato S, Takizawa Y, Konta A, Iida T, Kimura M: Problems of malaria prevention in Japanese travelers. Joint International Tropical Medicine Meeting 2006 and 6th Asia-Pacific Travel Health Conference. Bangkok. 2006.

24) Iyoda S, Saitoh T, Lu Y, Satou H, Shimuta K, Ohnishi M, Terajima J, Watanabe H: Coordinate expression of virulence-related genes under the control of GrlR/GrlA regulatory system in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. THE 41ST JOINT CONFERENCE US － JAPAN COOPERATIVE MEDICAL SCIENCE PROGRAM CHOLERA PANEL. Gifu, Japan. 2006.11.

25) Lu Y, Iyoda S, Satou H, Satou H, Toma C, Saitoh T, Ohnishi M, Terajima J, Watanabe H: Identification and characterization of a new adhesion/immunoglobulin-binding protein, EibG, in LEE-negative Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. THE 41ST JOINT CONFERENCE US － JAPAN COOPERATIVE MEDICAL SCIENCE PROGRAM CHOLERA PANEL. Gifu, Japan. 2006.11.

26) Iyoda S, Koizumi N, Satou H, Lu Y, Saitoh T, Ohnishi M, Watanabe H. The GrlR-GrlA regulatory system coordinately control the expression of flagellar and Lee-encoded type Ⅲ protein secretion systems in enterohemorrhagic *Escherichia coli* . 6th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections. Australia. 2006.10.

27) Yasui Y: Infectious Disease Surveillance in Japan. The Third Workshop on Public Health –Emergency Strategy and Architecture in Public Health. Beijing. 2005.10.

28) Kato M, Kimura H, Saito M, Tsukagoshi H, Maruyama K, Hayashi Y, Kozawa K: Virus detection, cytokine response profiles, and eosinophil activation in acute exacerbation of childhood asthma. 2006 国際華夏医薬学学術大会. 中国,山東省,済南市. 2006.5.

29) Kato M, Yamaguchi T, Kozawa K, Kimura H: Interferon-γ enhances human eosinophil effector functions induced by Th2-type cytokines. 63th Annual meeting of American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. San Diego, CA, USA. 2007.2.

２．国内学会

1) 鈴木智之 他: 一般市民におけるウエストナイルウイルス感染症の認知状況とワクチン需要予測調査」（ポスター発表）. 第 47 回日本熱帯医学会・第 21 回日本国際保健医療学会合同大会. 長崎. 2006.

2) 大日康史:日本の高齢者の超過死亡『シンポジウム９：インフルエンザに関する最近の話題』 日本環境感染学会. 横浜市. 2007.2.

3) 大日康史, 川口行彦 他: バイオテロ対策としての救急車搬送における症候群サーベイランスの基礎的研究. 日本救急医学会関東地方会. 横浜市. 2007.2.

4) 大日康史: individual based model を用いての公衆衛生的対応能力を明示的に考慮した天然痘対策の評価. 感染症理論疫学研究大会. 東京. 2006.

5) 前田博志, 大日康史, 合原一幸: ibm を用いてのパンデミック対策の評価. 感染症理論疫学研究大会. 東京. 2006.

6) 大日康史: Report on “Modeling for Policy Analysis & Mobilization of Effective Responses to Asian Epidemics” 木原班班会議. 2006.5.

7) 大日康史: individual based model の感染症数理モデ

ルへの応用. 生物数学の理論と応用. 2006.

8) 大日康史: アウトブレーク阻止対策：日本における封じ込めと対応戦略の新しい知見. 中国の新興再興感染症アウトブレーク阻止対策に関するセミナー. 2006.8.
9) 大日康史: 疑い症例調査支援システム・症候群サーベイランスのご紹介. 危機管理研修会. 2006.9.
10) 菊池清, 大日康史 他: 院内感染対策としての入院患者症候群サーベイランスの検討. 平成１８年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「SARS、バイオテロ、インフルエンザ対策としてのリアルタイム・アウトブレーク・サーベイランスシステム構築のための基礎的研究」班会議. 2006.8.
11) 杉浦弘明, 児玉和夫, 菊池清, 中山裕雄,大日康史他: 地域での感染症流行迅速把握のための外来受診時症候群サーベイランスの検討. 平成１８年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「SARS、バイオテロ、インフルエンザ対策としてのリアルタイム・アウトブレーク・サーベイランスシステム構築のための基礎的研究」班会議. 2006.8.
12) 川口行彦, 大日康史 他: 救急車搬送おける症候群サーベイランスの基礎的研究. 平成１８年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「SARS、バイオテロ、インフルエンザ対策としてのリアルタイム・アウトブレーク・サーベイランスシステム構築のための基礎的研究」班会議. 2006.8.
13) 大日康史: individual based model を用いた数理モデルの開発. 感染症情報センター研究ミーティング. 2006.8.
14) 大日康史: アウトブレーク阻止対策：日本における封じ込めと対応戦略の新しい知見. 中国の新興再興感染症アウトブレーク阻止対策に関するセミナー. 2006.8.
15) 大日康史: individual based model を用いての公衆衛生的対応能力を明示的に考慮した天然痘対策の評価-昨年度のまとめと本年度の研究計画-. 平成 18 年度厚生労働科学研究費(新興・再興感染症研究事業)「生物テロに使用される可能性他の高い細菌・ウイルス等による感染症の蔓延防止、予防、診断、治療に関する研究」(主任研究者：佐多徹太郎国立感染症研究所感染病理部部長）. 2006.7.
16) 大日康史, 菅原民枝: 電子カルテを利用した症候群サーベイランスの試み. 医療インターネット協議会. 2006.6.
17) 大日康史: 携帯電話を利用した症候群サーベイランスのご提案. ドコモ班班会議. 2006.6.
18) 大日康史: Report on “Modeling for Policy Analysis & Mobilization ofEffective Responses to Asian Epidemics” 平成１８度厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業. 2006.5.
19) 谷口清州: 鳥インフルエンザと新型インフルエンザ. 平成 18 年度感染研市民公開講座. 東京. 2006.4.
20) 谷口清州: 鳥インフルエンザと新型インフルエンザの現状と対策. 関西感染症フォーラム. 大阪. 2006.6.
21) 谷口清州: 夏の胃腸炎について. 東京小児科医会. 東京. 2006.6.
22) 谷口清州: インフルエンザの現状と対策. 埼玉県産婦人科医会. 埼玉. 2006.9.
23) 谷口清州: 鳥インフルエンザと新型インフルエンザ. 第 11 回日本神経感染症学会総会. 津市. 2006.10.
24) 谷口清州: 鳥インフルエンザの現況. 第 8 回国立大学付属病院感染対策協議会. 長野. 2006.10.
25) 谷口清州: 鳥インフルエンザＨ５Ｎ１の 現状と対策. 第５７回日本呼吸器学会九州地方会総会. 福岡. 2006.11.
26) 谷口清州: 新型インフルエンザに関する世界の動向. 近畿厚生局感染症危機管理研修会. 大阪. 2007.1.
27) 谷口清州: 新型インフルエンザの動向. 全国消防大会. 大宮. 2007.1.
28) 谷口清州: 平成 18 年度日本獣医師会学会年次大会. さいたま市. 2007.2.
29) 谷口清州: Application of GIS in Infectious Disease Control. ＧＩＳ国際シンポジウム. 新潟. 2007.3.
30) 松井珠乃, 佐藤弘, 岡部信彦, 安藤秀二,岸本寿男, 坂崎善門, 尹浩信: 熊本県内の皮膚科医におけるつつが虫病・日本紅斑熱サーベイランス. 第 190 回日本皮膚科学会熊本地方会. 2006.12.
31) 森兼啓太: 周術期感染を減らそう！－その対策の根拠と実際（講演）. 横浜市立みなと赤十字病院院内感染予防対策講演会. 横浜市. 2006.4.13.
32) 森兼啓太: 手術部位感染サーベイランス（シンポジウム）.第 80 回日本感染症学会総会. 東京. 2006.4.21.
33) 森兼啓太: 鳥インフルエンザの動向と感染リスクへの対応（講演）. 東京商工会議所第 570 回常議員会. 東京. 2006.5.11.
34) 森兼啓太: ガイドラインとサーベイランスで手術部位感染を減らそう！（講演）. 香川大学感染対策セミナー. 高松市. 2006.5.13.
35) 森兼啓太: 最近の院内感染対策の潮流：耐性菌対策

とサーベイランス（特別講演）. 新潟大学病院感染対策講習会. 新潟市. 2006.5.29.

36) 森兼啓太: 新型インフルエンザ（講演）.川越市新型インフルエンザ対策検討会. 川越市. 2006.5.30.

37) 森兼啓太: 手術部位感染の減少に向けて－ガイドラインとサーベイランスの意義（講演）. 第２回北里大学手術部位感染セミナー. 相模原市. 2006.6.2.

38) 森兼啓太: 手術部位感染サーベイランスの意義：外科医の立場から（講演）. 済生会吹田病院 SSI 講習会. 吹田市. 2006.6.29.

39) 森兼啓太: 病院感染サーベイランスの重要性（特別講演）. 神戸地区感染対策セミナー. 神戸市. 2006.7.1.

40) 森兼啓太: 院内感染対策の最近の潮流：厚労省とアメリカ CDC の動向（講演）. 山口大学医学部・院内感染対策研修会. 宇部市. 2006.7.11.

41) 森兼啓太: 手術部位感染の減少を目指して－サーベイランスとガイドラインの意義（講演）. 武蔵野赤十字病院・院内講演会. 武蔵野市. 2006.7.14.

42) 森兼啓太: 院内感染サーベイランスの重要性(講演). 東京都立墨東病院院内講演会. 江東区. 2006.7.20.

43) 森兼啓太: アメリカ合衆国の感染制御－先進国としての栄光と苦悩（講演）. 第 16 回院内感染防止対策に関する講演会. 福岡市. 2006.7.22.

44) 森兼啓太: SSI 防止のグローバルスタンダード－ガイドラインとサーベイランス（講演）. 荏原病院院内感染予防対策講演会. 東京. 2006.7.27.

45) 森兼啓太: 最近の院内感染対策の潮流（特別講演）. 北東北感染症対策フォーラム 2006. 盛岡市. 2006.7.29.

46) 森兼啓太: アウトブレイク発生！. 第３回新潟地区感染対策セミナー（講演）. 新潟市. 2006.8.5.

47) 森兼啓太: 手術部位感染サーベイランスの実際とその効果（講演）. 愛媛県立中央病院院内感染防止対策講演会. 松山市. 2006.8.10.

48) 森兼啓太: 最近の院内感染対策の潮流－ガイドラインとサーベイランス（特別講演）. 第８回ひがし東京 ICT 研究会. 東京. 2006.8.24.

49) 森兼啓太: 手術部位感染の減少を目指して（講演）. 第 9 回北海道心臓の会. 札幌市. 2006.8.25.

50) 森兼啓太: SSI 総論（講演）. 第 14 回中国四国地区日本外科学会生涯教育セミナー. 岡山市. 2006.8.31.

51) 森兼啓太: 手術部位感染対策とサーベイランス（講演）. ベルランド総合病院感染防止委員会講演会. 堺市. 2006.9.2.

52) 森兼啓太: 最新の感染症事情（講演）. 第９回感染症予防歯科衛生士講習会. 松山市. 2006.9.3.

53) 森兼啓太: 新型インフルエンザ（講演）.日本医師会生涯教育講座. 甲府市. 2006.9.9.

54) 森兼啓太: 手術部位感染サーベイランス：日米の相違点（講演）. 第 17 回関西感染予防ネットワーク例会. 大阪市. 2006.9.16.

55) 森兼啓太: 最近の院内感染対策の潮流－耐性菌対策とサーベイランス（特別講演）. 第 5 回山形県インフェクションコントロール研究会. 山形市. 2006.9.23.

56) 森兼啓太:感染症と感染予防（講演）. エクセレントケア志津施設内研修会. 佐倉市. 2006.9.27.

57) 森兼啓太: SSI 防止のグローバルスタンダード－ガイドラインとサーベイランス（講演）. 長崎県 SSI 防止フォーラム. 長崎市. 2006.10.6.

58) 森兼啓太: 隔離予防策ガイドラインの改訂（特別講演）. 多摩地区感染対策セミナー. 立川市. 2006.10.7.

59) 森兼啓太: 病院感染サーベイランスの重要性（特別講演）. 第 3 回四国地区感染対策セミナー. 松山市. 2006.10.8.

60) 森兼啓太: アウトブレイク発生！あなたはどう考え、どう対応しますか？（講演）. 藤田保健衛生大学病院感染対策研修会. 豊明市. 2006.10.17.

61) 森兼啓太: 最新の SSI サーベイランス集計結果（口演）. 第 8 回 SSI サーベイランス研究会. 大阪市. 2006.11.1.

62) 森兼啓太: 医療施設における新型インフルエンザ対策（講演）. 福岡県院内感染防止対策研修会. 福岡市. 2006.11.8.

63) 森兼啓太: 感染症とその予防・対策（講演）. 川越市感染症予防研修会. 川越市. 2006.11.10.

64) 森兼啓太: 鳥インフルエンザ－新型インフルエンザ大流行の序章か－（講演）. 岐阜県医師会感染症講演会. 岐阜市. 2006.11.11.

65) 森兼啓太: 手術部位感染：その防止対策とサーベイランス. 東京臨海病院感染防止委員会講演会(講演). 東京. 2006.11.16.

66) 森兼啓太: アメリカ合衆国における感染制御・CDC の果たす役割（講演）. 第 5 回東アジア感染制御カンファランス. 東京. 2006.11.18.

67) 森兼啓太: 感染症の予防・対策（講演）. 神奈川県平塚保健福祉事務所感染症研修会. 平塚市. 2006.11.24.

68) 森兼啓太: 手術部位感染と最新の感染対策事情（講

演）. 亀田総合病院感染対策教育講演会. 鴨川市. 2006.11.28.

69) 森兼啓太: ガイドラインとサーベイランスで手術部位感染を減らそう！（特別講演）. 第 9 回石川感染対策フォーラム. 金沢市. 2006.12.2.

70) 森兼啓太: 感染症とその予防・対策（講演）. 川崎市中原区保健福祉センター講演会. 川崎市. 2006.12.15.

71) 森兼啓太: SSI 防止のグローバルスタンダードーガイドラインとサーベイランス（講演）. 東北 SSI 対策セミナー. 仙台市. 2007.1.19.

72) 森兼啓太: SSI 防止のグローバルスタンダードーガイドラインとサーベイランス（講演）. 久留米大学 SSI 防止フォーラム. 久留米市. 2007.2.8.

73) 森兼啓太: 感染対策ー最近の話題：MRSA 対策とインフルエンザ（講演）. 千葉県感染対策セミナー. 千葉市. 2007.2.10.

74) 森兼啓太: 周術期の予防的抗菌薬の使い方（講演）. 島根県立中央病院院内感染対策研修会. 出雲市. 2007.2.16.

75) 森兼啓太: 手術部位感染防止のグローバルスタンダードーガイドラインとサーベイランス（特別講演）. 第 9 回島根院内感染対策研究会. 出雲市. 2007.2.17.

76) 森兼啓太: 新型を視野に入れたインフルエンザの感染対策（シンポジウム）. 第 22 回日本環境感染学会総会. 横浜市. 2007.2.23.

77) 森兼啓太: CDC ガイドライン最近の潮流：改訂隔離予防策のガイドラインその後（講演）. 第 22 回日本環境感染学会総会. 横浜市. 2007.2.23.

78) 森兼啓太: 欧米諸国にみる感染対策の現状と日本での応用：MRSA 耐性率が高いアメリカの状況（特別討論）. 第 22 回日本環境感染学会総会. 横浜市. 2007.2.24.

79) 森兼啓太: 末梢静脈留置型中心静脈カテーテルと従来の中心静脈カテーテルの使用状況に関する調査（口演）. 横浜市. 2007.2.24.

80) 森兼啓太: NNIS から NHSN へ（講演）. 第 9 回 SSI サーベイランス研究会. 横浜市. 2007.2.24.

81) 森兼啓太: 病院感染制御に関する最近の潮流(講演). JICSA 感染管理セミナー.福岡市. 2007.3.3.

82) 森兼啓太: 手術部位感染防止対策とサーベイランスの実際（講演）. 聖路加国際病院 QI 勉強会. 東京. 2007.3.7.

83) 川添愛, 金麗華, 重松美加, ロベルト・バレロ, 谷口清州, ナイジェル・コリアー: 感染症発見/監視システム BioCaster における専門用語アノテーションスキーマの構築. 第 13 回セマンティックウェブとオントロジー研究会. 横浜. 2006.7.

84) 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, 安井良則, 谷口清州: 感染症発生動向調査に基づく検討　第 1 報　警報・注意報の発生状況. 第 65 回日本公衆衛生学会総会. 富山. 2006.10.

85) 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, 安井良則, 谷口清州: 感染症発生動向調査に基づく検討　第 2 報　全国罹患数推計値の推移. 第 65 回日本公衆衛生学会総会. 富山. 2006.10.

86) 泉田美知子, 永井正規, 橋本修二,川戸美由紀, 村上義孝, 多田有希, 重松美加, 安井良則, 谷口清州: 感染症発生動向調査に基づく検討　第 3 報 基幹定点把握対象疾患の流行状況. 第 65 回日本公衆衛生学会総会. 富山. 2006.10.

87) 高橋華子, 足立拓也, 相楽裕子, 木村幹男: Geo Sentinel（国際旅行医学会および米国 CDC による旅行/熱帯医学の世界的サーベイランスネットワーク）に参加して. 第 80 回日本感染症学会総会. 東京. 2006.4.

88) 木村幹男: 教育講演「トラベルメディスンと寄生虫疾患」. 第 17 回日本臨床寄生虫学会. 東京. 2006.6.

89) 藤井達也, 木村幹男: シンポジウム-2「海外渡航者のマラリア予防」3. 自衛隊での対応. 第 17 回日本臨床寄生虫学会. 東京. 2006.6

90) 木村幹男, 中村哲也, 名和行文:「熱帯病治療薬研究班（略称）」の役割. 第 10 回日本渡航医学会学術集会. 東京. 2006.7.

91) 波川京子, 木村幹男, 菊池均, 加藤成生,滝沢慶彦, 今田明博, 飯田忠行: 日本人渡航者のマラリア流行地に対する危険性の認識と予防行動. 第 10 回日本渡航医学会学術集会. 東京. 2006.7.

92) 木村幹男: ワークショップ 13.「旅行医学」 旅行医学における特徴とジレンマ. 第 47 回日本熱帯医学会・第 21 回日本国際保健医療学会・合同大会. 2006.

93) 木村幹男: 感染症アップデート. マラリア. 第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会・第 53 回日本化学療法学会東日本支部総会・合同学会. 2006.

94) 木村幹男: 特別講演. 海外渡航者のための感染症.

第 46 回日本衛生動物学会東日本支部例会. 2006.

95) 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）. 大阪市保健所研修会. 2006.4.

96) 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）. 加古川商工会議所研修会. 2006.4.

97) 安井良則: 麻疹（はしか）対策について. 茨城県竜ヶ崎保健所研修会. 2006.5.

98) 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. 美原西保育所研修会. 2006.6.

99) 安井良則: 2005/2006 年シーズンインフルエンザの国内における流行状況について. 日本臨床ウイルス学会. 東京. 2006.6.

100) 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. 平成 18 年度保育所保健･衛生専門研修会. 2006.7.

101) 安井良則: 児童の集団生活施設における感染症対策について. 児童の集団生活施設における感染症対策について. 2006.7.

102) 安井良則: 新型インフルエンザの現状と今後の見通し. 杏林大学医学部附属病院研修会. 2006.7.

103) 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. 愛媛県保育協議会研修会. 2006.7.

104) 安井良則: 堺市におけるセラチア院内感染事例発生時の対応について. 北海道保健所健康危機管理機能強化研修会. 2006.8.

105) 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－. 北海道保健所健康危機管理機能強化研修会. 2006.8.

106) 安井良則: 鳥インフルエンザ・新型インフルエンザとその対策について. 世田谷区保健所研修会. 2006.8.

107) 安井良則: 2006 年度の関東地区を中心とした麻疹流行状況について. 茨城県県南地区麻疹対策勉強会. 2006.9.

108) 安井良則: 鳥及び新型インフルエンザの現状について. 千葉県健康危機管理対策委員会. 2006.9.

109) 安井良則: 鳥インフルエンザ等の対策について. 全国産業安全衛生大会. 新潟. 2006.9.

110) 安井良則: H5N1 インフルエンザ（特に積極的疫学調査）について. 横浜市行政医師研修会. 2006.9.

111) 安井良則: H5N1 インフルエンザ積極的疫学調査について. 感染症情報センター危機管理研修会. 2006.9.

112) 安井良則: 我が国の感染症サーベイランスについて. 第 47 回日本熱帯医学会. 長崎. 2006.10.

113) 安井良則: 高齢者施設における感染症. 川越市保健所研修会. 2006.10.

114) 安井良則: 鳥インフルエンザ・新型インフルエンザの現状とその対策について. 埼玉県入間西保健福祉総合センター研修会. 2006.10.

115) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 兵庫県・兵庫県医師会研修会. 2006.10.

116) 安井良則: 感染症発生動向調査による麻疹の発生動向について. 第 10 回日本ワクチン学会学術集会. 大阪. 2006.10.

117) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 堺市内科医会学術講演会. 2006.10.

118) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 尼崎市医師会内科医会学術講演会. 2006.11.

119) 安井良則: 障害児施設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. 第 38 回日本小児感染症学会学術総会. 高知. 2006.11.

120) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について（消毒薬等を含めて）. 山口県健康福祉部研修会. 2006.11.

121) 安井良則: ノロウイルス感染症、インフルエンザ、＆麻疹と MR ワクチン. 堺市保育園嘱託医会. 2006.11.

122) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 御坊保健医療圏健康危機管理協議会. 2006.12.

123) 安井良則: インフルエンザに関する新しい話題. 兵庫県小児疾患懇話会. 2006.12.

124) 安井良則: 水と空気を媒介する感染症について. 特別区環境衛生監視研修会. 2006.12.

125) 安井良則: ノロウイルス感染症＆インフルエンザ. 福山市市民公開講座. 2007.1.

126) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 大阪小児感染症免疫カンファレンス. 2007.1.

127) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 横浜市衛生研究所衛生技術研修会. 2007.1.

128) 安井良則: インフルエンザの最新の知識. 日本医工学治療学会. 大阪. 2007.2.

129) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 山口県新型インフルエンザ研修会. 2007.2.

130) 安井良則: 保育所における感染症対策. 保育所保育・保健推進セミナー, 日本保育協会, 東京. 2007.2.
131) 安井良則: 保育所における感染症対策. 保育所保育・保健推進セミナー, 日本保育協会, 大阪. 2007.3.
132) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 堺市新型インフルエンザ対策会議. 2007.3.
133) 安井良則: ノロウイルス感染症 & 新型インフルエンザ. 近畿中央胸部疾患センター研修会. 大阪. 2007.3.
134) 安井良則: 鳥および新型インフルエンザの現状と対策について. 藤沢市保健所研修会. 2007.3.
135) 安井良則: 感染症法改正並びに新型インフルエンザについて. 堺市感染症研修会. 2007.3.
136) 多田有希, 谷口清州, 岡部信彦: 感染症発生動向調査データの正確性の検討－突発性発疹における医療機関記載ミスと保健所入力ミスに関する調査－. 第38回日本小児感染症学会総会･学術集会. 高知市. 2006.11.10.
137) 多田有希: 感染症発生動向調査データの正確性の検討－突発性発しんにおける調査の報告－. 第 20 回公衆衛生情報研究協議会研究会. 香川. 2007.2.16.
138) 齊藤剛仁, 伊豫田淳, 陸彦, 志牟田健, 大西真, 寺嶋淳, 渡邉治雄: 腸管出血性大腸菌におけるエンテロヘモリシンの発現制御機構. 第80回日本細菌学会総会. 大阪. 2007.3.26-28.
139) 伊豫田淳, 齊藤剛仁, 石原朋子, 小泉信夫, 志牟田健, 陸彦, 大西真, 寺嶋淳, 渡邉治雄: 腸管出血性大腸菌の GrlR-GrlA 制御システムによる病原性関連遺伝子群の協調発現機構. 第 80 回日本細菌学会総会. 大阪. 2007.3.26-28.
140) 上野久美, 佐藤弘, 多屋馨子, 岡部信彦:水痘ワクチンに伴う水痘-帯状疱疹ウイルスに対する血清抗体価陽性率の推移に関する検討. 第 47 回臨床ウイルス学会. 港区. 2006.6.
141) 上野久美, 大日康史, 菅原民枝, 多屋馨子, 安井良則, 西藤なるを, 砂川富正, 岡部信彦: 「麻疹発生データベース」による全国麻疹発生状況報告. 第 10 回日本ワクチン学会. 泉佐野市. 2006.10.
142) 上野久美, 佐藤弘, 多屋馨子, 岡部信彦:小児における水痘-帯状疱疹ウイルスに対する血清抗体陽性率と水痘ワクチン導入の影響に関する検討. 第 38 回小児感染症学会. 高知市. 2006.11.
143) 佐藤弘, 多屋馨子, 小田切孝人, 田代眞人, 岡部信彦: 感染症流行予測調査事業担当者グループ「2005/2006 シーズン前インフルエンザ抗体保有状況（2005 年度感染症流行予測調査事業より)」. 第 47 回日本臨床ウイルス学会. 港区. 2006.6.
144) 佐藤弘, 多屋馨子, 海野幸子, 田代眞人,岡部信彦: 感染症流行予測調査事業担当者グループ「わが国における麻疹及び風疹に対する抗体保有状況（2005 年度感染症流行予測調査事業より)」. 第 10 回日本ワクチン学会. 泉佐野市. 2006.10.
145) 佐藤弘, 多屋馨子, 岡部信彦: 麻疹の抗体測定法による比較検討及びその臨床応用について. 第 38 回日本小児感染症学会. 高知市. 2006.11.
146) 荒木和子, 元明秀成, 多屋馨子, 岡部信彦: 最近のエコー16 株の性状について. 第 47 回臨床ウイルス学会. 東京. 2006.6.
147) 荒木和子, 多屋馨子, 岡部信彦: OPV 初回接種後のウイルスの排出 —Real-time PCR による経時的血清型別ポリオウイルスの検出—. 第 10 回ワクチン学会. 大阪. 2006.10.
148) 多屋馨子: 最近の予防接種の話題. 笛吹市医師会学術講演会. 山梨. 2007.3.
149) 多屋馨子: MR２回予防接種について. 北部地区はしか“ 0”プロジェクト会議. 沖縄. 2007.3.
150) 多屋馨子: ワクチン全般のトピックス～日脳ワクチン・MR ワクチン・水痘ワクチンを中心に～. 静岡市清水小児科医会「四季の会」. 静岡. 2007.2.
151) 多屋馨子: 保育園の感染症について. 東社協保育士会保健部会学習会. 豊島区. 2007.2.
152) 多屋馨子: 海外勤務者の予防接種と予防接種時のトラブルについて－予防接種に関する最近の話題を含めて－. 大阪府医師会平成 18 年度 予防接種に関する研修会. 大阪市. 2007.2.
153) 多屋馨子: 麻疹の現状と麻疹対策の実際.第 26 回感染・免疫懇話集談会 講演会. 葛飾区. 2007.2.
154) 多屋馨子: 2006 年の麻疹流行とウイルス感染症のトピックス. 第 1 回大阪小児感染免疫カンファレンス. 大阪市. 2007.1.
155) 多屋馨子: 保育園児の感染症 現況と対応 感染症と乳幼児. 第 18 回全国保育園保健研究大会. 長崎. 2007.1.
156) 多屋馨子: ワクチンに関する最近の話題. 第 544 回日本小児科学会東京都地方会講話会. 北区. 2007.1.
157) 多屋馨子: ウイルス感染の予防－ワクチンの有効性－. 第 11 回茨城感染対策研究会. 茨城. 2006.12.
158) 多屋馨子: 予防接種に関する最近の話題. 習志野市医師会･小児科医会･予防接種委員会研修会. 千葉.

2006.12.

159) 多屋馨子: 院内感染対策としてのワクチン（各論）. 第 38 回日本小児感染症学会総会時第 41 回 ICD 講習会. 高知. 2006.11.

160) 多屋馨子: ウイルス感染症の院内感染対策および最新情報. 社団法人埼玉県臨床検査技師会研修会. 埼玉. 2006.11.

161) 多屋馨子: 予防接種の最新情報. 平成 18 年度奈良県予防接種研修会. 奈良. 2006.11.

162) 多屋馨子: 国内の麻疹・風疹の現状とＭＲ混合ワクチンについて. ワクチンで予防可能な小児の感染症と予防接種の効果と必要性、地域の感染症予防（流行阻止）を目的としたワクチン接種率向上について. 平成 18 年度岩手県市町村等予防接種従事者研修会, 感染症予防対策に関する基礎研究に基づく研修会. 岩手. 2006.11.

163) 多屋馨子, 佐藤弘, 上野久美, 荒木和子,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・帯状疱疹・ムンプス入院例に関する検討～全国アンケート調査第二報～. 第 10 回日本ワクチン学会. 大阪. 2006.10.

164) 多屋馨子: ワクチン全般のトピックス～日脳ワクチンの現状と展望を含めて～. 第 91 回　静岡市静岡小児科医会臨床懇話会. 静岡. 2006.10.

165) 多屋馨子: 院内ウイルス感染対策. 平成 18 年度院内感染対策講習会. 横浜市. 2006.10.

166) 多屋馨子: 最新の感染症について. 川崎市保育内容研究部会（看護師研究部会）.川崎市. 2006.9.

167) 多屋馨子: 保育園児の感染症～現況と対応～感染症と乳幼児. 第 12 回　日本保育園保健学会.サテライトシンポジウム. 大阪. 2006.9.

168) 多屋馨子: 麻疹、風疹、流行性耳下腺炎、水痘とワクチン療法. 第 26 回　呼吸器感染症京都セミナー. 京都. 2006.9.

169) 多屋馨子: 感染症だより麻疹～ 第 539 回(5 月 13 日) 地方会後～. 第 541 回日本小児科学会東京都地方会講話会. 北区. 2006.9.

170) 多屋馨子: 血清疫学調査の有用性と vaccine preventable disease 対策～感染症流行予測調査より～. 平成 18 年度　地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会研究会. 大阪. 2006.9.

171) 多屋馨子: 予防接種に関する最近の話題. 平成 18 年度福井県予防接種研修会. 福井市. 2006.8.

172) 多屋馨子: 水痘ワクチン接種の展望 水痘･帯状疱疹の疫学の変化. 第 13 回ヘルペス感染症フォーラム JHIF. 札幌市. 2006.8.

173) 多屋馨子: 保健管理に関する指導の充実～感染症の理解と学校における対応～. 平成 18 年度選択課題研修保健室経営ⅡA. 東京都教職員研修会. 文京区. 2006.8.

174) 多屋馨子: 予防接種、今後の動向　麻しん･風しん･日本脳炎. 野田市医師会学術講演会. 千葉. 2006.7.

175) 多屋馨子: —今、麻疹を見直す—地域社会で流行への対応はどう取り組むか–茨城と千葉の麻疹の流行に学ぶ–. 出雲小児科医会、出雲医師会、出雲保健所共催「麻疹予防対策」研修会. 島根. 2006.7.

176) 多屋馨子: 小児期の感染症と予防接種. 大阪新興・再興感染症研究会主催平成 18 年度感染症・予防接種研修会. 大阪. 2006.7.

177) 多屋馨子: 予防接種に関する最近のトピックス～麻疹を中心に～. 豊橋内科医会・豊橋小児科医会合同学術講演会. 愛知. 2006.7.

178) 多屋馨子: 茨城県南地域の麻疹流行と麻疹対策. 茨城県麻疹対策会議（講演会）. 茨城, 2006.6.

179) 多屋馨子: 麻疹･風疹対策と MR ワクチン.予防接種 2006. 第 23 回小児保健セミナ-. 渋谷区. 2006.6.

180) 多屋馨子: 麻疹の流行とその対策. 千葉市医師会緊急麻疹（はしか）対策講演会. 千葉. 2006.6.

181) 多屋馨子, 佐藤弘, 海野幸子, 田代眞人, 岡部信彦: わが国の麻疹,風疹ワクチン接種率と抗体保有率の推移　2004 年度感染症流行予測調査事業より. 第 47 回日本臨床ウイルス学会. 港区. 2006．6.

182) 多屋馨子: 感染症だより、茨城県南部、千葉県における麻疹流行. 第 538 回日本小児科学会東京都地方会講話会. 北区. 2006.5.

183) 多屋馨子: 茨城県南部、千葉県における麻疹流行とその対策～なぜこのような現象が起きるか～. 第２３回葛飾区感染・免疫懇話集談会総務部・危機管理共催講演会. 葛飾区. 2006.5.

184) 多屋馨子: 学校における感染症の予防と対応について. 東京学校保健研究会. 渋谷区. 2006.5.

185) 多屋馨子, 上野久美, 中島一敏, 大山卓昭, 松井珠乃, 阿保満, 鷲見宏, 鈴木智之, 岡部信彦: 茨城県南部における麻疹流行とその対策. 竜ヶ崎保健所管内医師対象研修会.茨城. 2006.5.

186) 多屋馨子: 予防接種に関する最近の話題. 三市合同医師会講演会（立川市医師会、国立市医師会、昭島市医師会）予防接種学術講演会. 立川市. 2006.4.

187) 飯田真里子, 岡村登, 伊藤健一郎: 腸管病原性大腸菌の付着関連遺伝子 bfpA の分布と多型解析. 第 80

回日本感染症学会総会. 東京. 2006.4.

188) 岩崎友美, 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: cesT 遺伝子型別による志賀毒素産生大腸菌 O157:H7 の迅速診断. 第 80 回日本感染症学会総会. 東京. 2006.4.

189) 木村博一: 産官共同プロジェクト『ウイルスウオッシャー』の開発. 群馬県産官共同研究成果発表会. 群馬. 2006.4.

190) 加藤政彦, 戸所誠, 丸山健一, 林泰秀, 木村博一, 齋藤美香, 塚越博之, 小澤邦壽: 気管支喘息発作時の原因ウイルスの同定とサイトカイン産生および好酸球活性化の検討. 第 109 回日本小児科学会学術集会. 金沢市. 2006.4.

191) 加藤政彦, 齋藤美香, 塚越博之, 星野利得, 小澤邦壽, 戸所誠, 丸山健一, 林泰秀, 木村博一: 小児気管支喘息発作時の原因ウイルスの同定とサイトカイン産生および好酸球活性化の検討. アレルギー・好酸球研究会 2006. 東京. 2006.6.

192) 加藤政彦, 木村博一, 鈴木雅登, 齋藤美香, 塚越博之, 小澤邦壽, 戸所誠, 丸山健一, 林泰秀: 小児気管支喘息発作時の原因ウイルスの同定とサイトカイン産生および好酸球活性化. Airway Club in Sendai 第 15 回研究会. 仙台市. 2006.9.

193) Boonmar S, Padungtod P, 森田幸雄, Kaneene J, Hanson R, 加藤政彦, 木村博一, 小澤邦寿: Anitimicrobial restriction in *Campylobacter* isolated from food animals and humans in northern Thailand. 第 27 回日本食品微生物学会. 堺市. 2006.9.

194) 新井隆三, 阿部慎之介, 池田典子, 外丸仁, 摩庭美智子, 高齋進也, 摩庭秀利, 森田幸雄, 藤田雅弘, 加藤政彦, 木村博一, 小澤邦壽: オゾン水を用いた食品製造施設内環境の殺菌効果. 第 27 回日本食品微生物学会. 堺市. 2006.9.

195) 木村博一: 実学的ウイルス学. 三洋電機学術講演会. 群馬. 2006.12.

196) 塚越博之, 加藤政彦, 木村博一, 纐纈守, 宮下喜好, 高橋仁恵, 仁科淳良: 新しいセレン化合物の薬理学的作用に関する研究. 群馬県分析研究会第 31 回研究発表会. 前橋市. 2007.1.

197) 木村博一: 有機リンの慢性毒性について－文献的考察－. 有機リン・シックハウス症候群の最前線（群馬県主催）. 前橋市. 2007.1.

198) 木村博一: 呼吸器ウイルス感染症と感染喘息. 新型インフルエンザ対策セミナー（東京サラヤ株式会社主催）. 東京. 2007.2.

199) 木村博一: バイオセーフティとウイルス検査の基礎. 日本冷凍食品検査協会研修会. 東京. 2007.3.

200) 木村博一: ノロウイルスの最近の動向. 埼玉県新興再興感染症研修会. さいたま市. 2007.3.

Ⅲ. その他

1) 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.

2) 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.

3) 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

4) 感染症情報センター: トリインフルエンザの分布図, 2006.4-2007.3.
http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/toriinf-map.html.

5) 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、18 年度版）, 2005-2006.11.
http://idsc.nih.go.jp/disease/influenza/fluQA/index.html.

6) 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, 2005.6.4-2007.3.
http://idsc.nih.go.jp/disease/influenza/pandemic-who.html

7) 佐藤弘, 北本理恵, 多屋馨子: ブタの日本脳炎 HI 抗体保有状況（速報）. 第 1 報:2006.6.19,第 18 報（最終報）. 2006.11.25.
http://idsc.nih.go.jp/yosoku/JE/JEmenu.html

8) 佐藤弘, 北本理恵, 多屋馨子: 流行シーズン前インフルエンザ HI 抗体保有状況（速報）. 第 1 報:2006.11.30, 第 4 報（最終報）:2007.2.13.
http://idsc.nih.go.jp/yosoku/Flu/Flumenu.html

9) 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（2006.4.1-6.1）.
http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/ImmJP-06rev1.gif

10) 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（2006.6.2 以降）.
http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/Imm06JP-rev3.gif

11) 松岡静香, 多屋馨子, 岡部信彦: 麻疹ワクチンキャンペーンポスター.
http://idsc.nih.go.jp/vaccine/cpn04/birthday-poster2007.pdf

12) 松岡静香, 多屋馨子, 上野久美, 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/cpn07/2008vaccine-poster.pdf

13) 国立感染症研究所感染症情報センター:医療機関での麻疹対応について(初版).
http://idsc.nih.go.jp/disease/measles/mhosp-ver1.pdf. 2006.5.24.

14) 竜ヶ崎保健所, 国立感染症研究所感染症情報センター（監修）: 保育所・幼稚園・学校等における麻しん患者発生時の対応マニュアル. 2006.10.18 改訂.
http://idsc.nih.go.jp/disease/measles/taiou0610.pdf

１９.エイズ研究センター

センター長　山 本 直 樹

概　要

2006 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 万人にもおよぶと言われる。このうち、サハラ砂漠以南のアフリカ諸国が、約半数を占め、圧倒的に多い。しかし新たな感染地域として､エイズ/HIV の魔の手は次第にアジアにも及んできた。中国やインドの状況は空恐ろしささえ感じる。我が国でも 2006 年度は感染者の数が過去最高、しかも 3 年連続で 1,000 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憂慮すべき状況である。

平成 11 年 10 月にいわゆるエイズ予防指針が策定され、わが国のエイズ対策の抜本的見直しと新方針が打ち出された。爾来、当センターはわが国のエイズ対策研究のための中核としての役割を果たしてきた。活動は大きく、施策的なものとワクチン開発や HIV 感染症の特効薬開発という研究要素の強いものに分けられるが、いずれもわが国における HIV 感染者やエイズ患者の QOL の向上、新規感染拡大の防止を第一の、そしてその成果を国際誌上で発信することで世界のエイズ、HIV 問題に貢献することを大きな目標に置いてきた。

HIV の感染予防研究に関しては、とくに BCG 及びワクシニア DIs ウイルスを用いた prime/boost ワクチン、これらに加え、ユニークな糖鎖変異ウイルスによる生ワクチンの臨床応用の可能性を強力に探っている。また HIV の多様性に対応可能な中和抗体の誘導の研究さらには種々のアジュバントを用いた粘膜免疫の誘導の研究に力を傾注している。一方、治療の面からは、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、感染予防のためのワクチン研究とともに、感染固体からのその根絶に向けた研究も重要である。このため今までにないような作用機序、とくに宿主因子を標的とした新たな抗 HIV 薬の開発が待望されている。一方、アジア、とくに中国やインドが AIDS/HIV の感染拡大において中心の場となりつつある現状で、すでに高い評価を受けている当センターのアジアの分子疫学研究を推し進めてきた。

HIV 感染及び診断検査については、方法の標準化とその精度管理において、これまでどおりわが国の中心的役割を果たすことになる｡また､感染者の治療については、直接あるいは間接的に感染者に還元できるような研究を推進している。その大きな柱の一つとして HAART を受けている患者の薬剤耐性のモニターがあり、それとともに耐性を出させない治療法についても研究を行っている。

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。

人事異動では、松田善衛第 3 室長が辞職（平成 18 年 10 月 31 日付）し、そのあとを受けて村上努主任研究官が室長に昇任（平成 19 年 2 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、佐藤裕徳病原性ゲノム解析研究センター第 2 室長、寺尾恵治前および保富康宏新医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター長等多くの方の協力を得た。

研究の場に関しては第 3 室の村山から戸山への移転などで多少の改善がみられたものの、研究スペースの確保と統合は依然として悲願のままいまだ達成されておらず、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) プライミング抗原としての組み換え BCG－修飾型

HIV Env の構築と免疫誘導能

米国 NIH ワクチン開発センターベクターコア研究室（Nabel 所長）との共同研究で分与された HIV-1_{HXBc2} の Env-V3 領域を HIV-1_{BAL} のと入れ替えたキメラウイルスの Env-gp140ΔMFIΔV1,2 等の Env 修飾型遺伝子を BCG－Tokyo 株に組み込み、組み換え BCG（rBCG）を作成した。BALB/c マウスに 0.5mg 単回皮内接種し 8－9 週後の T 細胞反応を、同じ遺伝子を組み込んだプラスミッド DNA、50μg 三回筋注マウスと比較した。新しく開発した BAL-V3 特異的テトラマーを用いて CD8 陽性反応を比較すると、rBCG 免疫群は immunodominant な反応を示すテトラマーとは 0.3—0.5%の反応性を示すが、DNA 群では約 5－6%の $CD8^+$T 細胞で陽性であった。従って BCG 免疫群のテトラマー活性は DNA 群と比較すると有意に弱いが細胞内サイトカインの活性は広範に認められた。抗体産生能は BCG 群では極めてわずかであった。更に、同じ Env 遺伝子を組み込んだ組み換え Ad5 ウイルスを 10^{10}PU 接種すると、細胞性免疫のみならず液性免疫の強い亢進が見られた。現在、BCG 免疫の特異性の解明と発現の改良を検討中である。

[本多三男、Gary J. Nabel(米国 NIH)、松尾和浩、兼清優、山本直樹]

(2) V3 改変型 HIV-1 Env 抗原の BCG での発現

組み換え BCG ワクチンの HIV-1 Env に対する免疫原性を改良するため、V3 ループの S-S 結合に近い位置のアミノ酸を部分的に欠失した gp140 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遺伝子の下流に繋ぎ、BCG での発現を解析した。Env 抗原の菌体外への分泌は認められなかったが、菌体内での安定性が向上し、ほぼ全長の gp140 抗原を発現させることができた。Env 分泌発現の検討を継続して行う。

[松尾和浩、Gary. J. Nabel(米国 NIH)、山本直樹、本多三男]

(3) コドン改変型 Gag 抗原遺伝子を発現する組み換え BCG の構築

コドンをヒト型化した HIV-1 subtype B および SIVmac 由来 gag 遺伝子を米国 NIH より入手し、BCG での発現を検討した。以前に構築した CRF01_AE 由来 gag 発現株と同様に、BCG の hsp60 プロモーターに繋いで菌体内での発現を試みたが、組み換えプラスミドが不安定で、発現株は得られなかった。そこで Env の場合と同様にα抗原遺伝子のプロモーターとシグナルペプチドの下流に繋ぎ BCG に導入したところ、ほぼ全長の Gag 抗原の高発現が認められた。ワクチン研究センターで免疫誘導能を評価する。

[松尾和浩、Gary. J. Nabel(米国 NIH)、山本直樹、本多三男]

(4) 低用量組換え BCG ワクチンの免疫誘導能に関する研究

これまでマウスあるいはサルを用いて BCG を担体とした HIV ワクチンの可能性について検討してきた。サルモデルにおいては BCG 自体に対する既存免疫が及ぼす影響についても検討し，組換え BCG 投与によって誘導される特異的免疫誘導を妨げないことを確認した。サルでは低容量の組換え BCG 単独投与によって誘導される特異的免疫応答は弱いものの，組換え BCG によるプライミングは組換えワクシニアウイルス DIs の追加免疫による免疫増強効果を著しく増幅することを明らかにした。このことから組換え BCG は特異的免疫記憶細胞を効率的に誘導し，長期にわたり維持された免疫記憶細胞は組換え DIs の追加免疫によって活性化され，抗 HIV/SIV 効果を発揮することが期待される。

[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)、岡村智崇、須崎百合子(動物管理室)、吉野直人、山本直樹、本多三男]

(5) 結核菌の噴霧感染実験による BCG ワクチン効果の有効性、持続性の再評価

結核予防に用いられている現行の BCG ワクチンの加齢にともなう有効性を検討するため、BCG を再接種した壮年期、老年期モルモットに結核菌を噴霧感染し、BCG の結核菌防御能を調べた。BCG-Tokyo 172 株 0.5mg またはコントロールとして PBS を下腹部皮下に接種後、5 年間または 1 年間飼育した（それぞれ老年期群または壮年期群）。対照群として、新たに購入したモルモットを幼年期群とした。BCG あるいは PBS を再接種（幼年期モルモットでは初回接種)6 週間後に、BCG を接種した群で、ツベルクリン反応が陽性であることを確認した。その後、モルモット 1 匹当たり 10 個程度の結核菌 H37Rv 株の単個菌を噴霧感染装置で経気道的にエアロゾール噴霧感染した。感染 5 週後に全ての群でツベルクリン反応が陽性であることを確認後に剖検し、肺臓、脾臓、肝臓、気管リンパ節を摘出した。それぞれの臓器をストマッカー 80T 型（オルガノ）を用いて均質化後、それらの滅菌精製水希釈液を 1%小川培地に接種、37℃で培養し、生じたコロニー数から臓器中の結核菌数を算定し結核菌防御能を検討した。また、ELISPOT 法を用い、細胞性免疫能

を検討した。解剖時の肉眼所見では、壮年期群は、BCG の再接種の有無に関係なく結核菌抑制効果が見られた。また、老年期群も BCG 再接種群で効果が認められた。還元培養でも同様に、老年期に BCG を再接種した場合に幼年期と同程度の結核菌の抑制傾向が見られた。ELISPOT 法においても、BCG を接種した壮年期群、老年期の細胞性免疫能が、幼年期群と同程度であることが確認できた。
[相澤志保子、服部真一朗、本多三男、山崎利雄(細菌 1 部)]

(6) 改変型 HIV Env 抗原分泌型組換え BCG のマウスでの免疫誘導能の解析

subtype B 由来の改変型 HIV Env gp140 あるいは gp145 を抗原とした抗原分泌型組換え BCG ワクチンを、皮下-皮下もしくは皮下-経口による同一ワクチンの prime-boost 投与法によって BALB/c マウスに免疫し、血中の抗 HIV Env 抗体産生能を調べた結果、どの群においても boost による抗体価の上昇が確認された。本研究において、安全性の確立されている BCG をベクターとしたワクチンによる prime-boost の有効性を示唆している。
[服部真一朗、松尾和浩、Gary J. Nabel(米国 NIH)、山本直樹、本多三男]

(7) 改変型 HIV Env 発現ワクシニア DIs による抗 HIV 免疫誘導について

我々は、安全性が極めて高いワクシニア DIs をワクチンベクターに用いて、Env の可変領域を至適化および gp41 を一部 truncate した改変型 Env（gp140ΔV1V2ΔCFI）を発現する組換え DIs（rDIs/ gp140ΔV1V2ΔCFI）を構築した。次に BALB/c マウスに 5 回接種し、血清 Env 抗体価、中和能および細胞性免疫を解析した。抗体価は、1024～2048 倍の抗体価が確認され、また HIV MN 株、JRCSF 株に対する中和反応が認められた。また Env ペプチドを用いた ELISPOT 法によって細胞性免疫が誘導されていることを確認した。
[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)、山本直樹、本多三男]

(8) 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った。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 blottimg 法によって両抗原の発現を確認した。次にマウスを用いた免疫実験を行ったところ、SIVGag および HIVEnv に対する抗体をそれぞれ確認された。また、両抗原に対する ELISPOT 法をそれぞれ行ったところ、細胞性免疫が強く誘導されていることも確認した。
[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、山本直樹、本多三男]

2. 改良型 HIV env による中和抗体誘導型エイズワクチンの開発

HIV-1 に対する中和抗体の誘導を目的として、改良型 env 抗原を DNA ワクチン、DIs ワクチンでマウスに接種し、そのワクチン効果を評価した。本研究で使用した抗原は、Gary J. Nabel 氏より頂いた組換え env gp145dCFI と gp140dV1V2dCFI で、行ったワクチン接種は DNA ワクチンの単独接種と DNA/DIs ワクチンによる組み合わせワクチン接種である。まず、各ワクチンの抗原発現を *in vitro* で確認した後、精製した。実験は BALB/c マウスを使用し、DNA ワクチンの単独接種では、DNA ワクチンを１回あたり 50μg/mouse で３週おきに３回接種後４週おきに２回の接種で計５回のワクチン接種を行った。DNA/DIs ワクチンでは DNA ワクチンを１回あたり 50μg/mouse で３週おきに３回接種した後、DIs ワクチンを 1×10^6PFU/mouse で４週おきに２回の接種で計５回のワクチン接種を行った。毎回ワクチン接種１週後の血清中の V3 特異的抗体の誘導を ELISA により評価した。ワクチン接種によって V3 特異的な免疫応答が誘導されたことを確認し、５回のワクチン接種終了後、抗原特異的な IFN-γの誘導を IFN-γELISPOT で、hIV-1 中和抗体の誘導を GHOST 細胞を用いたアッセイで評価した。
[高橋慎、千葉丈(東京理科大学)、Gary J. Nabel(米国 NIH)、本多三男]

3. 糖鎖欠失 SIV の heterologous SIV チャレンジ感染に対する生ワクチン効果

Env gp120 に 5 か所(aa79, 146, 171, 460, 479)の糖鎖欠失変異を導入したΔ5G はアカゲザルで感染制御され、さらに親株 SIV239 のチャレンジ感染をほぼ完全に制御する弱毒生ワクチンの性質を示すことをこれまでに報告した。さらに、Δ5G と 1 か所の糖鎖欠失部位が異なる新たな 2 種の糖鎖欠失ウイルス、Δ5G-v1(aa71, 79, 146, 460, 479)、Δ5G-v2(aa79, 146, 377, 460, 479)を作製し、これらのウイルスはウイルス学的性質が異なるが、アカゲザルでの感染はいずれもΔ5G と同等に制御されることを昨年度までに明らかにした。これらの新規糖鎖欠失 SIV 感染ザルに強病原性 SIV 株をチャレンジ感染することにより、生

ワクチンとしての効果を検証した。先ず、糖鎖欠失 SIV の親株である SIV239 のチャレンジ感染を試みた（homologous challenge)。その結果、新規糖鎖欠失 SIV 感染ザルもΔ5G 感染ザルと同様に、ほぼ完全に SIV239 感染を制御した。そこで次に SIV239 とアミノ酸レベルで 10～30%異なる SIVsm543-3 をチャレンジ感染することにより、heterologous virus に対する感染制御効果を検討した。Δ5G、Δ5G-v1、Δ5G-v2 感染ザル各 2 頭に SIVsm543-3 を 1000TCID50 で静脈内接種した。その結果すべてのサルで peak viremia が 1000 分の 1 以下に制御された。2 頭については検出限界以下に制御された。すべての糖鎖欠失 SIV 感染ザルはチャレンジ感染前に接種した糖鎖欠失 SIV に対する中和抗体が誘導されていたが、これらの中和抗体は SIVsm543-3 を中和することはできず、チャレンジ感染後の中和抗体の上昇も見られなかった。このことから感染制御に中和抗体は関与しないと考えられる。今後はサルにおいて弱毒生ワクチンによる感染制御メカニズムを解明することにより、HIV 感染を効率よく制御できる方法を考えていきたい。

[杉本智恵、森一泰]

4. 糖鎖欠失ウイルスの初期感染の解析

サルにエイズを発症させるSIV239と初期感染期のウイルス増殖は同等であるにもかかわらずその後の感染がきわめて低く制御される糖鎖欠失弱毒株Δ5Gのアカゲザルでの初期感染を病理学的に比較した。血中ウイルス量が同程度であった感染後9日目 において、SIV239感染ザルとΔ5G 感染ザルにおける初期感染の標的組織は腸管であると推定されたが、感染細胞の腸管組織内での局在が異なっていた。すなわち、SIV239は免疫学的にinductive siteとして知られている孤立リンパ小節のCD4+T細胞に、Δ5Gはeffector siteとして知られる粘膜固有層のCD4+ T細胞に感染が認められた。また全身性リンパ組織である脾臓および表層ならびに深部リンパ節において、SIV239感染ザルでは非常に多くの感染細胞が認められたのに対し、Δ5G感染ザルではほとんど検出されなかった。末梢血リンパ球における感染細胞数もΔ5G感染ザルではSIV239感染ザルより顕著に低かった。以上の結果から、初期感染は腸管のinductive siteにおける感染と全身リンパ節への感染拡大が病原性と関連することが明らかになった。このことから、免疫メモリー細胞が存在する腸管inductive siteがウイルス感染によって傷害されることが免疫系の過剰な活性化や感染防御免疫の誘導の障害を引き起こすのではないかと考えられた。

[杉本智恵、森一泰]

5. 生ワクチンが誘導するエイズウイルス感染制御と関連する宿主応答の解析

弱毒ウイルス感染を制御した宿主には病原性ウイルスに対する極めて強い感染防御能が誘導されている。さらに感染防御能は MHC 等の宿主側因子の影響が少ないことからエイズワクチンに求められる条件を満たしている。我々は、弱毒 SIV（糖鎖欠失変異 SIV, nef 遺伝子欠損 SIV）感染ザル以外にも病原性ウイルス感染に対しても感染後早期治療（感染後 8 または 24 時間後から 4 週間の抗エイズ投与）により強い感染防御能が誘導されていることを明らかにした。これらの感染制御ザルがウイルス感染を防御する機序について解析を行った。中和抗体はワクチンが誘導する免疫のひとつであるがチャレンジウイルスに対する中和抗体は検出されなかった。細胞性免疫についてチャレンジ感染前後の SIV 特異的 CD4+T 細胞、CD8+T 細胞の頻度を IFN-gamma ELISPOT により調べた。チャレンジ感染により SIV 特異的 T 細胞は誘導され、特に Gag 特異的 CD4+T 細胞は多くの個体での誘導された。チャレンジ前後において同一エピトープに対する特異的 CD4+T 細胞の誘導も確認された。しかしこの細胞性免疫の誘導と感染制御との関係については今後の解析が必要である。

[杉本智恵、森　一泰]

6. 粘膜免疫誘導アジュバントに関する研究

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。昨年度サルを用いた感染防御試験の検討で十分なデータが得られなかったため、再度各種アジュバント候補を OVA を抗原としてマウスでスクリーニングを行った。接種経路はこれまでの解析でもっとも効果的であった経鼻投与とした。その結果、低分子量キトサンおよびカチオン化キトサン等に高いアジュバント活性を認めた。さらに抗原を組換え HIV-1env タンパクを用いて同様にマウスで検討した結果、キトサン関連物質にアジュバント効果を認めた。現在、抗体の中和活性能、キトサン関連物質の微細形態等を解析中である。

[石川晃一、小林丘(協力研究員)]

Ⅱ．HIV 感染症の治療と薬剤耐性に関する研究

1. HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法(半日)の開発

昨年度までに開発した HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法の充実を図る。HIV 感染者血漿中の HIV-RT 薬剤感受性を測定し、薬剤耐性の新たな指標としての意義を明らかにする。以上の 2 点を目的として以下を検討した。まず、

これまで確認できなかった d4T-TP 耐性について新たな陽性対照変異株(K65R)を用意した。この株の薬剤感受性を本法で測定したところ、野生株と比較して 5.5 倍の耐性を確認した。これは培養法を用いた耐性度ともほぼ同等であることから、d4T-TP 耐性についても本法で検出可能であると判定した。次に昨年度までに測定した HIV 感染者血漿 8 検体の 3TC 感受性結果と臨床経過を照合したところ、約１ヶ月間隔で耐性度が 7.3→11.8→167.5 倍以上と推移した１症例を確認した。本症例では薬剤履歴と耐性度の相関が示唆されており、現在、詳細を解析中である。また 3TC 軽度耐性と判定された３症例は未治療であることが確認された。以上より、昨年度までに開発した HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法は AZT と 3TC に加えて d4T についても測定可能となり、充実が図られた。また薬剤履歴との相関も示唆される結果が得られたことから、薬剤耐性の新たな指標としての可能性も示唆された。本法では測定時間が半日(約 7 時間)で、培養を基本とした既存の測定法に比べて迅速である。また、既存の方法が血漿中ウイルスを選別してしまうのに対して、本法では総体として把握する事が可能である。今後、薬剤耐性の有用な指標と成り得るか、さらなる検討が必要である。
[仲宗根正、西澤雅子、Walid Heneine (米国 CDC)、杉浦亙]

2. Allele-specific RT-PCR 法を用いた超高感度 HIV 薬剤耐性遺伝子定量法の開発

昨年度までに開発した HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法の課題のひとつに、遺伝子学的薬剤感受性（ゲノタイプ）と生物学的薬剤感受性（フェノタイプ）との相関が挙げられる。特に軽度耐性例の遺伝子学的薬剤耐性は、既存の方法は定性試験のため、詳しい相関について検討ができない。その弱点を補うべく、超高感度遺伝子学的薬剤耐性検査法開発に着手した。そのために、まず既報の手法の再現を試みるべく K103N 遺伝子を検出するための系を、続いて M184V 遺伝子検出系を作成した。その結果、予備実験において、既報と同等以上の back ground を確認した（0.0015%）。さらに、血漿中全ウイルス中に 0.15%以上存在する耐性遺伝子（K103N または M184V）であれば検出される可能性が示唆された。以上より、薬剤感受性のゲノタイプとフェノタイプとの相関解析のための準備が整った。今後、HIV-RT 薬剤感受性・耐性についての詳細な解析が可能になれば、それぞれの感染者に応じたきめの細かい治療法へとつながる事から、その意義は大きい。そのためにも、今後は系の精度管理とともに測定数を増やして、酵素学的耐性と遺伝子学的耐性の定量的相関を明らかにすることが必要である。
[仲宗根正、西澤雅子、Sara Palmer (米国 NCI)、杉浦亙]

3. Recombinant-mannose binding lectin (r-MBL)の HIV 抑制効果の検討

HIV gp120 はマンノースを含む糖鎖で修飾された糖タンパクである。MBL 作用機序を考えると広範な HIV 株の複製抑制に寄与すると予想される。これまでの実験で MBL は多種類の HIV を *in vitro* の系で抑制した。しかし native MBL の大量作成は困難である為 *in vivo* での実用化は難しい。そこで native MBL と同等かもしくはそれ以上の抗 HIV-1 効果のあるリコンビナント MBL の同定を試みた。そこで 3 種類の MBL 産生クローン（M01-7F1, M01W08, 2-12）をそれぞれ種々の条件で培養したリコンビナント MBL を作成した。その結果３種のリコンビナント MBL はともに HIV に対する抑制活性が検出され、適切な培養条件が同定された。
[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、駒野淳、本多三男]

4. 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。平成 18 年度からは薬剤耐性遺伝子検査が保険収載されたため、検査は民間の検査会社にゆだねられることになり、我々のところで実施する検体は、精査を目的とするもの、経済的な理由により検査が困難なもの、そして次項に述べる疫学調査を目的としたものに限られるようになった。このため平成 18 年度の総検査数は 268 例と前年度の約 30%激減した。現在一番憂えていることは薬剤耐性検査の保険収載により抗 HIV 療法を受けている HIV/AIDS 集団における薬剤耐性 HIV の動向が把握できなくなったことであり、今後検査・調査体制の組みなおしが急務である。
[杉浦 亙、三浦秀佳、千葉智子、西澤雅子、柿澤淳子、藤野真之、山本直樹、松田昌和（三菱化学メディエンス株式会社）]

5. 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。日本では新規 HIV 感染者数およびエイズ患者数報告数が年々記録を更新する勢いで増加しており、また治療を受けている患者数も増加を続けている。このことから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。我々は 2003 年から 2006 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：307 例、05 年：429 例、06 年 395 例であった。いずれの年においても調査対象となった症例は 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。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。薬剤耐性症例の頻度は 2003 年：4.5%、2004 年:4.2%年、2005 年：4.5%、06 年 6.3%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 03 年:3.4%、04 年：3.6%、05 年 2.6%、06 年 4.1%であった。非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤では 03 年：0.4%、04 年 1.0%、05 年 0.9%、06 年 0.8%、同プロテアーゼ阻害剤では 03 年：1.1%、04 年：0.3%、05 年：1.6%、06 年：1.5%であった。

[藤野真之、鈴木寿子、松田昌和（三菱化学メディエンス株式会社）、武田 哲、三浦秀佳、西澤雅子、山本直樹、杉浦 亙]

6. 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

薬剤感受性検査に用いられる HeLa 細胞のような非宿主細胞を基に樹立されたレポーター細胞の薬剤代謝が本来の宿主であるリンパ球と同等であるか明確ではない。本研究では細胞内の薬物濃度を HPLC を用いて測定し、細胞種による薬物動態の差について解析を行った。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 で培養液中に添加して細胞を薬剤に曝露させた後、細胞を回収・破砕し PI を抽出し HPLC で PI を定量した。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 100 倍、HeLa 細胞では約 200 倍に濃縮された。SQV は T 細胞系で約 70 倍、HeLa 細胞では約 200 倍であった。LPV は T 細胞系で約 10 倍、HeLa 細胞で約 40 倍であった。以上、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ことが示された。PI の細胞内への取り込みにおける温度の影響を HPB-M(a)と HeLa 細胞で解析した結果、HPB-M(a)では NFV と RTV は細胞内の PI 濃度は温度の影響を大きく受けなかったが、SQV では大きく阻害された。NFV の細胞内への取り込みの速度は 4℃の条件下では 37℃と比して有意に低下した。HeLa 細胞ではどの PI でも 4℃の細胞内への取り込みは 37℃の条件下よりも低かった。このように低温下で細胞内取り込みが阻害される PI はエネルギー依存的に細胞内へ取り込まれ、従来考えられていた拡散による細胞内取り込みとは異なる機序が関与する可能性が示唆された。

[西澤雅子、山本直樹、杉浦 亙、加藤真吾（慶応大）]

7. 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 20000 個以上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。抗 HIV-1 活性の認められた化合物のうち有望なものについては類縁化合物を多数合成し、抗 HIV 活性の増強よび毒性の軽減を試みた。その結果 IC_{50} の値を 100～1000 倍増強させることに成功した。見出した阻害剤は既存の治療薬剤に対して耐性を獲得したウイルスに対しても有効であった。阻害機序についてはまだ明らかではなく、薬剤耐性ウイルスの誘導、定量 PCR、time of addition 実験などの解析手法を用いてその解明に取り組んでいる。小動物を用いた抗ウイルス効果の確認、毒性に評価等、実用化に向けた in vivo 実験を実施している。

[武田 哲、三浦秀佳、厳 驊、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（富山化学工業株式会社綜合研究所）]

8. 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。我々はいままでに CRF01_AE 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 B で主に観察される 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てきた。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、現在結晶化に取り組んでいる。さらに、活性のあるプロテアーゼの作製・生成も行い、熱力学的解析に取り組んでいる。酵素学的な実験以外に,in silico での構造予測と N88S の役割についても解析を行っている。

[柿澤淳子、松田昌和（三菱化学メディエンス株式会社）、杉浦 亙、大出裕高、松山 翔、星野忠次（千葉大学大学院薬学部）、セリア・シッファー（Univ. Massachusetts）]

9. プロテアーゼ阻害剤耐性 HIV-1 株に対するダルナビルの有効性についての解析

薬剤耐性症例に有効な新規のプロテアーゼ阻害剤（PI）ダルナビル（DRV）が大きな期待をもたれている。本研究では HIV 薬剤耐性遺伝子検査において既存 PI に対して高度耐性を呈する HIV 株に対する DRV の有効性についての評価を試みた。当施設において薬剤耐性遺伝子検査を実施した症例より、多数の薬剤耐性変異の集積が認められ薬剤耐性と判定された症例を選択し、健常人 PBMC との共培養による HIV の分離を実施した。分離・回収に成功した HIV 株については我々が樹立した human CD4, CXCR4, CCR5, LTR-Luciferase を発現するヒト T 細胞系細胞株である MaRBLE 細胞（Mizutani et al., 2007 JCM）を用いた薬剤感受性検査を実施した。JR-CSF 株を標準として fold resistance を算出した。感受性検査では DRV の他に薬剤耐性症例に有効であるとされるアタザナビル(ATZ)とロピナビル(LPV)についても評価を行った。合計 16 株の薬剤耐性 HIV の分離に成功した。JR-CSF 株における ATZ、LPV、DRV 其々の IC_{50} は、0.0019μM、0.006μM、0.0014μM であった。分離した 16 株のウイルスで 5〜10、10〜50 倍、50 倍以上の耐性を示した株数は ATZ で 1、5、7 株、LPV で 1、7、3 株（75%）、そして DRV では 3、0、０株であった。DRV で 5-10 倍の耐性を呈した 3 株はいずれも ATZ、LPV に対して高度の耐性を呈した。反対に ATZ、LPV に対して 10 倍以上の耐性を示した臨床分離株の其々75%、70%が DRV に対して感受性を呈した。以上、本邦における薬剤耐性症例を救済する選択肢として DRV は有効であると考えられた。

[藤野真之、三浦秀佳、西澤雅子、松田昌和、鈴木寿子、杉浦 亙]

10. 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。平成 16 年から 17 年にかけてランパンコホートで回収された GPOvir 脱落症例 64 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、その結果両者の一致率が 95%であることを明らかにし、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・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）、吉田レイミント・有吉紅也（長崎大学熱帯医学研究所）、松田昌和（三菱化学メディエンス株式会社）、杉浦 亙]

11. 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と推察されている。本研究ではプロテアーゼと Gag の相互干渉（共振化）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 3.0Kb を Single genome sequencing 法によって増幅・クローニングし解析を行った。得られた配列は共進化解析プログラム CoMap を用いて解析し、同一分子内および分子間の干渉しあう変異の同定を行った。GagP453L とプロテアーゼの E35D に強い関連が認められた。また E35D はネルフィナビル耐性変異の D30N/N88D とも強い関連を示した。現在構造学的な視点より P453L と E35D 干渉の機序を解析している。

[杉浦 亙、松田昌和（三菱化学メディエンス株式会社）、千葉智子、柿澤淳子、田中 博・任 鳳蓉・柴田潤子（東京医科歯科情報）]

12. 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・ポイント、各ポイントで15個以上のクローンを解析した。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アミノ酸置換が、RTでは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。平成17年度は比較的治療の類似した3症例を選び出し、同様の解析を行った。

[鈴木寿子、杉浦 亙、田中 博・任 鳳蓉・茂櫛 薫（東京医科歯科大学生命情報学）]

13. HIV-1の逆転写酵素が持つRNase H活性に対する特異的阻害剤の開発

逆転写酵素(Reverse Transcriptase;RT)に内在するRNaseH活性はレトロウイルス複製に必須である。次世代抗エイズ薬として、RNaseH活性を阻害するエイズ治療薬の開発を試みた。本スクリーニングにより、異なるHIV-1流行株および薬剤耐性HIV-1由来のRTに内在するRNase H活性を特異的に阻害する小分子化合物を複数同定した。これらの作用機序は、候補化合物がRNase Hの活性中心に結合することによるRNAのhydrolysis阻害と推測された。電算機を利用した立体構造解析をもとに、これらをリード化合物としてRNase Hを標的とした次世代抗エイズ薬の開発が期待できる。

[駒野 淳、浦野恵美子、二橋悠子、藤 秀義・星野忠次（千葉大学）、武部 豊、山本直樹]

14. HIV-1逆転写酵素polymerase active siteへの薬剤耐性変異が誘導するRNase H活性の低下と耐性亢進への寄与

我々は抗NRTI多剤耐性HIV-1(CRF01_AE) の11アミノ酸の挿入変異による耐性増強メカニズムの解明を試みた。精製酵素による酵素活性測定により、本変異がRNase H活性の低下を来すことを証明した。耐性亢進はpolymerase活性低下に伴うnucleotide excision活性の相対的上昇のためと推された。polymerase活性の減弱が逆転写過程を完遂するためには、RNase H活性が協調して減弱することが重要と考えられる。一方、nucleotide excision活性増強はRTのfidelityを上昇させ、ウイルスの多様化を妨げることが予想される。そのため、生体内でstrand transfer活性が高いウイルス、つまり多様化し免疫逃避能力が高い多剤耐性ウイルスが生体内で選択された可能性が示唆された。

[駒野 淳、二橋悠子、磯貝まや、浜武牧子、松田善衛、椎野禎一郎、武部 豊、山本直樹、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析研究センター）]

15. 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・田中礼子・大隈 和（琉球大学）、熊倉 成・枝松剛生・広瀬国孝・谷中幹郎（(株) クレハ）、山本直樹]

Ⅲ. HIV の分子疫学ならびにウイルス学的研究

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 18 年度の検体数は 52 検体（hemophilia：49・その他の感染：3）で、そのうち陽性検体は 8 検体（hemophilia：5・その他：3）であった。2007 年 3 月時点で 4,322 検体（hemophilia：3,129・その他：1,193）、そのうち陽性検体は 898 検体（hemophilia：631・その他：267）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. HIV-1 CRF07_BC の東アジアにおける流行拡大の年代推定

CRF07_BC は、1990 年代中頃に中国北西部（新疆ウイグル自治区）の注射薬物乱用者 (IDU) の間に発生したアウトブレークの原因ウイルスとして最初に同定されたアジアに特有の組換え型流行株 (CRF) の一つである。さらに、近隣の台湾では 2002 年に入って IDU 間に爆発的な流行が発生し、これが CRF07_BC の侵淫によるものであることが明らかにされた。東アジア地域での CRF07_BC 流行の成り立ちに関するより深い理解を得ることを目的として、最新のデータ解析プログラム（系統樹・Bayesian coalescent 分析）を利用して、CRF07_BC 播種の時間スケールを推定した。その結果、中国雲南省で新生したと推定される CRF07_BC は、1990 年代初頭から半ば (1992-1995) にかけて、新疆の IDU 集団の流行を引き起こし、ついで 1990 年代後半 (1998-2001)に入って、おそらく中国沿海部地域を経由して、台湾南部の IDU 集団に播種、さらに、2000 年代初頭 (2001-2003) には、台湾中・北部に伝播し、台湾の IDU 間に未曾有の爆発的流行を引き起こしたと推定された。これらの知見は CRF07_BC の国際的・地域的播種の歴史をはじめて解明したものと考えられる。

[Kok Keng Tee、廖華南、上西理恵、長谷彩希、武部　豊、Oliver G. Pybus（オックスフォード大学）, Adeeba Kamarulzaman (マラヤ大学医学部)、 Xiao-Jie Li (上海交通大学付属人民病院)]

3. アジアおよびベトナムにおける CRF01_AE 流行拡大の時間的・空間的経過の推定

HIV-1 CRF01_AE は東南アジア地域におけるエイズ流行の最も主要なウイルス株である。中央アフリカ地域に起源をもつ。1980 年代後半に北部タイの売春婦の集団に持ち込まれ、ついでタイ全域さらにカンボジア、ベトナム、ミャンマーなどの周辺東南アジア諸国に急速にその流行が拡大した。われわれは、CRF01_AE の東南アジア地域での流行拡大の時間的･空間的経過を解明するため、タイおよびベトナム各地域に分布するウイルス株の系統関係の差異に注目し、最新のデータ解析技術（BEAST v1.4.2）を用いて、ウイルス伝播の年代とその経路の推定を行った。その結果、 系統樹上、CRF01_AE 株はクラスター 1［タイ］、クラスター 2［南部（カンボジア国境地域およびホーチミン市）の性感染者］、クラスター3［南部の IDU］とクラスター-4［北部および隣接する中国 Guangxi の IDU (n=12)］の 4 つに分類された。BEAST プログラムを用いた分析によって、クラスター- 2, 3, 4 の共通祖先年代（Time to the most recent common ancestor (tMRCA) は、それぞれ 1986 年、1990 年、1993 年前後と推定された。これらの結果は、タイに起源をもつ CRF01_AE 株のベトナムへの伝播経路の少なくとも一つはカンボジア国境地域 (An Giang) を経るもので、ベトナム南部、ついで drug trafficking 経路を介して北部地域さらに中越国境を越えて中国広西チワン族自治区へと拡大したことを示唆する。この成果は CRF01_AE の東南アジア地域における伝播経路とその年代を、確実な証拠をもってはじめて解明したものと考えられる。

[廖　華南、Kok Keng Tee、長谷彩希、 上西理恵、 Xiao-Jie Li、草川　茂、武部　豊、Nguen tran Hien（ベトナム国立衛生疫学研究所）、Oliver Pybus (オックスフォード大学)]

4. HIV-2 感染後 36 年にわたる長期未発症例の解析：我が国における最古の HIV 感染症例の同定

われわれは、2006 年 6 月に我が国はじめての HIV-2 感染日本人症例（77 歳男性）を同定した。本症例から HIV-2 株を分離し、その全塩基配列の決定によって、本ウイルス株の起源、系統関係、感染経路の解明を行った。その結果、本 HIV-2 株は、HIV-2 グループ A に属し、特にセネガル株(60415K 株)等との近縁性が見い出された。本症例は、病歴から 36 年前（1971 年）のセネガルでの輸血で感染したと推定されるが、塩基配列情報に基づく系統関係は、その結論を裏付けるものである。HIV-2 ではエイズ発症までの潜伏期が HIV-1 に比べて長いと考えられているが、本症例は実に 36 年という極めて長期にわたって無症候であるという点で極めて興味深い。現在ウイルス側、宿主側要因の双方に関する解析が進行中である。また本症例は日本人症例として最古の HIV 感染者と推定される点で注目される。

[上西理恵、草川　茂、長谷彩希、廖　華南、小野木成美、武部　豊、内海孝信・永川博康（聖隷横浜病院呼吸器科）]

5. 我が国における CRF01_AE 感染クラスターの同定

我が国における HIV 感染者の約 75-80%は欧米型の HIV-1 サブタイプ B で、これについで重要なウイルス株が CRF01_AE で、全体の約 10-20%前後を占めると考えられている。タイに起源をもつ CRF01_AE は 90 年代初頭に我が国に侵淫し、以来異性間感染のルートによって、次第に感染を拡げていると考えられるが、地域によっては、感染者のほとんど（80%以上）が、このタイプのウイルスによることをはじめて明らかにした。また、CRF01_AE が欧米起源のサブタイプ B とおそらく我が国

国内で組換えウイルスを新生したと考えられる症例が見出された。我が国における HIV 感染症の新しい動向を示すものと考えられる。

[長谷彩希、上西理恵、廖　華南、草川　茂、武部　豊、長野県エイズ拠点病院ネットワーク(代表:須佐病院　斎藤　博）]

6.　CRF01_AE とサブタイプ B からなる新規組換えウイルス株（URF）の同定とその公衆衛生上の意義に関する解析

HIV-1 組換えウイルスは世界流行を駆動するウイルス株の中で、重要性を増しつつある。我が国においては欧米に起源をもつサブタイプ B とタイに起源をもつ CRF01_AE とが 90 年代はじめよりすでに 10 数年にわたって co-circulate している。組換えが疑われる国内症例３例（日本人症例 1; 外国人症例 2）に関してのほぼ完全長のウイルスゲノム塩基配列を決定した結果、いずれも CRF01_AE とサブタイプ B 間の新規組換えウイルス（Unique recombinant form, URF）であることを明らかにした。しかも、興味深いことには、日本人症例を含む２種のウイルスは、同一の組換え構造をもつことが明らかとなった。ここに見る組換えウイルスの検出は、我が国における HIV 感染症の動向変化の兆しの一つと考えられる。

[上西理恵、長谷彩希、廖華南、小野木成美、草川茂、武部豊、正兼亜季・上田幹夫（石川県立中央病院)、近藤真規子･今井光信(神奈川衛研)、相良裕子(横浜市民病院)、花房秀次（荻窪病院)、加藤真吾（慶應義塾大学医学部）]

7.　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のゲノム間に生じる遺伝子組換えは、遺伝子座間の連鎖を解消して新たな組み合わせを生じることで、ウイルスの多様性の増大に寄与していると考えられている。薬剤耐性変異の一部では複数遺伝子座の組み合わせによってfitnessが低下するエピスタシスが予想され、実際に耐性変異の適応進化が組換えによって生じやすくなっている例もある。遺伝子組換えがウイルスゲノムの多様性の形成に果たす役割は明らかであるが、その寄与の程度については情報が少ない。ウイルスの生存を左右する遺伝子型の多様性に対する組換えと突然変異の様々な選択圧における寄与を集団遺伝学的な手法で推測し、in vivo, in vitroにおけるそれらの値を比較した。エピスタシスが観察される遺伝子型として、RT領域の41L, 69位挿入変異、210W, 215Yの4つの遺伝子座に注目した。in vivo の観察例として、AZT+ddIによる治療によってこれらの耐性変異が生じた日本人の感染例（Sato et al 2001)を用いた。また、組換え直前の遺伝子型を持つ患者由来ウイルスの感染性クローンを作成し、薬剤耐性試験と種々のNRTI濃度下におけるin vitro競合感染実験を行った。感染者の各治療時期と競合感染実験の感染後のいくつかの時期に、RT領域の配列クローン（590bp or 626bp)を多数採集し、塩基配列を得た。組換えの存在は、bootscan解析・subregion tree・phylogenetic network解析・IDL検定・およびin vitroにおいては人工的な中立変異の直接観察により行った。In vtro実験では、近接変異座間の組換え価から交叉率を推定した。連鎖の解消が観察される遺伝子座ペアの関係をcoalescentモデルに基づいて解析することで、組換えによって生じた遺伝子型の集団中での生存時間を推測することができる。突然変異の集団中での生存時間も同様に推測可能であり、この2つの推測値の比を求めることで、多様性に関する組換えの寄与を知ることが可能となる(Charpentier et al. 2006)。これらの推定には、LDHatパッケージ中のpairwiseプログラムを用いた。様々な分子進化学的解析は、in vitro, in vivo双方で耐性変異座間の組換えの存在を示唆した。in vitro競合感染実験における遺伝子頻度の経時変化から、耐性変異の組み合わせに対する選択圧が確認されたが、個々の耐性変異には強い選択圧が観察されず、エピスタシスの状態にあることが示唆された。多様性に関する組換えと突然変異の寄与は、in vitroでは薬剤環境にかかわらず一定であったが、in vivo では時期によって組換えの寄与が大きく変化することがわかった。

[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 reni ｌla 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。平成 16 年度には 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 を完成させたが、その後の解析で同じ CMV 制御下の renilla luciferase の発現に影響を及ぼすことが判明し、CMV とは異なる house-keeping プ

ロモーター制御による CCR5 の発現への切り替えに取り組んでいる。現在臨床分離株に対する感受性検査の実用化に取り組んでいる。
[千葉智子、三浦秀佳、滝澤万里、松田昌和（三菱化学メディエンス株式会社）、松田善衛、本多三男、杉浦 亙]

2. 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 env を標的にした競合的 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、広範囲の viral load を検出できるよう競合的 RT-PCR の系を改良した。まず標的遺伝子を Gag に切り替えるとともにプライマも新たに設計し、非 B サブタイプにも対応した系を確立した。
[濱武牧子、西澤雅子、柿澤淳子、杉浦 亙、加藤真吾（慶應義塾大学）]

3. MDM に感染性を有する HIV-1 CRF08_BC 感染性分子クローン

これまでに私たちは、アジアにおいて収集、分離した HIV-1分離株から、地域特異的に流行しているサブタイプ・CRF の感染性分子クローンを樹立してきた。CRF08_BCは中国南西部における主要な流行株である。私たちが分離株HH040から樹立したCRF08_BC感染性分子クローンは、いずれもCCR5をコレセプターとして使用するR5ウイルスであったが、分離株が増殖する末梢血由来マクロファージ(MDM)では増殖できなかった。

そこで、すでに樹立したクローン HH040_22eapx4 の env 遺伝子を含む、制限酵素 PacI と XhoI で認識される領域を、同じテンプレートから新たに PCR によって増幅したフラグメントと置換したクローンを作製し、スクリーニングを行った。その結果、感染性を有する３クローンが得られた。それらはいずれも R5 ウイルスであった。MDM に対する感染性を検討したところ、そのうちのひとつが、MDM においてわずかに増殖した。その塩基配列を決定し、HH040_22eapx4 と比較したところ、envgp120 の V5 周辺に特徴的な４アミノ酸の変異と１アミノ酸の欠失が見られた。これらの変異が、MDM へのトロピズムに関係している可能性が示唆された。
[草川　茂、武部　豊]

4. マレーシアで同定した新しいタイプの組換え型流行株 CRF33_01B の感染性分子クローンの樹立

われわれは、一昨年、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 (CRF33_01B)を見出した。CRF33_01B は、我が国研究機関から報告され、国際的データベースから正式承認された始めての CRF となった。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り、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％見出される。われわれは、PCR 法を用いた方法によって、感染性分子クローン（R5 型）を樹立した。現在、その性質を検討中である。
[Kok Keng Tee、Xiaojie Li、納富香子、草川茂、武部豊、Adeeba Kamarulzaman（マレーシア大学医学部）]

5. 感染性クローンの樹立と方法論の改良

著しい多様性を呈する HIV-1 をその特性を保持したまま迅速に感染性クローンを樹立することを目的に方法論の改良を引き続き試みている。HIV-1 全長ゲノム増幅に用いる PCR 酵素及び Primer 設計をさらに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。この方法論を本邦新規感染者の多くを占める同性間感染で増加傾向が認められる subtype B 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及び西アフリカ・ガーナ国感染者由来ウイルスに応用し総計 639 個に及ぶ多数の感染性分子クローンを樹立し、その内 51 個のクローンについて全ゲノム塩基配列を決定した。

(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 PfuUltra 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) 邦人感染者由来 subtype B 感染性分子クローンの樹立と解析

昨年度は本邦での異性間性感染において流行している主要なウイルスである CRF01_AE 組換体の感染性分子クローンとしてタイ国流行初期のプロトタイプウイルスと邦人感染者から分離した臨床株から感染性分子クローンを構築整備した。一方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については一部昨年度に報告したが、いまだ充分なクローン数には至っていない。そこで本年度は本センター第 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 検体各株と、治療中で典型的な各種薬剤耐性プロフィールを呈するウイルス 6 株から総計 275 の感染性分子クローンを樹立した。そのうちから各株 2 クローンを選別し総計 20 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 subtype B にクラスターされた。これらのクローンは今後同性間感染者で流行する subtype B 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、佐藤才恵、西澤雅子、杉浦　亙、巽　正志]

(3) 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。昨年度 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おり、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事を報告した。今年度は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 MAGIC-5/SEAP 細胞株を用いた Phenotypic Assay を行い Genotyping との相関を解析したところ、Genotyping では捉えられない耐性を Phenotypic Assay が捉え、さらに Genotyping と乖離した耐性度を示すクローンの組合わせを明らかにすることが出来た。今後その耐性機序をこれらクローン間の組換えで責任領域を絞込んで解析していく予定である。

[坂本優子、竹川奈穂、橋本　修、石子博昭（三菱化学メディエンス）松田昌和、西澤雅子、杉浦　亙、巽　正志]

(4) 本邦感染者ウイルスから世界に先駆けた subtype F 及び BF 組換体感染性分子クローンの樹立

本センター第 2 研究グループに全国各地から薬剤耐性試験を依頼された検体から、env C2/V3 領域の RT-PCR による subtyping により subtype F と判定された臨床分離ウイルス 3 株より感染性分子クローン計 45 クローンを樹立し各ウイルス 2 クローンの全ゲノム塩基配列を決定したところ 2 臨床株は subtype F であり、1 臨床株は subtype B と subtype F の新たな構造を持つ組換体である事が判明した。これらのウイルスは南米ブラジルで流行しているウイルスであり、BF 組換体は San Paulo 市において近年特に流行が指摘されている組換体であることが知られている。これら subtype F の構成を持つ HIV-1 としては世界に先駆けての感染性分子クローンを樹立できた。これらのクローンは今後南米で流行するウイルスの浸淫をサーベイするに当たって有用であるものと期待される。

[坂本優子、竹川奈穂、西澤雅子、杉浦　亙、巽　正志]

(5) Ghana で流行する HIV-1 の感染性クローンの樹立と解析：世界に先駆けての CRF06_cpx 感染性分子クローンの樹立

Ghana に多剤併用療法を導入するにあたり、現地で流行している 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の分子基盤として感染性分子クローンの樹立を試みている。昨年度に引き続き今迄感染性分子クローンが得られなかった 9 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。これで部売りできたウイルス全ての感染性分子クローンが得られた。各ウイルス株 2 クローン計 18 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 4 クローンは CRF02_AG 組換体であることから HMA は解析する領域を選別することが必要なことが改めて確認された。本年度は新たに臨床分離株 03ＧＨ173 ウイルスから世界で初めての CRF06_cpx の感染性分子クローンを樹立した。

またCRF02_AG組換体と上記CRF06_cpxの組換体が見つかり、又 CRF02_AG の RT 領域前半に新たに subtype C が組込まれた組換体が得られたことから、ガーナでは第 2 次、あるいは第 3 次の組換体が流行し，その流行ウイルスの構造は複雑であり、既に CRF02_AG 組換体を主体に様々な subtype/CRF 間の同時流行により複雑な組換体が発生する坩堝に成りつつあることが推測された。
[竹川奈穂、坂本優子、徳永研三（感染病理部）、N. Nii-Trebi（野口記念医学研究所、ガーナ）、佐多徹太郎（感染病理部）、巽　正志]

(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用標準パネルの作成

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 が由来する 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、その感度測定を行なったところ、各種診断キットにより subtype/CRF により検出感度が大きく異なることが判明した。今後更に未だ樹立されていない subtype/CRF の感染性分子クローンを構築し、抗原検出の標準パネルとして整備に努める。
[坂本優子、竹川奈穂、巽　正志、水落利明（血液・安全性研究部）]

Ⅴ．HIV ライフサイクルと宿主因子の研究

1. TNF/TNF レセプターファミリー分子、OX40L/OX40 の HIV-1 感染に与える影響

HIV-1 は宿主細胞上の CD4 およびケモカインレセプター(CXCR4, CCR5)を主なレセプターとして感染し、また増殖したウイルスは多くの宿主由来タンパク質をウイルス粒子に取り込み、宿主細胞から放出されることが知られている。その結果、取り込まれたそれぞれの宿主タンパク質がその後のウイルスの感染性に大きな影響を与えているということはこれまで数多く報告されている。我々は、HIV-1 の主な宿主細胞であり、感染や病態に大きく関わる CD4 陽性 T 細胞が OX40 や OX40 リガンド(OX40L)を発現していることや樹状細胞や単球が OX40L を発現していることから、これらの分子が HIV-1 感染に何かしら影響を与えているものと考え、研究を開始した。まず、感染効率への影響を Single round の系を用いて調べるため、gag、pol、 env 遺伝子欠損 Luciferase レポーター遺伝子導入型 pseudotype HIV-1 を 293T 細胞で作製した。このとき、OX40 や OX40L 遺伝子も 293T 細胞に co-transfection し、産生されてくるウイルスにこれらの分子が取り込まれてくるかを magnetic beads を用いた Immunocapture assay で調べた。その結果これらの Pseudotype HIV-1 は OX40、OX40L をエンベロープ上に取り込むことがわかった。またこれらの取り込まれた分子が機能的に働くかを調べるため、標的細胞として T 細胞株の Molt-4/CCR5 を用いて感染実験を行った。あらかじめ Molt-4/CCR5 に OX40 や OX40L を強制発現させ、OX40 や OX40L を取り込んだ Pseudotype HIV-1 を感染させた。3-4 日後 Luc assay を行ったところ、OX40 または OX40L を取り込んだ HIV-1 は取り込んでいないものに比べて明らかに感染を促進した。現在この感染が促進されるメカニズムについて調べている。
[高橋良明、田中勇悦（琉球大学）、村上努、駒野淳、田中礼子（琉球大学）、山本直樹]

2. 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 サンプルを見出した。解析の結果、このマウスモノクローナル抗体は一つの核膜タンパクを特異的に認識していることが明らかになった。このマウスモノクローナル抗体がこの核膜タンパクと Vpr の両方を認識できる事から、これら 2 つのタンパク間には共通な構造があることが示唆された。この核膜タンパクと Vpr の機能の類似性についてはこれまでに報告がなく、Vpr の機能解明の糸口として今後の解析が期待される。また Vpr に対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、岩谷靖雅、永田志保、杉浦 亙、矢野竹男（オリエンタル酵母工業株式会社）]

3. 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を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。今年度はさらに、HIV-1 Envタンパクのウイルス粒子への取込みに関与すると報告のあったTIP47と相互作用する宿主因子を同様の方法論で探索中である。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。
[駒野 淳、篠田知宏、宮川 敬、吉川治孝・高橋信弘（東京農工大学）、村上 努]

4. ミリストイル化非依存的なHIV-1 Gagのassemblyおよびvirus-like particle産生

Gagのミリストイル化がGagの細胞膜targetingそれに続くGag集合・細胞表面への輸送・buddingに必須であると考えられてきたが、その実験的検証は間接的であった。我々はGagのミリストイル化シグナルを欠失させ、N末端にいくつかの異なる膜タンパク質を融合させた。これらを細胞に発現させ、共焦点顕微鏡による細胞内局在、電顕による形態観察、培養上清中のVLPの有無、産生効率、物理的性質を解析した。その結果、ミリストイル化はGagの集合・細胞表面への輸送・VLP産生に関しては膜タンパク質と交換可能であるが、VLP産生効率が低下することが判明した。ウイルスが進化の過程でミリストイル化を選択した理由が単にVLP産生効率を上げるためなのか今後の検討が必要と考えられた。
[青木 徹、二橋悠子、清水佐紀、松田善衛、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（ウイルス曝露非感染モデル）

ウイルス曝露非感染サルモデルの重要性は次のようにまとめられる。人類の中には HIV に濃厚に曝露されるも感染しないヒトが存在する。いわゆるウイルス曝露非感染者である。彼らは理想的な抗 HIV 免疫を獲得していると考えられているため、特にその粘膜免疫の解析はワクチン開発の重要課題となっている。しかしながら、症例の発掘が困難であり、なおかつ粘膜面の解析にはサンプリング量・回数ともに制限が大きい。また、チャレンジ実験が不可能なことから、その症例が真に抗 HIV 免疫を獲得しているのかという確認も不可能である。ウイルス曝露非感染サルモデルはそれらの問題を解決し、HIV 防御免疫本態の詳細情報を提供すると考えられる。昨年度確立した Cell-associated virus 経粘膜感染によるサル/エイズモデルを用いてウイルス曝露非感染サルモデル開発に着手した。まず、カニクイサル 9 頭について、50%感染成立量(AID50)の 1/10 という低力価でのウイルス感染細胞による頻回曝露実験を行った。これらのサルについて 10 倍の AID50 を有するウイルス感染細胞を攻撃接種することにより、防御免疫が誘導されているかを現在確認中である。
[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 *in vivo* におけるマンノースバインディングレクチンの抗 HIV 活性の評価

現在、HIV/AIDSの感染及び病態進行においてケモカインやウイルス感染レセプターの解明により、HIV感染症が自然免疫の強さと深く関わっていることが明らかとなっており、それらの発現は血中のウイルス量のコントロールと相関していることが示唆され、その重要性が明らかになりつつある。自然免疫における液性因子としてケモカインの他に動物レクチンがあり、血清中に認められる動物血清レクチンは、その性状や産生機構などの解析が進められており、生物学的に感染症のコントロールに寄与していることが示唆されている。その一つであるマンノースバインディングレクチン（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感染防御能が確認できている。今回、生体内でのMBLの作用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、動物レ

クチンとして開発された組換えMBLの抗HIV活性を評価した。各組換えMBLを用いて各々をマウスに単回投与した後、コピー数を測定することでウイルス感染時における防御反応を検討した。結果として、MBLはHIVの中和抗体の受動免疫に比べて、感染を完全に阻止しないが、明らかにウイルス増殖を抑制することを認めた。従って、*in vitro*の中和実験の結果を加味すると、広範囲に*in vivo*でも機能することが示唆された。

[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・岸雄一郎・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.　ヒト胎児胸腺・肝臓移植マウスを用いたT リンパ球のサブセットの解析と HIV-1 感染

小動物を用いた HIV/AIDS モデル動物の開発において、我々のグループではNOD/SCIDマウスにヒトPBMCや胎児組織を移植することによりヒトでの HIV 感染を想定したマウス HIV 感染モデル系を作成し利用してきた。ヒト PBMC 感染モデルで見られたこの動物モデルの特徴は X4 野生型ウイルスの感染を再現できることであったが、移植後ナイーブ細胞が消失していくため、初期免疫反応を誘導するのが困難であった。しかし、今回行ったヒト胎児胸腺・肝臓組織を移植した NOD/SCID-hu Thy/Liv マウスは、ヒト PBMC 移植モデルでは消失していく末梢ナイーブT細胞の長期にわたる産生能が確認された。さらに、静注による X4 ウイルス接種で HIV 感染が成立し、$CD4^+CD8^+$ DP 胸腺細胞の減少や、ヒト PBMC 移植モデルマウスで見られた末梢 $CD4^+$ T リンパ球の減少と末梢ウイルスコピー数の増加といった HIV 感染時に特徴的に起こる反応が見られ、特に移植胸腺細胞から感染力価の高いウイルスが得られた。一方、R5 ウイルス接種でも感染が成立し、移植組織より末梢に産生されたヒト細胞が生着したマウス脾臓細胞から感染力価の高いウイルスが分離された。この結果は X4 がナイーブ、R5 がメモリー細胞を標的とするトロピズムの異なる HIV 感染における病原性を再現していおり、HIV 感染モデルとしての有用性が示唆された。

[堀端重男、網　康至(動物管理室)、玉岡有告(済生会中央病院)、山本直樹、本多三男]

4.　マウス HIV 感染モデルを用いた新規 HIV 感染症治療薬剤の開発

RAG2　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、我々が取り組んでいる新規抗 HIV 薬剤の in vivo における HIV 増殖抑制効果について評価を行った。感染成立後に開発中の薬剤で最も有望な化合物を投与した群、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤ネヴィラピンを投与した群、そして薬の投与を行わなかった対象群の 3 群について 7 日、14 日の時点で血中ウイルス量の測定と CD4 陽性細胞数の測定を行った。その結果我々の開発している新薬はネヴィラピンと同等もしくはそれ以上の阻害活性を呈することが確認された。

[西澤雅子、武田 哲、三浦秀佳、厳 驊、藤野真之、村田大悟、杉浦 亙、野村伸彦（富山化学工業株式会社綜合研究所）]

5.　NOG マウスを用いた HIV-1 持続感染モデルの開発

最近開発された 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、ヒト T 細胞を含めた各種リンパ球の発生も起こることから、新しい HIV-1 感染モデルとして期待される。本研究では、移植後出現するヒト細胞の詳細な解析および HIV-1 感染後のウイルス動態の解析を行い、このマウスの HIV-1 感染モデルとしての有用性を検討した。6〜10 週齢の NOG マウスに、1×10^4〜1.2×10^5 個の CD34 陽性細胞を静注した。移植後 2〜7 ヶ月のマウスから各臓器を回収し、発生したヒト細胞の解析を行った。移植後 3 ヶ月以降のマウスについて、R5 HIV-1JRCSF および X4 SHIV-C2/1 を 8 匹ずつ尾静脈より投与し、感染後 2 ヶ月までのプラズマ中のウイルスコピー数を測定した。造血幹細胞移植後、ヒト B 細胞の発生がまず見られ、4 ヶ月以降にヒト T 細胞の顕著な増加がみとめられた。脾臓中には、ヒトリンパ球に加えて、ヒト単球／マクロファージや樹状細胞が観察された。HIV-1 を投与した結果、R5 および X4 HIV-1 両方に感染し、プラズマ中には高いウイルスコピー数が検出された。この viremia は投与後 40 日以降も安定してみられた。本研究により、ヒト造血幹細胞移植 NOG マウスは、長期かつ安定に HIV-1 に感染し、さらに一部のマウスでは、特異的な抗 HIV 抗体賛成が見られたことから、有用な HIV-1 の感染モデルになることが明らかとなった。

[渡辺　哲（東京医科歯科大学難治研）、寺嶋一夫（東京医科歯科大学大学院）、太田信頼、堀端重男、伊藤　守（実中研）、清水則夫（東京医科歯科大学難治研）、本多三男、山本直樹]

6. CCR5 tropic subtype C HIV-1の遺伝子を持つ新規SHIVの作製

HIV-1に対する候補ワクチンを評価するためのマカクザルの感染実験には、SIV、或いはSIVとHIV-1のキメラウイルス（SHIV）が広く用いられている。現在用いられているSHIVはsubtype B HIV-1由来の遺伝子を持つものが殆どであり、他のsubtypeのHIV-1遺伝子を持つSHIVの実用化が望まれている。そこで本実験では、アフリカのザンビア共和国に由来するCCR5 tropic subtype C HIV-1の遺伝子を持つ新規SHIVを作製し、その性状をサルのリンパ球を含む種々の培養細胞を用いて解析、マカクザルの動物実験に有用と思われるものを選抜することを計画した。まず、ウイルス10株より得られた17種のHIV-1分子クローンをもとに、22種の組換えSHIVクローンを作製した。これらの感染性を、R5、及びX4 HIVが感染・増殖できるように改変したHeLa細胞（MAGIC-5A細胞）を用いて調べた結果、13クローンが明瞭な感染性を示した。現在、カニクイザルPBMCを用いて、ウイルスクローンの増殖性の確認試験を行っている。

[阪井弘治、巽　正志、山本直樹]

Ⅶ. 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 19 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、血漿ウイルス量、血漿ウイルス逆転写酵素活性、薬剤履歴、その他）からなる。主機能は、DDBJ の HIV 遺伝子データに対する遺伝子相同性検索、遺伝子系統樹解析、genosubtyping、独自の division 作成機能、V3 部蛋白３次元構造の閲覧機能、臨床データ検索機能である。

本 DB は、研究情報データベース化事業の１つとして国立感染症研究所と科学技術振興事業団と共同で開発され、平成 14 年 10 月に WEB 公開された。

[仲宗根正、科学技術振興機構]

2. HIV-1 の宿主である CD4 陽性 T 細胞のアポトーシス：OX40/OX40L システムの関与

TNF レセプターファミリー分子、OX40 (CD134)は主に活性化 T 細胞上に発現し、そのリガンドである OX40L の結合により、TRAF2 と TRAF5 を介して転写因子 NF-κB を活性化し、細胞増殖や分化に働くことが知られている。我々もまた、HIV-1 感染 T 細胞において OX40 からのシグナルが NF-κB を活性化し、その結果ウイルス産生を促進させること、また OX40 からのシグナルにより HIV-1 感染 T 細胞が細胞死(アポトーシス)も引き起こすことをすでに報告している。一般に HIV-1 感染では、宿主細胞内で産生されるウイルス由来タンパク質が細胞死を誘導したり、ウイルスが細胞から放出される際に物理的に細胞を破壊したり、また Fas/FasL や DR/TRAIL や TNF-RI/TNF が感染細胞に発現誘導され細胞死を引き起こすといったことが報告されている。しかし、全 CD4 陽性 T 細胞のうち HIV-1 感染している T 細胞は数パーセント程度とも言われており、その T 細胞数激減のメカニズムについてはまだはっきりしていない。そこで、OX40/OX40L システムによる細胞死がこれまでに報告されているような HIV-1 感染によるものか、それとも感染していない細胞でも起こりうるものか調べることにした。まず、ヒト OX40 発現ベクターを、エレクトロポレーション法により様々な T 細胞株、単球系細胞株、B 細胞株に導入し、安定に OX40 を発現する細胞株を樹立した。続いてこれらの細胞株にパラフォルムアルデヒド固定したヒト OX40L 発現マウス細胞株を加え、刺激培養した。細胞の生存率はエオシン染色法と一部 Annexin V-FITC/PI 染色法により調べた。その結果、樹立したほとんどの T 細胞株で OX40 刺激により 24 時間以内に細胞死が引き起こされた。このことから OX40 刺激による T 細胞死は HIV-1 に感染していなくても起こりうることがわかった。しかし OX40 は細胞死シグナルに重要な Death Domain を細胞内領域に持たないことから、これまで細胞死に関与するという報告はない。現在このアポトーシスのメカニズムについて調査中である。

[高橋良明、田中勇悦・田中礼子（琉球大学）、山本直樹]

3. HIV-1 におけるヒト遺伝子転移 (human sequence transduction)

われわれは、HIV-1 CRF01_AE 感染日本人症例に、逆

転写酵素遺伝子のフィンガー領域への 33-ヌクレオチドからなる遺伝子挿入による極めて特殊な高度多剤耐性株を見出したが、この挿入変異がどのような機構で発生したか、またその起源は不明であった。この挿入配列の由来を解明するために、全ヒトゲノム配列に対して相同性（BLAST）検索を行った結果、ヒト 17 番染色体にほぼ完全な相同配列が存在することを明らかにした。HIV-1 を含むレトロウイルスでは、染色体にプロウイルスとして組み込まれた場合､約 10%のプロウイルス転写産物は、read-through を起こし､HIV-1RNA とヒト遺伝子に由来するキメラの転写産物が生成する。このキメラの RNA ゲノムと正常な HIV-1 ゲノムが対合し、逆転写反応が起こった場合、両ゲノムの間で微小な相同配列を利用して鋳型乗り換え（いわゆる microhomology-guided template switch）が起こり、HIV-1 ゲノムにヒトゲノムに由来する遺伝子配列が取り込まれたと考えられる。このような現象の古典的な例は、宿主の増殖・細胞周期関連遺伝子の取り込みによる腫瘍原性レトロウイルス（例：ラウス肉腫ウイルス）の発生である。HIV-1 は、他のレトロウイルスに比しても､より高い変異性 (mutagenicity)と組換え能力 (recombinogenicity)をもち、さらに一日当り $10^{9\text{-}10}$ に及ぶ高い増殖能力に加え、長期にわたる持続感染を引き起こすことから、そのゲノム多様性は極めて高いレベルにまで達し、薬剤耐性や免疫学的エスケープが容易に起こりやすいなどなどの際立った性質のウイルス学的基盤となっている。その可塑性が宿主遺伝子の取り込みにまで及ぶことを示した始めての報告であると考えられる。
[Alice Telesnitsky（ミシガン大学微生物)、武部　豊]

4.　ポスト HAART 時代のエイズおよびエイズ関連感染症克服のための創薬シーズ探索：HCV クローン JFH-1 を用いた感染・増殖アッセイに基づくスクリーニング法の樹立とそれによる新規 HCV 阻害剤の同定

多剤併用療法 (HAART)が導入されて以来、我が国を含む先進工業国においては、エイズ死亡率が激減し、エイズ患者の予後の画期的な改善を見ている。しかし、HAART によりエイズ患者の予後が大幅に改善された結果、エイズに関連する HCV や EBV などのウイルス感染症による重篤な肝疾患や悪性リンパ腫による死亡率が高まってきており､「ポスト HAART 時代」の重要な医療課題の一つとなりつつある。HCV や悪性リンパ腫に対する治療の選択肢は限られており、安全で且つ有効性の高い治療薬の開発が待ち望まれている。われわれは、中でも重要性の高い HCV に注目し、脇田らによって樹立された感染性 HCV クローン (JFH-1)を用いた HCV の感染・増殖アッセイ系を樹立・最適化した。HCV サブゲノムを用いるレプリコン・アッセイでは不可能であったエントリー、脱殻などの感染初期過程や、ウイルス粒子放出などの感染最後期過程に対する阻害剤の総合的探索が可能となった。この系を用いて、低分子化合物ライブラリー（分子量 300-500）をスクリーニングした結果、数種のヒット化合物を同定した。各化合物の抗 HCV 増殖阻害効果の IC50 は約 0.1-3 uM、CC50 は数 10 uM であった。興味深いことに、うち 2 種の化合物は、replicon assay では抗ウイルス活性を示さず､また HCV E1/E2 をエンベロープにもつ peudovirion の感染を阻害することから､作用点が感染初期段階にあることが推定された。化合物のいくつかは、subgenomic replicon assay および psudovirio assay の結果から､エントリーあるいは感染最後期過程の阻害剤である可能性が示唆される。現在、これら新規阻害剤の作用機構の詳細とその構造活性相関に関する解析が進行中である。
[上西理恵、磯貝まや、納富香子、長谷彩希、廖　華南、加藤佳代子、武部　豊、鈴木亮介・鈴木哲朗・脇田隆字（ウイルス第二部）]

国際協力関係業務

Ⅰ．JICA との共催による HIV-1 診断技術講習（平成 18 年 6 月 12 日～7 月 14 日　第 4 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）

現在世界的に拡大を続けているHIV-1感染、AIDS発症の予防のためには、HIV-1の蔓延状況の正確な把握が欠かせない。このためには確固とした診断技術に基づいたHIV-1感染診断が必須である。近年HIV-1の感染診断は従来の感染の有無のみを判断する血清学的診断に加えて、感染ウイルスの質、量を知ることができるPCR法に基づいた診断法が重視されるようになってきている。しかし、現在感染の中心となっている第三世界では必ずしもこれらの診断技術が確立されていないのが現状である。これらの状況に対応するため当センターではJICAとの共催により第三世界の研修員を対象にHIV-1の感染診断のための技術講習コースを毎年1回開催している。過去2フェーズ（各フェーズ5年）に渡って血清診断を中心とした研修を行ってきたが、近年の核酸に基づいた診断技術への需要に答えて、平成15年度からは「HIV感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術」と名称を改めPCRや塩基配列解析などを含めた研修を行っている。平成18年度にはケニア、モザンビーク、フィリピン、セーシェル、ジンバブエ、パプア・ニューギニア、マラウィー、エチオピア、ミヤンマー、フィジーの各国1名（計10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3つの小グループ制で行った。特に近い将来核酸技術に基づいた診断方法の導入予定の国が多いことからも研修に対して研修生から高い評価を得た。
[村上　努、仲宗根正、杉浦　亙、鈴木寿子、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、松田善衛、石川晃一、森　一泰、駒野　淳、山本直樹、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、木村幹男(感染症情報センター)、菊池　嘉(国立国際医療センター)、若杉なおみ(早稲田大学)、畢　秀瓊(国立国際医療センター)、増田道明(獨協医科大学)、俣野哲朗（東京大学医科学研究所)、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.　JICA　ジェンダーの視点を取り入れた社会福祉政策の視察研修　講師（平成 18 年 8 月 30 日）[山本直樹]

2.　JICA　ナイジェリア HIV 感染予防対策研修コース（北海道大学）講師（平成 18 年 9 月 1 日）[杉浦　亙]

3.　JICA　ナイジェリア HIV 感染予防対策研修コース講師「日本の HIV/AIDS の現状と対策について」（平成 18 年 9 月 7 日）[村上　努]

4.　日本学術振興会　論博研究者受入（平成 18 年 9 月 25 日～11 月 18 日）[杉浦　亙]

5.　結核予防会　アジア地域エイズ専門家研修　講師（平成 18 年 10 月 13 日）[松田善衛]

6.　JICA　ミャンマー主要感染症対策プロジェクト、カウンターパート研修、HIV/AIDS 対策　講師（平成 18 年 12 月 7 日）[巽　正志]

7.　JICA　カメルーン国社会問題省調査団視察　講師（平成 19 年 3 月 15 日）[山本直樹]

研修業務

Ⅰ．第 17 回 HIV-1, HIV-2 検査法（PCR 法等）技術研修会（平成 18 年 10 月 18 日−20 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、椎野禎一郎、草川　茂、石川晃一、駒野　淳、鈴木寿子、西澤雅子、藤野真之、武田　哲、山本直樹、今井光信(神奈川県衛生研究所)、嶋　貴子(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)、有吉紅也(長崎大学熱帯医学研究所)]

Ⅱ．その他

1.　医師卒後臨床研修プログラム　講師「エイズの現状と問題点」（平成 18 年 12 月 15 日）[村上　努]

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1．欧文発表

1) Dewan MZ, Terunuma H, Toi M, Tanaka Y, Katano H, Deng X, Abe H, Nakasone T, Mori N, Sata T, Yamamoto N. Potential role of natural killer cells in controlling growth and infiltration of AIDS-associated primary effusion lymphoma cells. Cancer Sci. 97: 1381-1387, 2006.
2) 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.
3) Someya K, Ami Y, Nakasone T, Izumi Y, Matsuo K, Horibata S, Xin KQ, Yamamoto H, Okuda K, Yamamoto N, 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.
4) 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.
5) 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. Journal of Virology, 80: 5563-5570, 2006.

6) 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 & Infection, 8: 1539-1549, 2006.
7) 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 to systemic organs and active replication in lymphoid tissues following intrarectal infection. Journal of General Virology, 87: 1311-1320, 2006.
8) 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. 176:463-71, 2006.
9) Okamura T, Someya K, Matsuo K, Hasegawa A, Yamamoto N, Honda M: Recombinant vaccinia DIs expressing simian immunodeficiency virus Gag and Pol in mammalian cells induces efficient cellular immunity as a safe immunodeficiency virus vaccine candidate. Microbiol. Immunol. 50: 989-1000, 2006.
10) Hamano T, Matsuo K, Hibi Y, Takahashi N, Sawanpanyalert P, Yanai H, Hara T, Yamazaki S, Yamamoto N, Okamoto T: A single synonymous mutation in gag gene controlling human immunodeficiency virus type 1 virion production. J. Virol. 81: 1528-1533, 2006.
11) Koga I, Odawara T, Matsuda M, Sugiura W, Goto M, Nakamura T, Iwamoto A: Analysis of HIV-1 sequences before and after co-infecting syphilis. Microbes Infect. 8(14-15): 2872-2879, 2006.
12) Omura M, Furuya K, Kudo S, Sugiura W, Azuma H.: Detecting IgM antibodies against microsporidian Encephalitozoon cuniculi polar tubes in sera from healthy and HIV-infected Japanese. Clin Vaccine Immunol. 14(2): 168-172, 2006.
13) 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 AM.: Discordances between Interpretation Algorithms for Genotypic of Human Immunodeficiency Virus Are Subtype Dependent. Antimicrob Agents Chemother. 50(2): 694-701, 2006.
14) Ode H, Neya S, Hata M, Sugiura W, Hoshino T. Computational simulations of HIV-1 proteases-multi-drug resistance due to nonactive site mutation L90M. J Am Chem Soc. 128(24): 7887-7895, 2006.
15) 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. (Web Server issue) 34: W448-W450, 2006.
16) Takebe Y, Telesnitsky A: Evidence for the acquisition of multidrug resistance by an HIV clinical isolate *via* human sequence transduction. Virology 351: 1-6, 2006.
17) Murakami Y, Yamagoe S, Noguchi K, Takebe Y, Uehara Y, Fukazawa H: Ets-1-dependent expression of vascular endothelial growth factor receptors is activated by Latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus through interaction with Daxx. J. Biol. Chem. 281(38): 28113-28121, 2006.
18) Tee K K, Li X-J, Nohtomi K, Ng K P, Kamarulzaman A, Takebe Y: Identification of a novel circulating recombinant form (CRF33_01B) disseminating widely among various risk populations in Kuala Lumpur, Malaysia. J. AIDS 43(5): 523-529, 2006.
19) Rodriguez MA, Chen Y, Craigo JK, Chatterjee R, Ratner D, Tatsumi M, Roy P, Neogi D, Gupta P: Construction and characterization of an infectious molecular clone of HIV-1 subtype A of Indian origin. Virology 345: 328 – 336, 2006.
20) Miyauchi K, Komano J, Myint L, Futahashi Y, Urano E, Matsuda Z, Chiba T, Miura H, Sugiura W, Yamamoto N: Rapid propagation of low-fitness drug resistant mutants of human immunodeficiency virus type 1 by a streptococcal metabolite sparsomycin. Antivir Chem Chemother 17(4):

167-174, 2006.

21) Miyauchi K, Curran R, Matthews E, Komano J, Hoshino T, Engelman DM, Matsuda Z. Mutations of conserved glycine residues within the membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 gp41 can inhibit membrane fusion and incorporation of Env onto virions. Jpn J Infect Dis. 59(2): 77-84, 2006.

22) 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: Characteristic of hepatitis B virus in Ghana: full length genome sequences indicates the endemicity of genotype E in West Africa. J Med Virol. 78: 178-184, 2006.

23) Ozawa S, Eda H, Hayashi K, Cooperation Group for HSV-1 RFLP Variants Study, Yoshino K, Yanagi K: The geographical distribution of the herpes simplex virus-1 BgK_L variant in Japan is a gradient suggesting gradual dispersion of the virus from Shikoku Island to the other islands. J Clin Microbiol 44: 2109-2118, 2006.

24) Kitamura R, Sekimoto T, Ito S, Harada S, Yamagata H, Masai H, Yoneda Y, Yanagi K: Nuclear import of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 mediated by NPI-1 (importin a5) is up- and down regulated by phosphorylation of the nuclear localization signal for which 379Lys and Arg380 are essential. J Virol 80: 1979-1991, 2006.

25) Yamamoto M, Okamoto T, Takeda K, Sato S, Sanjo H, Uematsu S, Saitoh T, Yamamoto N, Sakurai H, Ishii KJ, Yamaoka S, Kawai T, Y Matsuura, Takeuchi O, Akira S: Key function for the Ubc13 E2 ubiquitin-conjugating enzyme in immune receptor signaling. Nat Immunol. 7(9): 962-970, 2006.

26) 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: 273-276, 2006.

27) 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: 598-605, 2006.

28) 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: 3412-3415, 2006.

29) 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: 2354-2357, 2006.

30) 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(1-2): 47-56. 2006.

31) Shigeta S, Mori S, T Yamase, Yamamoto N, Yamamoto N: Anti-RNA virus activity of polyoxometalates. Biomed Pharmacother. 60(5): 211-219, 2006.

32) 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: 431-443, 2006.

33) 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.

34) 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.

35) Yamaguchi K, Sugiyama T, Takizawa M, Yamamoto N, Honda M, Natori M: Viability of infectious viral particles of HIV and BMCs in breast milk. Clin Virol. 39: 222-225, 2007.

36) Ode H, Matsuyama S, Hata M, Hoshino T, Kakizawa J, Sugiura W: Mechanism of drug resistance due to N88S in CRF01_AE HIV-1 protease, analyzed by molecular dynamics simulations. J Med Chem. 50(8): 1768-1777, 2007.

37) Chiba-Mizutani T, Miura H, Matsuda M, Matsuda Z, Yokomaku Y, Miyauchi K, Nishizawa M, Yamamoto N,

Sugiura W.:Use of new T-cell-based cell lines expressing two luciferase reporters for accurately evaluating susceptibility to anti-human immunodeficiency virus type 1 drugs. J Clin Microbiol. 45(2): 477-487, 2007.

38) Hamatake M, Nishizawa M, Yamamoto N, Kato S, Sugiura W: A simple competitive RT-PCR assay for quantitation of HIV-1 subtype B and non-BRNA in plasma. J Virol Methods. 142: 113-117, 2007.

39) Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, Yoshida S, Asagi T, Kondo M, Sadamasu K, Tsukada H, Masakane A, Mori H, Takata N, Nakagiri I, Minami R, Tateyama M, Koike T, Itoh T, Imai M, Gejyo F, Ueda M, Hamaguchi M, Kojima Y, Shirasaka T, Kimura A, Yamamoto M, Fujita J, Oka S, Sugiura W: Nationwide Survey of Drug-Resistant HIV-1 Prevalence in Patients Newly Diagnosed with HIV/AIDS in Japan. Antiviral Res, 75(1): 75-82, 2007.

40) Kassu A, Fujino M, Matsuda M, Nishizawa M, Ota F, Sugiura W: Molecular Epidemiology of HIV-1 in Treatment Naïve Patients in North Ethiopia, AIDS Res Hum Retroviruses, 23(4): 564-568, 2007.

41) Deforche K, Camacho R, Grossman Z, Silander T, Soares MA, Moreau Y, Shafer RW, Van Laethem K, Carvalho AP, Wynhoven B, Cane P, Snoeck J, Clarke J, Sirivichayakul S, Ariyoshi K, Holguin A, Rudich H, Rodrigues R, Bouzas MB, Cahn P, Brigido LF, Soriano V, Sugiura W, Phanuphak P, Morris L, Weber J, Pillay D, Tanuri A, Harrigan PR, Shapiro JM, Katzenstein DA, Kantor R, Vandamme AM: Bayesian network analysis of resistance pathways against protease inhibitors. Infect Genet Evol. 7(3): 382-390, 2007.

42) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Notomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J: Inhibiting lentiviral replication by HEXIM1, a cellular negative regulator of the CDK9/cyclin T complex. AIDS 21: 575-582, 2007.

43) Takebe Y, Li S: Molecular epidemiology of HIV (Update): Understanding the genesis of global AIDS epidemic. Book Chapter for “HIV: Molecular biology and pathogenesis: viral mechanisms: 48” (Elsevier Book series), 2007.

44) Pereira LE, Villinger F, Onlamoon N, Bryan P, Cardona A, Pattanapanyasat K, Mori K, Hagen S, Picker L, Ansari AA: SIV infection influences the level and function of Tregs in SIV-infected rhesus macaques but not SIV-infected sooty mangabeys. J Virol. 81: 4445-4456, 2007.

45) Ansari AA, Pereira LE, Mayne AE, Onlamoon N, Pattanapanyasat K, Mori K, Villinger F: The role of disease stage, plasma viral load and regulatory T cells (Tregs) on autoantibody production in SIV-infected non-human primates. J Autoimmunity. 28: 152-159, 2007.

46) Tanaka-Takahashi Y, Yasunami M, Naruse T, Hinohara K, Matano T, Mori K, Miyazawa M, Honda M, Yasutomi Y, Nagai Y, Kimura A: Reference strand-mediated conformation analysis (RSCA) – based typing of multiple alleles in the rhesus macaques MHC class I Mamu-A and I Mamu-B loci. Electrophoresis. 28: 918-924, 2007.

47) Murakami T, Yamamoto N: AIDS: How do we overcome this social or biodisaster (Review)? The Journal of Disaster Research 2 (2): 71-80, 2007.

48) Ozawa S, Eda H, Ishii Y, Ban F, Funabashi T, Hata S, Hayashi K, Iga H, Ikushima T, Ishiko H, Itagaki T, Kawana R, Kobayashi S, Ogino T, Sekizawa T, Shimomura Y, Shiota H, Mori R, Nakakita T, Numazaki Y, Ozaki Y, Yamamoto S, Yoshino K, Yanagi K: The HSV-1 BgKL variant, unlike the BgOL variant, shows a higher association with orolabial infection than with infections at other sites, supporting the variant dispersion-replacement hypothesis. J Clin Microbiol 45: 2183-2190, 2007.

49) Eda H, Ozawa S, Cooperation Group for HSV-1 RFLP Variant Study, Yoshino K, Yanagi K: Contrasting geographic distribution profiles of the herpes simplex virus type 1 BgO_L and BgK_L variants in Japan suggest dispersion-and-replacement. J Clin Microbiol 45: 771-782, 2007.

50) Tsurutani N, Yasuda J, Yamamoto N, Choi BI, Kadoki M, Iwakura Y: Nuclear import of the preintegration complex is blocked upon infection by human immunodeficiency virus type 1 in mouse cells. J Virol. 81: 677-688, 2007.

51) Someya K, Xin KQ, Ami Y, Izumi Y, Mizuguchi H, Ohta S, Yamamoto N, Honda M, Okuda K: Chimeric adenovirus type 5/35 vector encoding SIV gag and HIV env genes affords protective immunity against the simian/human immunodeficiency virus in monkeys. Virology. in press.

2. 和文発表

1) 水谷哲夫、高橋良明、村上邦仁子、工藤知子、岩下光彦、清水正一、山本直樹:サブサハラ・アフリカ地

域における HIV/AIDS：特にザンビア共和国の現状と対策．VIRUS REPORT. 3 (1): 98-108，2006.
2) 松尾和浩、山本直樹、本多三男：AIDS 感染予防および治療ワクチン開発の戦略（総説）医学のあゆみ．218: 923-930，2006.
3) 本多三男：変動するエイズワクチンの開発戦略．バイオインダストリー、12:10-17, 2006.
4) 杉浦 亙：新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV-1 の動向調査（2003～2004 年）． 病原微生物検出情報．27(5):119-120, 2006.
5) 杉浦 亙：薬剤耐性検査の方法と検査時期．治療．88,2006.
6) 杉浦 亙：OVERSEAS （不定期連載の海外学会レポート）第 13 回レトロウイルスと日和見感染症学会．30, 2006.
7) 西澤雅子、柴田潤子、杉浦 亙：ウイルス感染制御における ncRNA の役割. 実験医学. 24(6):805-809, 2006.
8) 杉浦 亙：HIV の耐性化機序．日本臨床 増刊 新感染症学（上）新時代の基礎・臨床研究．2006.
9) 杉浦 亙：生体防御医学辞典．朝倉書店 2006.

Ⅱ．学 会 発 表

1．国際学会

1) Takebe Y: Compilation of recombination breakpoints of HIV-1 chimeras comprised of CRF01_AE and subtype B/B' emerging in Asia: Biological and epidemiological implications. 13th HIV dynamics and evolution, Apr. 5-8, 2006, Woods Hole, MA, USA.
2) Yan H, Shiomi K, Nomura N, Chiba-Mizutani T, Miura H, Takakura T, Tanaka H, Sugiura W: New HIV-1 integrase inhibitors identified from small molecule chemical library and microbial metabolites. International Workshop on Discovery of antiviral compounds. Apr. 26-29, 2006, Lubeck, Germany.
3) Takebe Y: Strategic research project on AIDS and related infectious diseases in ARC, NIID (Shinjuku,Tokyo). Drug discovery and vaccine development program: Our "Seeds". 2nd eIMBL Workshop, May 20-21, 2006, Seoul, Korea.
4) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J: Inhibiting HIV-1 replication by HEXIM1, a cellular inhibitor of cdk9/cyclinT complex (P-TEFb). CSH Meeting on Retroviruses, May 23-27, 2006, Cold Spring Harbor, NY, USA.
5) Ueda T, Itaya M, Tusge K, Fujita K, Matsuda M, Nishizawa M, Sugiura W: Reconstruction of HIV-1 full genome clones with Bacillus subtilis. HIV Drug Resisitance Workshop. Jun 13-17, 2006, Spain.
6) Takebe Y: Molecular epidemiology of HIV in Asia: Understanding the genesis of Asia's expanding AIDS epidemic. Combating the "Big Three" Diseases: AIDS, Tuberculosis and Malaria, Symposium on infectious diseases, June 15, 2006, Royal Netherlands Embassy, Tokyo.
7) Naito Y, Takebe Y, Ui-Tei K, Saigo K: siVirus: web-based antiviral siRNA design software for highly divergent viral sequences. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology/11th FAOBMB Congress, June 18-23, 2006, Kyoto, Japan.
8) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J: Inhibiting HIV-1 replication by HEXIM1, a cellular inhibitor of cdk9/cyclinT complex (P-TEFb), Poster, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress in conjunction with 79th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society and 29th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. Jun 18-23, 2006, Kyoto, Japan.
9) Miyauchi K, Curran R, Mathews E, Komano J, Murakami T, Yamamoto N, Engelman DM, Matsuda Z: Alteration of intracellular transport of the envelope protein of HIV-1 by a shift in a helical phase within its membrane-spanning domain. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress in conjunction with 79th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society and 29th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. Jun 18-23, 2006, Kyoto, Japan.
10) Xia X, Yu J, Zhao W, Ben K, Zhang N, Tee KK, Li X-J, Takebe Y: Unique profile of HCV genotype distribution among HIV/HCV co-infected. Injecting Drug Users in Yunnan Province, China: Identification of novel HCV genotype and implications for interrelationship with surrounding regions. 6th China-Japan Virology Congress, June 22-24, 2006, Shanghai, China.
11) Naito Y, Takebe Y, Ui-Tei K, Saigo K, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y: Rational design and evaluation of the effect of siRNA targeted to HIV-1 group M genomes using

bioinformatics approach. 6th China-Japan Virology Congress, June 22-24, 2006, Shanghai, China.

12) Li X-J, Hoshina Y, Yokota Y, Aye KT, Thwe M, Xia X, Kusagawa S, Takebe Y: Dual infections with multiple lineages of HIV-1 strains in unique geographical recombination “hotspots” in Asia. 6th China-Japan Virology Congress, June 22-24, 2006, Shanghai, China.
13) Matsuo K, Okamura T, Kanekiyo M, Hattori S, Horibata S, Yamamoto N, Honda M: Humoral and cellular immune-targeted prime-boost HIV vaccine consisted of recombinant BCG and replication-defective vaccinia virus DIs. The 16th International AIDS Conference, Aug. 13-18, 2006, Toronto, Canada.
14) Yoshino N, Kanekiyo M, Okamura T, Hagiwara Y, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Yamamoto N, Sato S, Honda M: Replication-deficient vaccinia virus DIs recombinant as an effective and safe mucosal vaccine for immunodeficiency virus. The 16th International AIDS Conference, Aug. 13-18, 2006, Toronto, Canada.
15) Kanekiyo M, Ami Y, Matsuo K, Someya K, Okamura T, Suzaki Y, Yoshino N, Yamamoto N, Honda M: A low-dose codon-optimized recombinant BCG-based HIV vaccine: prime-boost vaccination with recombinant BCG and replication-defective recombinant vaccinia virus DIs evokes SIV-specific immunity which overcome the anamnestic BCG immunity in macaques. The 16th International AIDS Conference, Aug. 13-18, 2006, Toronto, Canada.
16) Tee KK, Li X-J, Nohtomi K, Ng KP, Kamarulzaman A, Takebe Y: Identification of a Novel circulating recombinant form (CRF33_01B) disseminating widely among various risk populations in Malaysia. XVI IAC, Aug. 13-18, 2006, Toronto, Canada.
17) Ryo A, Tsurutani N, Morikawa Y, Yamamoto N: Identification and characterization of a novel host factor that regulates the microtubule-dependent transport of HIV-1 Gag. 6th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sept. 3-7, 2006, Awaji, Japan.
18) Komano J: Characterization of neutralizing antibodies found in long-term non-progressors of Japanese hemophiliacs. 3rd Taiwan-Japan Symposium on HIV/AIDS. Sept. 7-8, 2006, Taipei, Taiwan, R.O.C.
19) Mori K: What is the mechanism of pathogenicity of HIV/SIV determined by glycosylation of Env? : Study on immunological properties of a novel attenuated deglycosylation mutant that elicits protective immune responses in monkey AIDS model, 3rd Taiwan-Japan Symposium on HIV/AIDS, Sept. 7-8, 2006, Taipei, Taiwan.
20) Yamamoto N: Hematopoietic Stem Cell-Engrafted NOD/SCID/IL2Rγ^{null} Mice Develop Human Lymphoid System and Induce Long-Lasting HIV-1 Infection with Specific Humoral Immune Responses. Taiwan-Japan Symposium on HIV/AIDS. Sept. 7-8, 2006, Taipei, Taiwan.
21) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J: Inhibiting HIV-1 replication by HEXIM1, a cellular inhibitor of CDK9/Cyclin T complex (P-TEFb). 7th AIDS Seminar in Kumamoto, Sept. 21-22, 2006, Kumamoto, Japan.
22) Nakasone T, Kanekiyo M, Yoshino N, Ami Y, Yamamoto N: Cell-Associated SHIV Infection to Cynomolgus Monkeys. 24th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Oct. 4-7, 2006, Atlanta, USA.
23) Sugimoto C, Ono F, Nakamura S, Izumo S, Yamamoto N, Nagai Y, Suzuki Y, Mori K: Clues for the attenuation of deglycosylated mutant of SIV239 in the primary infection. 24th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. Oct. 4-7, 2006, Atlanta, USA.
24) Mori K, Sugimoto C, Ono F, Nakamura S, Nagai Y, Suzuki Y, Villinger F, Ansari A, Yamamoto N: Suppression of SIV239 challenge infection in the animals controlling pre-existing SIV infections with attenuated viruses or pathogenic viruses. 24th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. Oct. 4-7, 2006, Atlanta, USA.
25) Honda M, Matsuo K, Kanekiyo M, Yamamoto N, Nabel GJ: A *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin vector vaccine elicits immunity to HIV-1 Env and tuberculosis. VRC Scientific Training Retreat, Oct. 18-20, 2006, Philadelphia, USA.
26) Matsuo K, Okamura T, Kanekiyo M, Horibata S, Hattori S, Yamamoto N, Nabel GJ, Honda M: *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin vector-based prime/boost vaccine expressing modified human immunodeficiency virus type 1 Envelope. VRC Scientific Training Retreat, Oct. 18-20, 2006, Philadelphia, USA.
27) Kanekiyo M, Matsuo K, Hamatake M, Matsumoto S, Yamada T, Ami Y, Someya K, Suzaki Y, Yoshino N,

Yamamoto N, Honda M: Codon optimization of HIV/SIV genes in recombinant BCG for HIV vaccine development. VRC Scientific Training Retreat, Oct. 18-20, 2006, Philadelphia, USA.

28) Bandaranayake RM. Prabu-Jeyabalan M, Kakizawa J, Sugiura W, Shiffer C: Structural Analysis of HIV-1 CRF01_ Protease in Complex with the Substrate p1-p6. 7th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Nov.12-15, 2006, Virginia, USA.

29) Shibata J, Nishizawa M, Matsuda M, Sugiura W, Ren F, Tanaka H: Analysis of Co-Evolution Between Mutations in Protease Inhibitor Resistance and in Gag. 7th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Nov.12-15, 2006, Virginia, USA.

30) Takebe Y, Telesnitsky A: Role of recombination-Driven human sequence transduction on the genesis of multiple-drug resistant mutant identified in Japan. 7th Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov. 12-15, 2006, Chantilly, Virginia, USA.

31) Komano J, Futahashi Y, Isogai M, Hamatake M, Matsuda Z, Shiino T, Takebe Y, Sato H, Yamamoto N: Drug resistance mutations in the polymerase catalytic domain negatively affect the RNase H activity of HIV-1 reverse transcriptase. 7th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Nov 12-15, 2006, Chantilly VA, USA.

32) Murakami T, Yasutomi E, Ablan S, Miyakawa K, Komano J, Matsuda Z, Freed EO, Yamamoto N: Detailed analyses of HIV-1 matrix mutants: Effects on an early stage of infection. 7th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Nov. 12-15,2006, Chantilly VA, USA.

33) 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. 2nd German-Japanese HIV Symposium, Nov. 24, 2006, Bochum, Germany.

34) Takebe Y, Sato H, Shiino T, Telesnitsky A: High level of plasticity and flexibillity of HIV-1: Detection of unusual case of human sequence transduction. Us-Japan Cooperative Medical Science Program: 19th Joint Meeting of the AIDS Panels, Dec. 6-7, 2006, Kagoshima, Japan.

35) Komano J: Broadly reactive strong neutralizing antibody against HIV-1 in long-term survivors of HIV-1-infected haemophiliacs. The US-Japan Cooperative Medical Science Program 19th Joing Meeting of AIDS Panel. Dec. 6-7, 2006, Kagoshima, Japan.

36) Yamamoto N, Honda M: 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. US-Japan Cooperative Medical Science Program, 19th Joint Meeting of the AIDS Panels, Dec. 6-7, 2006, Kagoshima, Japan.

37) Sugiura W: Drug Resistance assays. International Conference on Molecular and Cellular Biology of Therapeutics of HIV and Associated Viral Infections. Jan.12-14, 2007, Hyderabad, India.

38) Komano J et al: Broadly reactive strong neutralizing antibody against HIV-1 in long-term survivors of HIV-1-infected haemophiliacs. Keystone symposia, HIV vaccine and molecular and cellular determinants of HIV pathogenesis. Mar. 25-30, 2007, Whistler, British Columbia, Canada.

2．国内学会

1) Hua Yan、Nobuhiko Nomura、Tomoko Chiba-Mizutani、Hideka Miura、Tadakazu Takakura、Satoshi Takeda、Wataru Sugiura: New HIV-1 integrase inhibitors identified from small molecule chemical library. 第 16 回抗ウイルス化学療法研究会. 2006 年 5 月 26-27 日, 福島.

2) 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 ワクチンによる粘膜免疫誘導. 第 4 回岩手医科大学先端医療研究センター公開シンポジウム、2006 年 7 月 26 日、盛岡市.

3) 岩谷靖雅、レビンジュディス、杉浦 亙: APOBEC3G の HIV-1 の逆転写阻害メカニズム. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.

4) 三浦秀佳、千葉智子、滝澤万里、松田昌和、西澤雅子、本多三男、杉浦 亙: ヒト細胞由来レポーター細胞 MARRBLE を用いた臨床分離株薬剤感受性検査の評価、第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.

5) 柴田潤子、西澤雅子、松田昌和、長谷川直紀、吉田いづみ、杉浦　亙,、任　鳳蓉、田中　博: 抗 HIV 剤治療下における Protease と Gag の相互干渉と共進化に関する解析.第 54 回日本ウイルス学会学術集会、

2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.

6) 草川茂、武部豊：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、第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.
7) 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：宿主因子 APOBEC3G に対する HIV-1 Vif の抑制活性の多様性、第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.
8) 青木徹、貝の瀬由成、二橋悠子、清水佐紀、松田善衛、山本直樹、駒野　淳：HIV-1 GagN 末端のミリスチン酸化非依存的な分子集合・出芽および VLP の性質に関する解析、第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.
9) 濱武牧子、浦野恵美子、花房忠次、加藤真吾、Tee Kok Keng、武部　豊、山本直樹、駒野　淳：AIDS 長期未発症の HIV 感染血友病患者における高力価中和抗体の存在とその病期進行への寄与に関する解析.第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.
10) 駒野　淳、二橋悠子、磯貝まや、濱武牧子、松田善衛、佐藤裕徳、椎野貞一郎、武部　豊、山本直樹：挿入変異を伴う多剤耐性 HIV-1(CRF01_AE)における薬剤耐性亢進のメカニズムー薬剤耐性獲得における RNase H 活性の関与.第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.
11) 駒野淳、姉崎裕介、二橋悠子、磯貝まや、藤　義秀、星野忠次、武部　豊、山本直樹：HIV-1 の逆転写酵素が持つ RNase H 活性に対する特異的阻害剤の開発.第 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.
12) 篠田知宏、村上　努、安冨英理子、真鍋美奈子、宮内浩典、駒野　淳、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 54 回日本ウイルス学会学術集会、2006 年 11 月 19 日～21 日、名古屋市.
13) 小池 満、三好 洋、山口洋子、奥瀬千晃、中島由紀子、井上靖之、鈴木貴雄、高橋正知、三浦偉久男、杉浦　亙、中島秀喜: HIV/HIB 重複感染例の検討-、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
14) 古賀一郎、小田原 隆、松田昌和、杉浦 亙、後藤美江子、中村哲也、岩本愛吉: 良好な HIV 治療中に合併した梅毒感染前後での HIV プロウイルス塩基配列の変化.第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
15) 大出裕高、松山 翔、柿澤淳子、杉浦　亙、星野忠次: CRF01_AE HIV-1 における NFV 耐性変異 N88S の出現メカニズムに関する構造学的知見.第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
16) 藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史朗、浅黄 司、吉田繁、正兼亜季、大家正泰、渡邊香奈子、潟永博之、松田昌和、貞升健志、岡田清美、近藤真規子、奏 眞美、溝上泰司、森 治代、南 留美、杉浦　亙、金田次弘: HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のバリデーション、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
17) 西澤雅子、加藤真吾、三浦秀佳、山本直樹、杉浦 亙: 細胞内における抗 HIV 薬（プロテアーゼ阻害剤）の薬剤濃度のモニタリング、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
18) 草川茂、武部豊：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、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
19) 村上　努、大隈　和、熊倉　成、田中礼子、谷中幹郎、田中勇悦、山本直樹：新規 CXCR4 アンタゴニスト KRH-3166 は経口利用可能な高活性 HIV-剤である、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
20) 杉本智恵、中山英美、塩田達雄、山本直樹、永井美之、森　一泰：新規糖鎖欠損 SIV の性質とアカゲザルでの感染、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
21) 森　一泰：Immune correlates: Lessons from a novel attenuated mutant virus. 第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
22) Komano J : Myristoylation independent assembly, transport, and VLP formation of HIV-1 Gag.第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日 東京.
23) 駒野　淳、 姉崎裕介、二橋悠子、磯貝まや、武部豊、山本直樹：HIV-1 の逆転写酵素に内在する RNase H 活性阻害薬の開発（１）―小分子化合物ライブラリーからのスクリーニング、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.
24) 濱武牧子、浦野恵美子、花房忠次、加藤真吾、Tee Kok Keng、武部豊、山本直樹、駒野　淳：血友病患者に

おけるエイズ長期未発症症例における高力価中和抗体の存在と標的部位の同定、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.

25) 駒野淳、二橋悠子、磯貝まや、濱武牧子、松田善衛、佐藤裕徳、椎野貞一郎、武部　豊、山本直樹：HIV-1 逆転写酵素 polymerase active site への薬剤耐性変異が誘導する RNase H 活性の低下と耐性亢進への寄与、第 20 回日本エイズ学会学術集会、2006 年 11 月 30 日～12 月 2 日、東京.

26) Takebe Y、Sato H、Shiino T、Telesnitsky A: Role of recombination-driven human sequence transduction on the genesis of multiple-drug resistant mutant identified in Japan. 第 6 回分子環境予防医学研究会、2006 年 12 月 1-2 日、京都.

27) 堀端重男、網　康至、大谷克城、坂本隆志、岸雄一郎、木佐木博、鈴木定彦、駒野　淳、山本直樹、若宮伸隆、本多三男：ヒト PBMC 移植 NOD/SCID マウスを用いた *in vivo* におけるマンノースバインディングレクチンの抗 HIV 活性の評価、第 36 回日本免疫学会学術集会、2006 年 12 月 11-13 日、大阪.

28) 駒野　淳：HIV-1 複製制御の分子メカニズムとエイズ治療法への展望、造血幹細胞移植と感染症対策、2007 年 2 月 3 日、東京.

29) 岡村智崇、松尾和浩、志田壽利、山本直樹、本多三男、長谷川篤彦：高発現型ワクシニア合成 Promoter を用いた高度弱毒化ワクシニアウイルス DIs の至適化、日仏獣医学会総会・第 36 回研究例会、2007 年 3 月 1 日、東京.

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

当センター（平成 17 年 10 月発足）は、ウイルス感染症の発症に係わる宿主遺伝子の探索･解析を行う第一室、病原性ウイルスのゲノム解析を行う第二室、病原性細菌のゲノム解析を行う第三室から構成されている。

第一室では、遺伝子治療に用いられるウイルスベクターに関する研究と子宮頸癌の原因となるヒトパピローマウイルスの研究を進めた。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、治療に用いる遺伝子の導入効率の向上と導入遺伝子の発現調節機能を持つウイルスベクターの必要性を示しており､新型ウイルスベクターが内外で開発されている。一方、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臨床応用では、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。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。今後、臨床応用が増えると考えられるアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターの性質を調べる研究を継続した。また、ベクターDNA が細胞染色体に組み込まれる際に生ずる挿入変異が細胞癌化の原因となり得ることから、非組み込み型ベクターの開発を進めた。

HPV は性行為等で生じた粘膜の微少なキズから侵入し、表皮基底細胞（幹細胞）の核内にエピゾームとして潜伏・持続感染する。感染細胞が分化し表皮形成に至る過程で順次ウイルスゲノムの複製とキャプシド蛋白質の発現が起こり、子孫ウイルスが形成される。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の解析をした。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た。米国や欧州の製薬会社で開発された第一世代 HPV ワクチンの導入が近いと予想されるので、その安全性、有効性の実用的な評価系の作製を開始した。

第二室では､ノロウイルス(ウイルス性下痢症の主因)、C 型肝炎ウイルス、HIV、内在性ブタレトロウイルス等を中心に、ゲノム情報のデータベースを構築した。これらの RNA ウイルスのゲノムには変異が高頻度で起こることが知られている。蓄積したゲノム情報を解析し、変異に基づく抗原性、増殖能や感染宿主域の変化を予測することが研究の目標で、得られる情報はウイルス感染の迅速診断や予防・治療に役立つ。ウイルス蛋白質の結晶構造を基に、変異によって生じる構造変化と機能修飾を計算科学で解析する技法を導入し､発展させる研究を行った。臨床材料や情報の取得が重要であり、感染研内外との共同研究を積極的に進めた。

臓器移植に用いる移植用臓器の不足を補うため、ブタ臓器を利用する研究が進められている。我が国でも、ヒトの補体による拒絶反応を軽減できる遺伝子改変ブタが開発されているが、内在性レトロウイルスは臓器の品質管理では排除できず、被移植患者に感染する可能性がある。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、その詳しい性状を調べている。ドナー動物由来感染症が生じると、患者から周辺の人々に感染が拡大する危惧があり、異種移植の安全性確保に不可欠な研究である。

第三室では、細菌のゲノム情報をもとに病原性を解析する研究を立ち上げた。病原性大腸菌のように、常在菌であっても外来性の毒素産生能や薬剤耐性を獲得して、病原性を持つので、非病原性常在菌のゲノム情報の蓄積は、病原性因子の同定・解析の基盤となる。また、培養環境とヒト体内環境で増殖している細菌では遺伝子群の発現が異なることから、臨床試料中の細菌で発現している遺伝子群の直接解析が重要となる。このような背景の下に、偏性嫌気性グラム陰性桿菌 *Fusobacterium varium* のゲノム解析を開始した。*F. varium* は、健常者の細菌叢からも分離されるが、難病指定されている潰瘍性大腸炎の増悪因子である可能性が強く示唆されている。さらに、黄色ブドウ球菌をモデルに、生体内感染期における遺伝子発現の制御と病原性の関連を解析している。

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、Human Gene Therapy、Gene Therapy、Molecular Therapy、Journal of Gene Medicine、及び Nature Medicine 等の遺伝子治療専門誌の論文、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・検討する作業を継続した。[竹内隆正、森　清一郎、柊元　巌、石井克之、神田忠仁]

2．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) 自然感染したカニクイザルでの AAV の体内分布の解析

AAV には多くの遺伝子型があり、ヒトを含む霊長類に広く潜伏持続感染しているが、体内動態は殆ど知られていない。14 頭のカニクイザルの様々な組織から DNA を抽出し、自然感染した AAV10、11、cy7 型 DNA を型特異的プライマーを用いた PCR で増幅･検出した。いずれの型も、脾臓、リンパ節などのリンパ系組織と回腸を中心に様々な組織に検出された。AAV は腸管から宿主体内へ侵入し、免疫系細胞に感染すると推定した。また、AAV10、cy7 型は大脳、脊髄にも検出され、中枢神経系への遺伝子導入に適したベクターの素材となる可能性が示された。[森清一郎、佐多徹太郎（感染病理部）、神田忠仁]

(2)　AAV2 型の感染レセプターの探索

HeLa 細胞に感染する AAV2 型と感染しない 10 型のキャプシド蛋白質を繋ぎ合わせたキメラウイルスを作製し、HeLa 細胞への感染性を調べる研究を継続した。2 型キャプシド蛋白質のアミノ酸 236～315 領域が感染に必要であることがわかった。この領域に蛍光蛋白質(DsRed)を融合した蛋白質を組換えバキュロウイルス/昆虫細胞系で発現・精製してウェストウェスタン法でのプローブとした。約 280kDa の HeLa 細胞蛋白質がプローブと特異的に結合した。この蛋白質は界面活性剤に不溶性の膜蛋白質であり、AAV2 型のレセプターであることが示唆された。［森清一郎、神田忠仁］

3．非組み込み型遺伝子治療用ベクターの開発

(1) 非分裂細胞への遺伝子導入ベクターの開発

insulator 等を付加したルシフェラーゼ発現 AAV ベクターを作成し、マウス骨格筋に投与した。付加した配列は、AAV のヒト染色体への組込み領域である AAVS1 内の DNase I hypersensitive 部位（DHS-S1)、ニワトリβグロビン 5'HS4 コア領域（cHS4)、ウニアリルサルファターゼ insulator（ArsI）あるいはヒトインターフェロンβ遺伝子 matrix attachment region（IFNMAR）である。10^9 ゲノムコピーの各AAVベクターをBalb/cマウスに筋注後 1 ヶ月の時点で、筋肉内のルシフェラーゼ活性を測定した。DHS-S1 付加により約 1000 倍、cHS4 付加により約 100 倍、ArsI 付加により約 10 倍、ルシフェラーゼ活性が上昇した。IFNMAR 付加ではルシフェラーゼ活性はむしろ低下した。高発現ベクターは有効性に寄与するだけでなく、必要投与量の削減によって安全性にも直結する。[竹内隆正、内野繭代、神田忠仁]

(2) 分裂細胞への遺伝子導入ベクター開発

matrix attachment region を転写ユニット内に持つプラスミドが分裂細胞において複製・分配され、安定して保持されるという報告があるので、ルシフェラーゼおよびネオマイシン耐性遺伝子を発現するプラスミドを用いて、HeLa S3 細胞へのトランスフェクション後のプラスミドの動態が IFNMAR の付加により変化するかどうか調べた。a)トランスフェクション後薬剤選択をしなかった場合のルシフェラーゼ活性の経時変化、b)薬剤耐性コロニー数、c)薬剤耐性細胞中の plasmid-safe DNase 耐性 DNA 量のいずれにおいても IFNMAR の付加による有意な差を認めず、IFNMAR 付加プラスミドが HeLa S3 細胞において安定に保持される確率は低いことが分かった。[竹内隆正、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-2

HPV ゲノムの複製が角化細胞の分化を誘導する転写因子 hSkn-1a によって促進される機構を調べた。組換え hSkn-1a 蛋白質を用いたゲルシフト法によって、HPV16 オリジン領域に二ヶ所の hSkn-1a 結合部位を見つけた。クロマチン免疫沈降法によって、hSkn-1a が細胞内でこれらの部位に結合することを確認した。二ヶ所の hSkn-1a 結合部位に hSkn-1a との結合が減弱する塩基置換を導入すると、複製促進作用が消失した。hSkn-1a が HPV16 オリジンに直接結合することで、ウイルス複製促進を導く可能性が示唆された。[柊元　巌、森　清一郎、

神田忠仁]

(2) 無細胞 HPV DNA 複製系の構築

HPV16 複製蛋白質 E1 及び E2 をそれぞれ昆虫細胞バキュロウイルス発現系及び大腸菌発現系にて作成し、これらの組換え蛋白質を用いて 293 細胞抽出液中で HPV オリジンプラスミドを複製させる実験系を構築した。E1/E2 の共存下にオリジン依存性の HPV DNA 複製が起こることを確認した。また無細胞クロマチン再構成系にて作成した HPV クロマチンが、この DNA 複製系で複製されることが分かった。この無細胞 DNA 複製系を用いて、HPV クロマチン複製の分子機構の解析を進める。[柊元　巌、神田忠仁]

(3) Brd4 ノックダウンによるによる HPV 複製阻害

HPV の E2 と結合してウイルス転写を制御することが示されているヒト細胞蛋白質 Brd4 と HPV 複製の関連を検討した。293 細胞にて E1/E2 の発現下に HPV オリジンプラスミドを一過性に複製させる実験系に、Brd4 をノックダウンする siRNA を導入するとオリジンプラスミドの複製量が約二分の一に低下した。Brd4 が E2 との結合を介して、ウイルス複製に関わる可能性が示された。[佐藤英貴、柊元　巌、神田忠仁]

(4) HPV16 型キャプシド主構成タンパク質 L1 のシステイン残基が持つチオールの機能

HPV16 には 12 のシステイン残基があり、そのうち 2 つはキャプシド形成に必要なことが知られているが、他のシステイン残基の役割は不明である。感染性偽ウイルス（pseudovirion、 PV）とチオール試薬を反応させると結合することが分かった。質量分析により、少なくとも C146（146 番目のシステイン残基）、C225 及び C229 がチオールを持つことがわかった。チオール反応試薬と結合した PV は透過型電子顕微鏡での観察等で形態の異常は認められなかったが、感染性は消失した。 チオール反応試薬と結合した PV の細胞表面への結合量は半減し、細胞内へ取り込まれた後に速やかに分解された。L1 のチオールは細胞内侵入から核内への輸送に重要な役割を果たすと考えられる。[石井克幸、近藤一成、松本玉恵、田中恵子（感染病理部）、大内史子・萩原健一（細胞化学部）、神田忠仁]

2.　交差性中和エピトープをもつワクチン抗原の作製

HPV16L1 のアミノ酸 430 と 433 の間に、L2　のアミノ酸 18 から 38、56-75、96 から 115 領域に相当するペプチドを挿入したキメラを作製した。これらのキメラ L1 は、ウイルス様粒子（virus-like particle; VLP）を形成し、ウサギに免疫して得た抗血清は、HPV16、18、31、52、58 を中和した。これらの VLP は 15 の発癌性 HPV 群に有効なワクチン抗原となる可能性がある。[近藤一成、松本玉恵、神田忠仁]

Ⅲ. 病原性ウイルスのゲノム解析

1.　RNA ウイルスゲノムの解析

(1) ノロウイルス(NoV)のゲノム解析

新型変異 NoV の発生を監視し、その伝播を阻止する方法を示すために、ウイルス二部と共同で NoV のゲノム解析を行った。2006 年 10 月から 2007 年 1 月に、11 の都道府県で発生した 55 例の NoV 感染者糞便を調べ、37 の試料から GII/4 ゲノム全長（約 7.5 kbps）の塩基配列を得た。キャプシド蛋白質 VP1・VP2 をコードする領域について系統樹解析を行ない、全国各地で流行した株はキャプシド蛋白質の最も外側のループ領域に変異をもつ新型で、５月に富山で出現し、11～12 月までに全国に広がったこと、などがわかった。抗原性が変化した変異株がヒトを介して伝播している可能性があるので、引き続き、次年度の流行株を解析する。[本村和嗣、中村浩美、守宏美、岡智一郎・武田直和（ウイルス第二部）、神田忠仁、佐藤裕徳]

糞便試料の収集は以下の方々の協力による。
田中智之（堺市衛生研究所）、吉澄志磨（北海道立衛生研究所）、三上稔之（青森県環境保健センター）、斉藤博之（秋田県健康環境センター）、植木洋（宮城県保健環境センター）、滝澤剛則（富山県衛生研究所）、小林慎一（愛知県衛生研究所）、内野清子（堺市衛生研究所）、野田衛（広島市衛生研究所、現国立医薬品食品衛生研究所）、近藤玲子（愛媛県立衛生環境研究所）、船津丸貞幸（佐賀県衛生薬業センター）、松岡由美子（熊本市環境総合研究所）

(2) C 型肝炎ウイルス(HCV)のゲノム解析

HCV 持続感染の維持とウイルス変異の関連を知るために、HCV 持続感染者の HCV ゲノムの網羅的解析を開始した。日本での主な流行株は、遺伝子型 1b で、IFN 治療効果が低いことが知られている。昭和大学医学部と共同で、持続感染症 37 例（IFN 治療例を含む）の血液中 HCV1b のゲノム解析を進め、現在までに、10 症例についてゲノム全長（約 9.6 kb）の塩基配列を得た。
[本村和嗣、中村浩美、守宏美、伊藤敬義・井廻道夫（昭和大学医学部）、神田忠仁、佐藤裕徳]

(3) ヒト免疫不全ウイルス１型（HIV-1）のゲノム解析

HIV-1 の高変異性は持続感染の維持や治療効果の低減に結びついている。日本を含むアジアでは、HIV-1 CRF01_AE の感染が拡大している。CRF01_AE の持続感染の維持とウイルス変異の関連を知るために、国立国際医療センターと共同で、CRF01_AE 持続感染者の全ゲノム情報の解析を始めた。現在、23 症例（未治療感染者と治療効果が認められない症例等）の血液中の CRF01_AE ゲノムの塩基配列を解析している。

［本村和嗣、中村浩美、守宏美、潟永（国立国際医療センター）、佐藤裕徳］

(4) ブタ内在性レトロウイルス（PERV）のゲノム解析

移植用臓器として利用が計画されている遺伝子改変ブタには PERV のプロウイルスが存在し、常時、多様な感染性粒子を産生している。PERV の変異と感染宿主域の拡大に関する基盤情報を得るために、PERV の全ゲノム解析を始めた。移植用に開発が進められている遺伝子改変ブタの卵巣細胞と HeLa 細胞の共培養により、PERV が感染した HeLa 細胞を樹立した。ブタ卵巣細胞と HeLa 細胞中のプロウイルス DNA を解析し、現在までに、４クローンについてゲノム全長（約 8.9 kb）の塩基配列を得た。

［本村和嗣、神田忠仁、佐藤裕徳］

2. 病原性ウイルスゲノムデータベースの構築

新興再興感染症や慢性感染症対策の一環として、昨年度から病原体ウイルスゲノム情報のデータベース化を進めている。主に RNA ウイルスを対象とし、公共データベース情報と独自解析情報を継続的に蓄積していく予定である。本年度は、ゲノム情報の整理・統合・解析を行なう計算機環境を整備した。統合データマイニングプラットフォーム KDE、統合計算化学システム MOE、分子動力学シミュレーションパッケージ Amber8 の Altix350 での稼働性を確認した。また、前年度までにゲノム塩基配列情報を収集しているウイルス（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）に加えて、さらに HIV-1 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、神田忠仁、佐藤裕徳］

3. 病原性ウイルス蛋白質の立体構造解析

(1) インフルエンザA型ウイルスHA蛋白質の立体構造解析

トリインフルエンザウイルスがヒト細胞への感染能を獲得する際、HA蛋白質の変異によりヒト型感染受容体への親和性が増すと推察される。計算科学によってHA変異体と感染受容体の親和性を迅速に推定する方法を検討した。まずトリインフルエンザH5N1株のHA結晶構造をもとに、野生型および、ヒト型感染受容体への親和性が増すことが実験的に立証された変異HA蛋白質のモデルを構築した。次にHA蛋白質モデルにSAα2,3-Galβ1-4GlcNAc（トリ型基質）およびSAα2,6-Galβ1-4GlcNAc（ヒト型基質）のドッキングシミュレーションを行い、結合エネルギーを算出した。結合エネルギー変化は、実験による感染受容体の特異性変化を反映した。計算科学によって感染宿主域の変化を予測する可能性を示している。［横山　勝、守　宏美、神田忠仁、佐藤裕徳］

(2) カリシウイルスプロテアーゼの立体構造解析

カリシウイルスの増殖ではの ORF1 から作られたポリプロテインが、その一部であるプロテアーゼによって切断され、機能を担う蛋白質群になる。ノロウイルスプロテアーゼを鋳型として、サポウイルス Mc10 株、ネコカリシウイルス F4 株、ラゴウイルス FRG 株のプロテーゼ分子の立体構造をホモロジーモデリング法により構築した。これらのプロテアーゼのアミノ酸配列は 20%以下のホモロジーしかないが、プロテアーゼ変異体の解析で、活性発現に重要とされた４つのアミノ酸（H, E, C, H）が全ての分子モデルで GDCG モチーフ周辺に配置され、高度に保存されていることがわかった。カリシウイルスプロテアーゼ基質認識機構、阻害剤開発等の研究に役立つ情報である。［横山勝、岡智一郎・武田直和（ウイルス第二部）、佐藤裕徳］

(3) TRIM5α感受性の HIV-2 キャプシド蛋白質の立体構造解析

HIV-1 がヒトにのみ感染し増殖する性質を示す要因となる宿主因子の一つに、TRIM5αがある。旧世界ザルの TRIM5αは HIV-1 の細胞侵入直後の複製過程を阻害するため、HIV-1 はサル細胞で増殖できない。一方、HIV-2 のサル TRIM5αに対する感受性は一律ではなく、ウイルス分離株ごとに異なる。HIV2 のキャプシド蛋白質の 120 番目のアミノ酸が P の場合(120P)は感受性を示すが、120A 及び 120Q は耐性である。これらの 3 種のキャプシド蛋白質の分子モデルを構築し、比較した。感受性の株では耐性の株に比べ、ヘリックス 6 と 7 の間のループ（L6/7）はヘリックス 4 と 5 の間のループ（L4/5）に接近している。120 番目のアミノ酸は L6/7 に存在し、L6/7 の構造と立体配置を制御するアミノ酸であることが予測された。

［横山　勝、塩田達男（阪大微研）、佐藤裕徳］

Ⅳ．病原性細菌のゲノム解析

1．病原性細菌のゲノム解析

(1) *Fusobacterium varium* のゲノム解析

潰瘍性大腸炎（UC）患者より分離された *F. varium* 113 臨床株のホールゲノムショットガンライブラリー（平均 1.6 kb、15,000 クローン以上）を作製し、全ゲノム塩基配列決定を進めている。これまでに得られた塩基配列を解析すると、約半数の遺伝子は口腔内に存在する *Fusobacterium nucleatum* と 60%以上の相同性を示し、残りの半数は腸内フローラとしてもっとも多量に存在する *Clostridium* 属と高い相同性を示した。腸内に常在する *F. varium* と口腔内に存在する *F. nucleatum* との比較ゲノム解析により、*Fusobacterium* 属に共通の因子と、腸内環境に関連する因子に分類できる可能性が示唆された。［関塚剛史、黒田　誠、大草敏史（順天堂大学・消化器内科）］

(2) 細菌フローラの網羅的解析

常在菌が混在する検体から重要な起因菌を簡便・迅速に同定する手法の開発は重要である。微生物ゲノムデータベースを利用し、網羅的に細菌フローラを同定する Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP)に、Emulsion-PCR を併用した精度の高い解析手法の開発を目指した。様々な環境変化、生活習慣で細菌フローラが変動し、アトピー疾患などの病態を増悪することが指摘されており、予防医学的な細菌検査法になり得るかどうか検討している。加えて、今後発展が予想される微生物メタゲノム解析への足がかりになる解析手法である。［黒田　誠、関塚剛史］

2．細菌感染における病原性因子の転写調節と定着因子の解析

(1) 黄色ブドウ球菌のマウス感染モデルの解析

培養状態と動物体内で増殖した状態で黄色ブドウ球菌の遺伝子発現プロフィールを比較した。黄色ブドウ球菌をマウスの腹腔内に接種し、経時的に臓器ごとの定着菌数を測定した。接種 4 日後までに肝臓・脾臓・腎臓での定着を確認した。4 日以降では、接種部位に皮下膿瘍が認められた。4 日めに臓器から細菌由来の RNA を抽出し、定量的 RT-PCR 法によって病原性因子レギュレーター（RNA III、 *sarA*、*sarS*、*sarT*、*sarU*、*sigB*）と定着因子である細胞壁架橋型蛋白質群（*clfA* など 21 遺伝子）の転写発現量を測定した。Fibrinogen、 Fibronectin といった細胞外マトリクスの定着因子 ClfA、ClfB、FnbA、FnbB や鉄獲得系 IsdB の転写が、肝臓および皮下膿瘍で昂進していた。一方、機能・結合特性が不明である SasG の転写は肝臓感染時では昂進し、皮下膿瘍では顕著に抑制されていた。SasG の過剰発現株は菌凝集・バイオフィルム形成が昂進することが明らかになり、臨床で見られる微小膿瘍の形成に関わっている可能性が示唆された。SasG 近傍に存在する SarU 転写因子が同様な転写変動を示し、SarU 過剰発現株を用いたマイクロアレイ解析によって、SarU が SasG を正に転写調節するレギュレーターであることを明らかにした。培養下では SarU 転写因子は発動しないため、マウス感染時においてどのような要素が SarU を活性化し、SasG による菌凝集、微小膿瘍形成、そして抗菌薬治療の難治化に関与しているのか明らかにすることが今後の課題である。［黒田　誠、関塚剛史］

3．*Bacillus anthracis* の分子疫学調査

(1) *B. anthracis* プラスミドの塩基配列の解析

日本で分離された *B. anthracis* 臨床分離株 BA103 のプラスミド pXO1（180 kb）及び pXO2（90 kb）の全塩基配列の解読を行った。約 700 本のプライマーを用いたウォーキング法を進め、pXO1 及び pXO2 共に、全長の約 95%まで配列を明らかにした。Ames 株のプラスミドと比較すると、BA103 株の pXO1 及び pXO2 共に 3 つの SNPs があり、塩基挿入・欠失は pXO1 では 4 つ、pXO2 では 1 つ存在した。さらにリピート配列のユニット数が 1 回多い領域が pXO1 及び pXO2 共に 1 つずつ存在した。これらの塩基配列の特徴は、日本株に特有であると思われる。［関塚剛史、黒田　誠、奥谷晶子・井上　智（獣医科学部）］

(2) 日本における *B. anthracis* の遺伝型と地理的分布

Multiple-locus variable number of tandem repeats analysis (MLVA)を用いて、現在保管している日本で分離された炭疽菌のゲノム上に存在する可変領域を網羅的に解析し、国内における炭疽菌の遺伝型と世界各国の分離株とを比較検討する準備を進めた。［関塚剛史、黒田　誠、奥谷晶子・井上　智（獣医科学部）］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1) Takizawa, S., Nagasaka, K., Nakagawa, S.,Yano, T., Nakagawa, K., Yashgi, T., Takeuchi, T., Kanda, T., Huibregtse, JM., Akiyama, T., and Taketani, Y.: Human scribble, a novel timor suppressor identified as a target of high-risk HPV E6 for ubiquitin-mediated

degradation, interacts with adenomatous polyposis coli. Gene to Cell, 11:453-464, 2006.
2) Kondo, K., Ishii, Y., Ochi, H., Matsumoto, T., Yoshikawa, H., and Kanda, T.: Neutralization of HPV16, 18, 31, and 58 Pseudovirions with Antisera Induced by Immunizing Rabbits with Synthetic Peptides Representing Segments of the HPV16 Minor Capsid Protein L2 Surface Region. Virology, 358：266-272, 2007.
3) Matsumoto, K., Yasugi, T., Oki, A., Fujii, T., Nagata, C., Sekiya, S., Hoshiai, H., Taketani, Y., Kanda, T., Kawana, T., and Yoshikawa, H. : IgG Antibodies to HPV 16, 52, 58 and 6 L1-Capsids and spontaneous regression of cervical intraepithelial neoplasia. Cancer Letter, 231:309-313,2006
4) Sato, K., Takeuchi, T., Kukimoto, I., Mori, S., Yasugi, T., Taketani, Y., and Kanda, T. Human papillomavirus type 16 P670 promoter is negatively regulated by CCAAT displacement protein. Virus Genes, in press, 2007
5) Mori, S., Takeuchi, T., Enomoto, Y., Kondo, K., Sato, K., Ono, F., Iwata, N., Sata, T., and Kanda, T. Biodistribution of a low dose of intravenously administered AAV-2, 10, and 11 vectors to cynomolgus monkeys. Jpn J Infect Dis. 59:285-93, 2006.
6) Mori, S., Ozaki, S., Yasugi, T., Yoshikawa, H., Taketani ,Y., and Kanda, T. Inhibitory cis-element-mediated decay of human papillomavirus type 16 L1-transcript in undifferentiated cells. Mol Cell Biochem. 288:47-57, 2006.
7) 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.
8) Matsuoka-Aizawa S, Gatanaga H, Sato H, Koike K, Kimura S, and Oka S.: Cooperative contribution of gag substitutions to nelfinavir-dependent enhancement of precursor cleavage and replication of human immunodeficiency virus type-1. *Antiviral Research*, 70:51-9, 2006.
9) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Yokoyama M, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Morikawa S, and Sata T.: Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome in F344 rats infected with SARS coronavirus. *J. Virol.*, 81:1848-1857. 2007.
10) Oka T, Yamamoto M, Yokoyama M, Ogawa S, Hansman GS, Katayama K, Miyashita K, Takagi K, Tohya Y, Sato H, and Takeda N.: Highly conserved configuration of catalytic amino acid residues among calicivirus-encoded proteases. *J. Virol.*, 81:6798-806, 2007.
11) Song H, Nakayama EE, Yokoyama M, Sato H, Levy JA, and Shioda T: A single amino acid of Human immunodeficiency virus type 2 capsid determines susceptibility to cynomolgus monkey and human TRIM5α restriction. *J. Virol.*, 81:7280-5, 2007.
12) Kuroda M, Nagasaki S, Ito R, Ohta T. : Sesquiterpene farnesol as a competitive inhibitor of lipase activity of *Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol Lett. 273(1):28-34, 2007; Epub 2007 Jun 7.
13) Kuroda H, Kuroda M, Cui L, Hiramatsu K. : Subinhibitory concentrations of β-lactam induce haemolytic activity in *Staphylococcus aureus* through the SaeRS two-component system. FEMS Microbiol Lett. 268(1):98-105, 2007
14) Kuroda M, Nagasaki S, Ohta T. : Sesquiterpene farnesol inhibits recycling of the C55 lipid carrier of the murein monomer precursor contributing to increased susceptibility to β-lactams in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.
J Antimicrob Chemother. 59(3):425-32, 2007; Epub 2007 Jan 22.

2. 和文発表

1) 神田忠仁、柊元 巖：ヒトパピローマウイルスと子宮頸癌、日本ウイルス学会誌、56 (2)、219-230、2006
2) 神田忠仁:HPV 感染予防ワクチン、細胞、38(13)、24-27、2006
3) 神田忠仁、森 清一郎：微生物感染による発がんのリスクと対策、公衆衛生、71(2)、113-116、2007

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Motomura K, Chen J, Hu Wei-Shau, “HIV-1 and HIV-2 Interspecies Recombination and its Restriction”, Cold Spring Harbor Meeting, U.S.A., May.23-28/2006.
2) T. Nakasone, J. Takamatsu, W. Sugiura, H. Sato, M. Nishizawa, S. Yamamoto, N. Yamamoto. Rapid and convenient enzymatic phenotyping of HIV-RT by using a real-time Amp-RT assay. XVI International AIDS Conference, 13-18 August 2006, Toronto Canada.
3) Motomura K, Chen J, Boyko V, Leavitt M, Gorelick R, Pathak V. K., Fu W, Nikolaitchik O, and Hu W.-S. “Interactions Between HIV-1 and HIV-2: Protein

Complementation and Genetic Recombination" 7TH ANNUAL SYMPOSIUM ON ANTIVIRAL DRUG RESISTANCE, U.S.A., NOVEMBER 12-15/2006.

4) Wadchara Pumpradit P, Tomita Y, Yokoyama M, Naganawa S, Rojanawiwat A, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Ariyoshi K and Sato H. : Characterization of neutralization sensitivity of human immunodeficiency virus type 1CRF01_AE molecular clones with different coreceptor usages. 14th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, February 25-28, 2007, Los Angeles, USA.

5) Ito, R., Kuroda, M. and Ohta, T.: *Staphylococcus aureus* surface protein SasG contributes to intercellular adhesion and biofilm formation. 107th ASM general meeting. (2007 年 5 月、 Toronto, Canada)

6) Kuroda, M., Nagasaki, S. and Ohta, T.: Sesquiterpene Farnesol Affects Lipase Activity of *Staphylococcus aureus* as a Competitive Inhibitor. 107th ASM general meeting. (2007年5月、 Toronto, Canada)

7) Kanda, T.:Development of Human Papillomavirus Vaccine Against a Broader Spectrum of Oncogenic Types. Vaccines for Viral Infection in Developing Countries (2006 年、7 月 27-28 日、横浜)

2. 国内学会

1) 神田忠仁:臨床試験における組換えウイルスの使用に関する法律。第 12 回日本遺伝子治療学会、(2006 年 8 月、東京)

2) 神田忠仁、近藤一成、越智寛幸、吉川裕之：ヒトパピローマウイルス感染予防ワクチン。第 65 回日本癌学会学術総会（2006 年 9 月、東京）

3) 神田忠仁：ヒトパピローマウイルス感染と子宮頸癌。第 54 回日本ウイルス学会学術総会（2006 年 11 月、名古屋）

4) 神田忠仁:ヒトパピローマウイルスの生活環と感染予防ワクチン戦略。第 19 回日本性感染症学会シンポジウム（2006 年 12 月、金沢）

5) 岡智一郎、山本真民、横山勝、小川智子、Hansman S. Grant、片山和彦、宮下佳奈、高木弘隆、遠矢幸伸、佐藤裕徳、武田直和：ネコカリシウイルスのプロテアーゼ活性発現に重要なアミノ酸残基の同定。第５４回ウイルス学会学術集会（2006 年 11 月、名古屋）

6) 神山陽香、吉居廣明、田中勇悦、佐藤裕徳、山本直樹、四童子好廣、久保嘉直：ビタミン A 類似体 geranylgeranoic acid(GGA)による HIV-1 感染の抑制。第５４回ウイルス学会学術集会、(2006 年 11 月、名古屋)

7) 久保嘉直、横山勝、吉居廣朗、神山陽香、田中勇悦、佐藤裕徳、山本直樹：CXCR4 糖鎖付加による HIV-1 感染防御と、その回避機構。第５４回ウイルス学会学術集会、（2006 年 11 月、名古屋）

8) 吉居廣朗、佐藤裕徳、山本直樹、久保嘉直：HeLa 細胞における CD4 非依存性 HIV-1 の細胞侵入抑制機構。第５４回ウイルス学会学術集会、(2006 年 11 月、名古屋)

9) 駒野淳、二橋悠子、磯貝まや、浜武牧子、松田善衛、佐藤裕徳、椎野禎一郎、武部豊、山本直樹：挿入変異を伴う多剤耐性 HIV-1(CRF01_AE)における薬剤耐性亢進のメカニズムー薬剤耐性獲得における RNaseH 活性の関与。第５４回ウイルス学会学術集会、(2006 年 11 月、名古屋)

10) 横山勝、守 宏美、佐藤裕徳： HIV-1 RT における ATP 結合阻害因子の酵素活性と耐性発現に及ぼす影響。第２０回日本エイズ学会学術集会（2006 年 12 月、東京）

11) 駒野淳、二橋悠子、磯貝まや、浜武牧子、松田善衛、佐藤裕徳、椎野禎一郎、武部豊、山本直樹：HIV-1 逆転写酵素 polymerase active site への薬剤耐性変異が誘導する RNaseH 活性の低下と耐性亢進への寄与。 第２０回日本エイズ学会学術集会（2006 年 12 月、東京）

12) 本村和嗣、Jianbo CHEN, Wei-Shau HU, "HIV-1 と HIV-2 のゲノム組換えの可能性",第２０回日本エイズ学会学術集会（2006 年 12 月、東京）

13) 岡智一郎、山本真民、横山勝、小川智子、Hansman Grant S.、片山和彦、宮下佳奈、高木弘隆、遠矢幸伸、佐藤裕徳、武田直和：カリシウイルスプロテアーゼの構造機能解析。日本薬学会第 127 年会（2007 年 3 月、富山）

14) 柊元 巌、竹内隆正、神田忠仁：角化細胞転写因子 hSkn-1a による HPV16 DNA 複製の促進、第 54 回日本ウイルス学会学術集会（2006 年 11 月、名古屋）

15) 伊藤隆太、的場公男、黒田誠、太田敏子： SarA ホモログである SarT、SarU 過剰発現による細菌凝集塊形成。第 51 回日本ブドウ球菌研究会 （2006 年 9 月、岩手市）
長崎さなえ、黒田誠、太田敏子： 精油テルペノイド・Farnesol が有する黄色ブドウ球菌の薬剤感受性増強および毒素活性の抑制。 第 89 回日本細菌学会関東支部会（2006 年 10 月、伊香保市）

16) 伊藤隆太、的場公男、黒田誠、太田敏子。黄色ブドウ球菌・細胞壁架橋型タンパク質 SasG によるバイオフィルム形成能。第 80 回日本細菌学会総会 （2007 年 3 月、大阪市）

17) 長崎さなえ、黒田誠、太田敏子。精油テルペノイド Farnesol が有する黄色ブドウ球菌の薬剤感受性増強メカニズムの解析。第 80 回日本細菌学会総会 （2007 年 3 月、大阪市）

18）黒田誠、太田敏子。黄色ブドウ球菌の超巨大蛋白質 Ebh による耐塩機構の解析。第 80 回日本細菌学会総会（2007 年 3 月、大阪市）

19）黒田誠。（W5．近縁ゲノム配列比較から病原性へ）比較ゲノム解析から見えるブドウ球菌属の種特徴的な病原性と生存機構。第 80 回日本細菌学会総会　（2007 年 3 月、大阪市）

２１．附 属 図 書 館

館 長（併任） 佐多 徹太郎
編集委員長 倉 根 一 郎

概 要

平成8年から館長を併任されていた旧ウイルス第二部長の宮村達男にかわり、4月から感染病理部長の佐多徹太郎が館長を併任することになった。

洋雑誌の本格的なオンライン化後、本研究所における洋雑誌図書購入費は急激に増加している。図書館の予算は所内全体の実行予算から支出されており、図書予算の膨張は人当予算などの他の予算に影響を与えかねず、この膨張を食い止めるべく予算委員会からも図書委員会に要望が寄せられている。雑誌の購入選定については、毎年契約雑誌の見直しとオンライン化を図ってきたところであるが、これら小手先の見直しでは、雑誌の値上がりに伴う予算の増大に歯止めがかかることなく限界に来ている。これからも感染症の専門図書館として運営していくためには、厚生労働省研究機関等と連携したコンソーシアムの立ち上げ等を視野に入れつつ、感染研図書館としての在り方に沿った形で、雑誌の新規購入、削減、蔵書保管の原則について検討しなければならない。

最近の雑誌の利用実績を見ても分かるように、電子ジャーナルの利用は年々増加しているが貸出複写の利用者は減少しており、図書館を利用する研究者が少なくなってきている。わざわざ図書館に出向かなくても必要とする資料が手に入るのは良いことであるが、関係機関間の相互利用でいえば、隣接する国立国際医療センターとの複写無料サービスは感染研側からの申し出により平成7年に実現したものであるが、最近は医療センターに所蔵がある場合も医療センターに出向いて利用するよりも他機関への文献複写依頼を選択する研究者が多くなっている。

図書館には豊富な資料と印刷体のみで購入している雑誌や単行本もある。今後、より図書館を活用してもらうためには、環境整備や新たなサービス提供の必要がある。

1. 東京地区厚生労働省所属研究機関図書館館長会議は久しく開催されていなかったが、国立保健医療科学院の呼びかけで、国立医薬品食品衛生研究所、国立社会保障・人口問題研究所及び当所の、図書館長または図書委員長及び情報センター長による「図書館／情報センター長会議（仮称）」が当所において開催された。ネットワークセキュリティー関係及び図書業務関係について話し合い、図書購入に関しては各機関の契約雑誌リストの交換、今後の分担収集調整、雑誌一括購入案（複数機関で利用する電子ジャーナル等を科学院で一括契約、厚労省で予算措置）等が話題となり、次回の検討事項となった。なお、この会議には独立行政法人の国立健康・栄養研究所からも担当者が参加した。

2. 図書館の環境について、柱と書架に挟まれて本が取り出しにくい棚を閲覧室側に移動した。このために狭くなった閲覧机の間にパーティションを置き、周囲を気にせず静かな空間を確保できるようキャレルデスクとしての機能に近づけた。また、Windowsパソコン1台と目録カードケースを追加し、カードケースは雑誌用と単行本用に分けた。

3. 今までは特定の部室でのみ利用する雑誌については各部室で保管している例があったが、雑誌の購入選定にあたり各部室の購入希望をみると一部室のみの希望雑誌も多く見受けられたことから、今後は図書予算で購入した雑誌については原則図書館で所蔵することとし、利用実績調査の対象とすることとなった。

4. 雑誌の購入選定について、図書購入検討ワーキング・グループを設立し、洋雑誌の選定方法について検討した。購入を中止する雑誌を選出するのではなく、感染研として必要な雑誌を積み上げる案を臨時図書委員会（平成18年７月10日）及び通常委員会（同10月11日）において提案、検討した。その結果、図書購入予算を数年前の金額に設定して前年の利用実績が500以上の雑誌を優先して購入することとし、その残りの金額を各センター、部、省令室に配分して利用実績が500未満及び新規の雑誌について優先順位をつけてリストアップ、３サイトマルチオンライン契約と印刷体購入の見積価格と利用状況を考慮し、予算の目標額までの雑誌を印刷体かオンライン契約かも含めて選定することになった。

選定の結果、19年度契約の洋雑誌は、戸山：141誌、村山：40誌、ハンセン：7誌となり、SceinceDirect及びCellPressは雑誌を見直して継続、ASM11誌オンラインパッケージは継続して契約することとなった。

和雑誌については継続購入とした。

5. 平成18年度通常委員会において、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た。

実績表

雑誌、単行本受け入れ状況

平成18年度

	戸山		村山		ハンセン	
	洋書	和書	洋書	和書	洋書	和書
雑誌	**236**	**33**	**95**	**31**	**26**	**31**
購入	194	12	82	17	24	8
交換	33	5	-	-	-	-
寄贈	9	16	13	14	2	23
単行本	**151**	**84**	**71**	**96**	**2**	**2**
購入	69	16	50	62	2	-
寄贈	82	68	21	34	-	2

注：1　「交換」とは、ＪＪＩＤとの交換雑誌である。
　　2　戸山の購入洋雑誌には、国内発行英文雑誌(3)を含む。
　　3　戸山の購入和雑誌には、国内発行英文雑誌(3)を含まない。

文献相互貸借状況

平成18年度

機関名	戸山		村山		ハンセン	
	供与	依頼	供与	依頼	供与	依頼
総数	**718**	**538**	**316**	**593**	**-**	**35**
国立感染症研究所	**134**	**40**	**46**	**117**	**-**	**23**
戸山	・	・	40	117	-	17
村山	117	40	・	・	-	6
ハンセン	17	-	6	-	・	・
国立感染症研究所以外の機関	**584**	**498**	**270**	**476**	**-**	**12**
国立保健医療科学院	25	25	15	25	-	-
国立医薬品食品衛生研究所	243	3	111	17	-	-
国立国際医療センター	166	39	6	8	-	-
国立成育医療センター	-	-	-	-	-	-
(独)国立健康・栄養研究所	・	・	9	9	-	-
(独)動物衛生研究所	96	44	92	24	-	3
(独)畜産草研究所	17	27	9	5	-	-
(独)霊長類医科学研究センター	9	-	1	-	-	-
その他の国・県の機関((独)含)	-	5	11	2	-	-
地方衛生研究所	5	-	1	-	-	-
国公立病院	9	-	4	-	-	-
国公立大学図書館	8	287	3	350	-	-
国際医学情報センター	1	15	-	7	-	-
私立病院	2	-	-	1	-	-
私立大学図書館	2	47	6	14	-	8
企業	1	-	-	-	-	-
その他	-	6	2	14	-	1

注：戸山の(独)健康・栄養研究所に対する数は把握していない。

附属図書館

雑誌別利用状況の年次推移

洋雑誌（利用回数上位50誌）

平成18年順位			雑誌名	18年(2006)				17年('05)				16年('04)			
利用回数計	複写	電子ジャーナル		利用回数	複写	貸出	電子ジャーナル	利用回数	複写	貸出	電子ジャーナル	利用回数	複写	貸出	電子ジャーナル
1	2	1	Nature	19,068	84	-	18,984	5,265	119	2	5,144	2,766	262	1	2,503
2	3	2	Journal of Virology	16,424	80	2	16,342	17,857	126	11	17,720	15,687	222	11	15,454
3	13	3	Journal of Biological Chemistry	9,076	38	-	9,038	10,547	137	1	10,409	12,606	234	1	12,371
4	11	4	PNAS:Proceedings of the National Academy of Science of the USA	7,386	44	1	7,341	6,925	68	-	6,857	7,556	183	3	7,370
5	18	5	Journal of Immunology	6,065	35	3	6,027	5,466	51	-	5,415	5,020	188	-	4,832
6	7	7	Journal of Clinical Microbiology	5,215	52	1	5,162	6,846	43	2	6,801	5,124	48	2	5,074
7	61	6	EMBO Journal	5,182	10	1	5,171	2,255	38	-	2,217	771	90	2	679
8	6	8	Science	4,541	53	-	4,488	10,434	91	1	10,342	13,746	156	2	13,588
9	1	10	Virology	3,693	97	5	3,591	3,022	122	8	2,892	2,642	177	9	2,456
10	94	9	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	3,625	5	-	3,620	4,076	4	-	4,072	3,721	10	-	3,711
11	14	11	Infection & Immunity	3,491	37	-	3,454	4,448	35	-	4,413	4,639	115	-	4,524
12	4	12	Journal of General Virology	3,173	64	-	3,109	3,427	78	1	3,348	2,148	108	2	2,038
13	43	13	JB:Journal of Bacteriology	2,785	14	-	2,771	3,369	12	-	3,357	2,776	36	1	2,739
14	8	14	Cell	2,514	51	-	2,463	2,464	69	1	2,394	2,817	156	1	2,660
15	26	15	Vaccine	2,443	21	-	2,422	2,493	64	-	2,429	2,086	127	-	1,959
16	120	16	Blood	2,287	3	-	2,284	2,103	10	-	2,093	1,712	89	2	1,621
17	20	17	BBRC:Biochemical and Biophysical Research Communications	2,102	26	2	2,074	1,961	40	1	1,920	1,971	71	1	1,899
18	67	18	Journal of Experimental Medicine	1,816	8	-	1,808	1,983	18	-	1,965	1,990	104	4	1,882
19	19	19	LANCET	1,638	31	-	1,607	1,173	51	-	1,122	1,570	118	1	1,451
20	27	20	Journal of Virological Methods	1,447	21	-	1,426	1,007	13	-	994	688	28	-	660
21	9	22	Molecular Microbiology	1,368	50	-	1,318	1,001	34	-	967	1,170	48	-	1,122
22	69	21	Journal of Cell Biology	1,353	7	-	1,346	1,251	13	3	1,235	1,595	41	2	1,552
23	106	23	MCB:Molecular and Cellular Biology	1,286	4	-	1,282	2,261	17	1	2,243	2,435	51	-	2,384
24	78	24	Cancer Research	1,268	6	-	1,262	1,092	15	-	1,077	1,013	68	-	945
25	50	25	Nature Medicine	1,242	12	-	1,230	1,776	39	-	1,737	1,163	82	-	1,081
26	121	26	Applied and Environmental Microbiology	1,133	3	-	1,130	1,369	8	-	1,361	1,201	15	-	1,186
27	57	27	BMJ:British Medical Journal	1,098	11	-	1,087	953	12	-	941	1,145	64	-	1,081
28	33	28	BBA:Biochimica et Biophysica Acta	1,077	16	1	1,060	863	39	1	823	799	65	1	733
29	28	29	FEMS Microbiology	1,061	21	-	1,040	1,350	24	-	1,326	1,285	27	-	1,258
30	63	30	Nucleic Acids Research	1,040	9	-	1,031	1,148	33	1	1,114	1,087	36	1	1,050
31	122	31	Nature Immunology	1,018	3	-	1,015	1,248	6	-	1,242	1,056	32	-	1,024
32	107	32	Immunity	1,011	4	-	1,007	814	13	-	801	793	33	-	760
33	51	33	Microbiology	903	12	1	890	1,078	10	-	1,068	956	1	1	954
34	30	34	JAMA:Journal of the American Medical Association	889	20	-	869	815	72	-	743	192	192	-	・
35	95	35	Virus Research	870	5	-	865	995	13	-	982	577	11	-	566
36	79	36	FEBS Letters	855	6	-	849	854	25	-	829	957	42	1	914
37	37	37	JMB:Journal of Molecular Biology	847	16	1	830	666	18	-	648	670	39	-	631
38	123	38	Molecular Cell	762	3	-	759	1,068	6	-	1,062	1,089	15	-	1,074
39	52	40	Microbes and Infection	744	12	1	731	733	10	-	723	503	10	2	491
40	96	39	Oncogene	740	5	-	735	661	14	-	647	680	43	1	636
41	108	41	Molecular Biology of the Cell	677	4	-	673	840	5	-	835	969	16	-	953
42	58	42	Journal of Clinical Virology	647	11	1	635	740	13	-	727	392	6	-	386
43	157	43	Clinical Microbiology Reviews	634	1	1	632	430	4	1	425	518	7	-	511
44	109	44	Genes & Development	599	4	-	595	976	14	-	962	914	26	-	888
45	80	45	Journal of Medical Microbiology	587	6	-	581	655	3	-	652	369	3	1	365
46	110	46	American Journal of Pathology	512	4	-	508	433	10	-	423	401	4	-	397
47	81	47	Clinical and vaccine immunology (formerly:CDLI)	504	6	-	498	456	4	-	452	447	3	-	444
48	136	48	Nature Reviews:Microbiology	497	2	-	495	496	3	-	493	320	35	-	285
49	182	49	Journal of Leukocyte Biology	475	-	-	475	398	5	-	393	425	13	-	412
50	38	51	American Journal of Epidemiology	469	16	-	453	543	49	-	494	332	59	-	273

和雑誌（利用回数上位10誌）

1	1	-	蛋白質・核酸・酵素	59	55	4	・	70	67	3	・	126	122	4	・
2	3	-	実験医学	53	37	16	・	76	65	11	・	110	102	8	・
3	2	-	細胞工学	47	41	6	・	46	43	3	・	50	48	2	・
4	4	-	感染症学雑誌	35	35	-	・	40	39	1	・	16	16	-	・
5	5	-	生化学	14	14	-	・	15	15	-	・	・	・	・	・
6	6	-	医学のあゆみ（＋別冊学会案内）	13	12	1	・	13	13	-	・	45	37	8	・
7	7	-	日経サイエンス	12	11	1	・	・	・	・	・	・	・	・	・
8	8	-	日本細菌学雑誌	10	10	-	・	11	11	-	・	11	11	-	・
8	8	-	臨床免疫・アレルギー科　（前誌：臨床免疫）	10	10	-	・	8	7	1	・	51	51	-	・
10	10	-	ウイルス	9	9	-	・	9	9	-	・	21	19	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　複写貸出回数は、平成18年は1月～12月、平成17年以前は4月～翌3月の実績。平成17年9月以降は、健康・栄養研究所員による複写回数を計上していない。
　3　電子ジャーナル利用回数は、1月～12月の実績（感染症研究所３庁舎及び健康・栄養研究所の利用実績を含む）。

[J. J. I. D. について]

平成１８年度は vol. ５９ no. １–６を刊行し、１２月には "Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan 2002" を vol. ５６, Supplement として発行した。

本年度の編集委員の交代は、４月に倉田　毅、竹森利忠、西島正弘が退官し、森　亨、脇田隆字、花田賢太郎が加わり、７月に小林和夫が入った。非常勤職員の安　虹が８月に退職し、小柳由貴子に替わった。

研究所全体の予算状況から JJID の経費も見直すことになった。１号当たりの掲載数を減らさないように、REFERENCES のスタイルを見直し、活字を小さくした。所内、国内に配布していた印刷体を再検討し、印刷部数の削減を行なった。

感染研でセミナーを行った演者及び１８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　９５０→８３０部　漸次削減

発送先　国内－大学, 衛研等　３００→２２０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　１３編

他国内　６６編

海外　１８４編

採択率　３５％

Japanese Journal of Infectious Diseases

Volume 59, 2006 Contents

No. 1, February

Invited Review

Measles Virus Receptors and Tropism: Yusuke Yanagi, Makoto Takeda, Shinji Ohno and Fumio Seki……..1-5

Original Articles

Prophylactic Valacyclovir to Prevent Outbreaks of Primary Herpes Gladiatorum at a 28-Day Wrestling Camp: B.J. Anderson.....6-9

Staphylococcus aureus Nasal Carriage and Associated Factors in Type 2 Diabetic Patients: Ali Tamer, Oguz Karabay and Hasan Ekerbicer.....10-14

Characterization of *Salmonella* Isolated in Okinawa, Japan: Jun Kudaka, Kiyomasa Itokazu, Katsuya Taira, Aiko Iwai, Miwa Kondo, Tamaki Susa and Masaaki Iwanaga…...15-19

Standardization of Regional Reference for Mamushi (*Gloydius blomhoffii*) Antivenom in Japan, Korea, and China: Tadashi Fukuda, Masaaki Iwaki, Seung Hwa Hong, Ho Jung Oh, Zhu Wei, Kazunori Morokuma, Kunio Ohkuma, Lei Dianliang, Yoshichika Arakawa and Motohide Takahashi…….....20-24

Prevalence and Clinical Significance of HGV/GBV-C Infection in Patients with Chronic Hepatitis B or C: Jeng-Fu Yang, Chia-Yen Dai, Wan-Long Chuang, Wen-Yi Lin, Zu-Yau Lin, Shinn-Cherng Chen, Ming-Yuh Hsieh, Liang-Yen Wang, Jung-Fa Tasi, Wen-Yu Chang and Ming-Lung Yu.....25-30

Epidemiological Studies on *Bartonella quintana* Infections among Homeless People in Tokyo, Japan: Naomi Seki, Toshinori Sasaki, Kyoko Sawabe, Tsuguo Sasaki, Mayumi Matsuoka, Yoshichika Arakawa, Eiji Marui and Mutsuo Kobayashi…….....31-35

Genetic Analyses of Beta-Lactamase Negative Ampicillin-Resistant Strains of *Haemophilus influenzae* Isolated in Okinawa, Japan: Toru Kubota, Futoshi Higa, Nobuchika Kusano, Isamu Nakasone, Shusaku Haranaga, Masao Tateyama, Nobuhisa Yamane and Jiro Fujita…….....36-41

YMDD Mutations and Genotypes of Hepatitis B Virus in Northern China: Di Li, Hong-Xi Gu, Shu-Yun Zhang, Zhao-Hua Zhong, Min Zhuang and Toshio Hattori…..42-45

Development of a Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of *Francisella tularensis*: Osamu Fujita, Masashi Tatsumi, Kiyoshi Tanabayashi and Akio Yamada

..…….46-51

Short Communications

Actinomycosis as a Neglected Diagnosis of Mediastinal Mass: Abdolvahab Alborzi, Neda Pasyar and Jalil Nasi

.....52-53

Characteristics of *Listeria monocytogenes* Isolated from Imported Meat in Japan: Fukiko Ueda, Kunitoshi Ogasawara and Ryo Hondo.....54-56

Evaluation of the Diagnostic Efficacy of PCR for *Ureaplasma urealyticum* Infection in Indian Adults with Symptoms of Genital Discharge: Benu Dhawan, Vikas Gupta, Neena Khanna, Manjula Singh and Rama Chaudhry…….....57-58

Laboratory and Epidemiology Communications

An Outbreak of Water-Borne Gastroenteritis Caused by Diarrheagenic *Escherichia coli* Possessing *eae* Gene: Ai Baba, Sumi Ebuchi, Kayo Uryu, Hiroshi Hiwaki, Kikuyo Ogata, Etsuko Washimi, Akio Hasegawa and Shizuo Utiyama…….59-60

Usefulness of PCR-Restriction Fragment Length Polymor-

phism Analysis of the Internal Transcribed Spacer Region of rDNA for Identification of *Anisakis simplex* Complex: Niichiro Abe, Kazunari Tominaga and Isao Kimata....60-62

An Influenza AH3 Outbreak in a Hospital, Nara Prefecture, Japan, in Summer 2005: Yasushi Yonezawa, Yumiko Inoue, Yoshiteru Kitahori and Mamoru Nakano……..62-63

Seroprevalence of Human Herpesvirus 8 in the Vanuatu Islands in Eastern Melanesia: Masao Satoh, Akira Kaneko, Akatsuki Kokaze, Harutaka Katano and Tetsutaro Sata ……63-65

Characterization of the Outbreak-Derived *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Strains with Atypical Triple Sugar Iron and Simmons Citrate Reactions: Yoshito Iwade, Kazumichi Tamura, Akinori Yamauchi, Norichika H. Kumazawa, Yasuhiko Ito and Akira Sugiyama……65-66

Virological Analysis of a Case of Dual Infection by Influenza A (H3N2) and B Viruses: Shin'ichi Shimada, Kenji Sadamasu, Takayuki Shinkai, Osamu Kakuta, Yoshinori Kikuchi, Michiyo Shinohara, Kazue Uchida, Rie Doi, Kyoko Kohmoto, Miho Shimizu and Setsuko Nakajima …….....67-68

A Nosocomial Outbreak Due to Novel CTX-M-2-Producing Strains of *Citrobacter koseri* in Hematological Ward: Tsuyoshi Muta, Nobuko Tsuruta, Yumiko Seki, Rika Ota, Satowa Suzuki, Naohiro Shibata, Koji Kato, Tetsuya Eto, Hisashi Gondo and Yoshichika Arakawa…….…….69-71

No. 2, April

Original Articles

Comparison of Proteinase, Lipase and Alpha-Glucosidase Activities from the Clinical Isolates of *Candida* Species: Kusmarinah Bramono, Masashi Yamazaki, Ryoji Tsuboi and Hideoki Ogawa…..……73-76

Mutations of Conserved Glycine Residues within the Membrane-Spanning Domain of Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp41 Can Inhibit Membrane Fusion and Incorporation of Env onto Virions: Kosuke Miyauchi, Rachael Curran, Erin Matthews, Jun Komano, Tyuji Hoshino, Don M. Engelman and Zene Matsuda……...77-84

Molecular Characterization and Clinical Evaluation of Dengue Outbreak in 2002 in Bangladesh: Mohammed Alimul Islam, Muzahed Uddin Ahmed, Nasima Begum, Naseem Akhtar Chowdhury, Afjal Hossain Khan, Maria del Carmen Parquet, Sophie Bipolo, Singo Inoue, Futoshi Hasebe, Yasuo Suzuki and Kouichi Morita…….85-91

Mutations within Protein Kinase R-Binding Domain of NS5A Protein of Hepatitis C Virus (HCV) and Specificity of HCV Antibodies in Pretreatment Sera of HCV-Chronically Infected Patients and Their Effect on the Result of Treatment: Dariusz Kmieciak, Lukasz Kruszyna, Pawel Migdalski, Mariusz Lacinski, Jacek Juszczyk and Wieslaw H. Trzeciak…….92-99

Distribution of PrP^{Sc} in Cattle with Bovine Spongiform Encephalopathy Slaughtered at Abattoirs in Japan: Naoko Iwata, Yuko Sato, Yoshimi Higuchi, Kyoko Nohtomi, Noriyo Nagata, Hideki Hasegawa, Minoru Tobiume, Yuko Nakamura, Ken'ichi Hagiwara, Hidefumi Furuoka, Motohiro Horiuchi, Yoshio Yamakawa and Tetsutaro Sata ……..100-107

Two Cases of Sucrose-Fermenting *Vibrio vulnificus* Infection in Which 16S rDNA Sequencing Was Useful for Diagnosis: Miki Nagao, Yuko Shimizu, Yoshiyasu Kawada, Hisashi Baba, Keiko Yamada, Keizo Torii and Michio Ohta ……..……..108-110

Genetic and Phenotypic Characterization of *Haemophilus influenzae* Type b Isoalted from Children with Meningitis and Their Family Members in Vietnam: Phan L. T. Huong, Ngo T. Thi, Dang D. Anh, Vu T. T. Huong, Le N. Minh, Tran Q. Canh, Mayumi Matsuoka, Kazunari Kamachi, Tsutomu Yamazaki, Yoshichika Arakawa and Tsuguo Sasaki…….....111-116

Short Communications

Nalidixic Acid Resistance in *Salmonella* Strains with Decreased Susceptibility to Ciprofloxacin Isolated from Humans in Turkey: Serpil Ercis, Birsel Erdem, Gulsen Hascelik and Deniz Gur……..…..117-119

The Clinical Picture of Neonatal Infection with *Pantoea* Species: Van Rostenberghe H., Noraida R., Wan Pauzi W. I., Habsah H., Zeehaida M., Rosliza A. R., Fatimah I., Nik Sharimah N. Y. and Maimunah H. ……..……120-121

Analysis of a Long-Term Discrepancy in Drug-Targeted Genes in Plasma HIV-1 RNA and PBMC HIV-1 DNA in the Same Patient: Shuzo Usuku, Yuzo Noguchi, Mitsuo Sakamoto, Takuya Adachi, Hiroko Sagara, Koji Sudo, Masako Nishizawa, Makiko Kondo, Osamu Tochikubo and Mitsunobu Imai……..…….122-125

An Unusual Case of Brain Abscess by *Gemella morbillorum*: Maria Carla Liberto, Giovanni Matera, Rossana Puccio, Vincenzo Barbieri, Angela Quirino, Renata Capicotto, Vincenzo Guadagnino, Kurt Pardatscher and Alfredo Foca

……..126-128

Trichosporon asahii Fungemia in a Patient with Non-Hemotological Malignancy: Oguz Karabay, Miguel G. Madariaga, Esra Kocoglu, Nevin Ince and Engin Kandirali…...129-131

A Severe *Salmonella enterica* Serotype Paratyphi B Infection in a Child Related to a Pet Turtle, *Trachemys scripta elegans*: Noriyuki Nagano, Shinji Oana, Yukiko Nagano and Yoshichika Arakawa……...132-134

Laboratory and Epidemiology Communications

A Cluster of Hepatitis E Virus Infection in Hokkaido, Japan: Setsuko Ishida, Shima Yoshizumi, Masahiro Miyoshi, Toyo Okui, Akira Ishida, Syoji Abe, Hiroshi Otsuka, Motohiko Okano and Masaichi Yonekawa…… ……..135-136

A Diffuse Outbreak of Hepatitis E in Mie Prefecture, 2005: Yoko Nakano, Akinori Yamauchi, Takuya Yano, Osamu Nakayama, Haruko Sakai, Yuji Nagasaka, Seiji Itaba, Yoshiki Tabata and Akira Sugiyama…….136-138

Rare Group A Rotavirus P[9]G3 Isolated in Nara Prefecture, Japan: Yumiko Inoue and Yoshiteru Kitahori……...139-140

Characteristics of Norovirus Outbreaks during a Non-Epidemic Season: Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Mitsuko Matsuo, Yoshiharu Ikeda, Hisayoshi Yoshida, Hisako Sibata, Fumitoshi Fujii and Tomoyuki Tanaka…….140-141

Isolation of Influenza A/H3 and B Viruses from an Influenza Patient: Confirmation of Co-Infection by Two Influenza Viruses: Shoichi Toda, Reiko Okamoto, Tomoko Nishida, Toshiki Nakao, Masatoshi Yoshikawa, Eitaro Suzuki and Shigenori Miyamura……..142-143

First Isolation of Influenza B Virus in Kawasaki City, Kanagawa Prefecture, Japan in the 2005-2006 Season: Hideaki Shimizu, Keiko Okuyama, Yoshie Hirai and Masayuki Ogawa……...….143-144

CMY-2 Beta-Lactamase-Producing *Salmonella enterica* Serovar Infantis Isolated from Poultry in Japan: Masumi Taguchi, Kazuko Seto, Wataru Yamazaki, Teizo Tsukamoto, Hidemasa Izumiya and Haruo Watanabe……..144-146

No. 3, June

Original Articles

Clinical Experiences of the Infections Caused by Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Serratia marcescens* at a Medical Center in Taiwan: Kuo-Chen Cheng, Yin-Ching Chuang, Lii-Tzu Wu, Guan-Cheng Huang and Wen-Liang Yu……147-152

Nosocomial Outbreak of Ceftazidime-Resistant *Serratia marcescens* Strains That Produce a Chromosomal AmpC Variant with N235K Substitution: Jun Yatsuyanagi, Shioko Saito, Takayuki Konno, Seizaburo Harata, Noriyuki Suzuki, Jun Kato and Ken-ichi Amano……153-159

Presentation of Childhood Brucellosis in Western Greece: Ioannis Giannakopoulos, Nikoleta M. Nikolakopoulou, Maria Eliopoulou, Aikaterini Ellina, Febronia Kolonitsiou and Dimitris A. Papanastasiou……...160-163

The Predictive Value of Serum Procalcitonin Levels in Adult Patients with Active Pulmonary Tuberculosis: Orhan Baylan, Arzu Balkan, Ali Inal, Ozgul Kisa, Ali Albay, Levent Doganci and Cengiz Han Acikelk…….164-167

Cost-Effectiveness Analysis of Antiretroviral Drug Treatment and HIV-1 Vaccination in Thailand: Shunsuke Ono, Takako Kurotaki, Tadashi Nakasone, Mitsuo Honda, Jotika Boon-Long, Pathom Sawanpanyalert and Kazuko Kimura ……..……..168-173

Cholera Outbreak in Southeast of Iran: Routes of Transmission in the Situation of Good Primary Health Care Services and Poor Individual Hygienic Practices: Shahrokh Izadi, Hedayat Shakeri, Pedram Roham and Khodadad Sheikhzadeh……..…….174-178

Short Communications

Masks for Influenza Patients: Measurement of Airflow from the Mouth: Sakae Inouye, Yasuaki Matsudaira and Yoshibumi Sugihara….....….179-181

Surveillance of Group B Streptococcal Toxic Shock-Like Syndrome in Nonpregnant Adults and Characterization of the Strains in Japan: Bin Chang, Tadayoshi Ikebe, Akihito Wada, Kikuyo Ogata, Masaaki Tomita, Chihiro Katsukawa, Ryuji Kawahara, Rieko Suzuki, Miyoko Endo, Junko Isobe, Daisuke Tanaka, Kyoko Hirasawa, Haruo Watanabe and the Working Group for Streptococci in Japan……..182-185

Serum Levels of sICAM-1 and sE-Selectin in Patients with Dengue Virus Infection: Apichai Khongphatthanayothin, Piyawan Phumaphuti, Kriangsak Thongchaiprasit and Yong Poovorawan…….……...186-188

Tuberculosis-Like Peritonitis Due to an Atypical *Mycobacterium* Infection in a Japanese Woman: Hirokazu Kimura, Masakazu Yoshizumi, Misa Iijima, Toshio Tsukagoshi, Toshinobu Nishimura, Masahiko Kato, Yukio Morita, Ryota Tanaka, Kunihisa Kozawa, Masahiro Fujita, Masaru Kojima and Hisanori Minakami……...189-191

Characterization of Erythromycin Resistance of *Streptococcus pyogenes* Isolated from Pharyngitis Patients in Korea: Young Hee Yi, Ji Hye Choi, Hae Kyung Lee, Kwang Jun Lee, Song Mee Bae, Jae Yon Yu and Ki Sang Kim..192-194

The Low Rate of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Turkish Children: Ahmet Soysal, Hulya Sahin, Aysegul Yagci, Isil Barlan and Mustafa Bakir……195-196

Frequency of Amantadine-Resistant Influenza A Virus Isolated from 2001-02 to 2004-05 in Nara Prefecture: Yoshiteru Kitahori, Mamoru Nakano and Yumiko Inoue……..197-199

Laboratory and Epidemiology Communications

Rapid Subtyping of Influenza A Virus by Loop- Mediated Isothermal Amplification: Two Cases of Influenza Patients Who Returned from Thailand: Naoko Nakagawa and Masahiro Ito.....200-201

Epidemiology and Molecular Analysis of Group A Streptococci from Patients Involved in Food-Borne Disease Outbreaks in Japan between 1996 and 2003: Daisuke Tanaka, Tomoko Shima, Junko Isobe, Masanori Watahiki, Masakado Matsumoto, Miyoko Endoh, Rumi Okuno, Kikuyo Ogata and Yoshiyuki Nagai……..202-203

Epidemiological Study of Japanese Spotted Fever and Tsutsugamushi Disease in Shimane Prefecture, Japan: Kenji Tabara, Ken Hoshina, Asao Itagaki, Takashi Katayama, Hiromi Fujita, Teruki Kadosaka, Yasuhiro Yano, Nobuhiro Takada and Hiroki Kawabata……204-205

A Food-Borne Norovirus Outbreak at a Primary School in Wakayama Prefecture: Seiji Morioka, Tooru Sakata, Atsuko Tamaki, Takahide Shioji, Akira Funaki, Yasuo Yamamoto, Hiroomi Naka, Fumio Terasoma, Kenji Imai and Koji Matsuo……...205-207

Scrub Typhus (Tsutsugamushi Disease) in Kanagawa Prefecture in 2001-2005: Takashi Katayama, Miyuki Hara, Yumiko Furuya, Takayasu Nikkawa and Hirokazu Ogasawara……..207-208

Sequence Characteristics of HA Gene in Influenza Type A (H1N1) Virus Isolated during the 2005-2006 Season in Aichi Prefecture, Japan: Mami Hata, Masako Tsuzuki, Kenji Sakae, Hiroko Minagawa, Takashi Kimura and Yutaka Miyazaki……..……209-211

Dual Infection by Dengue Virus and *Plasmodium vivax* in Alappuzha District, Kerala, India: P. S. Thangaratham, M. K. Jeevan, R. Rajendran, P. Philip Samuel and B. K. Tyagi……..……211-212

No. 4, August

Original Articles

Finding the Sources of Septicemia at a Neonatal Intensive Care Unit: Newborns and Infants Can Be Contaminated While Being Fed: Behcet Ilker Buyukyavuz, Ali Kudret Adiloglu, Suleyman Onal, Saadettin Ender Cubukcu and Hasan Cetin……213-215

Cytomegalovirus Antigenemia and Outcomes of Patients Undergoing Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation: Effects of Long-Term High-Dose Acyclovir Prophylaxis and Preemptive Ganciclovir Treatment: Volkan Hazar, Aynur Ugur, Dilek Colak, Rabin Saba, Gulsun Tezcan, Alphan Kupesiz, Ihsan Karadogan, Meral Gultekin, Akif Yesilipek and Levent Undar……..216-221

Improved Survival of Persons with Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy in Taiwan: Chien-Ching Hung, Chin-Fu Hsiao, Mao-Yuan Chen, Szu-Min Hsieh, Sui-Yuan Chang, Wang-Huei Sheng, Hsin-Yun Sun and Shan-Chwen Chang ……...222-228

Tularemia, a Reemerging Disease in Northwest Turkey: Epidemiological Investigation and Evaluation of Treatment Responses: Guven Celebi, Fatma Baruonu, Ferruh Ayoglu, Fikret Cinar, Aynur Karadenizli, Mehmet Birol Ugur and Suna Gedikoglu……..229-234

Epidemiology of Scrub Typhus in Eastern Taiwan, 2000-2004: Yeong-Sheng Lee, Pei-Hua Wang, Shu-Jen Tseng, Ching-Fen Ko and Hwa-Jen Teng…….235-238

Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) Gene Polymorphism Is Not Associated with Severe and Cerebral Malaria in Thailand: Naowarut Dechkum, Hathairad Hananantachai, Jintana Patarapotikul, Jun Ohashi, Srivicha Krudsood, Sornchai Looareesuwan and Katsushi Tokunaga…..239-244

Enterotoxigenic *Escherichia coli* Causing Cholerogenic Syndrome during an Interepidemic Period of Cholera in North India: Neelam Taneja, Pooja Rao, D. S. V. Raman Rao, Malkit Singh and Meera Sharma……...245-248

Some Probiotic Propertise of Vaginal Lactobacilli Isolated from Healthy Women: Belma Aslim and Emine Kilic ……..249-253

Short Communications

Evaluation of Cases Admitted to a Center in Istanbul, Turkey in 2003 for Rabies Vaccination and Three Rabies Cases Followed Up in the Last 15 Years: Gonul Sengoz, Kadriye

Kart Yasar, Semsi Nur Karabela, Filiz Yildirim, Figen Tansug Vardarman and Ozcan Nazlicanpages …….254-257

Soft Tissue Infections in Children: A Retrospective Analysis of 242 Hospitalized Patients: Gonul Tanir, Alparslan Tonbul, Nilden Tuygun, Cumhur Aydemir and Ulker Ertan…….…….258-260

Evaluation of Rapid Urine Screening Tests to Detect Asymptomatic Bacteriuria in Pregnancy: Birgul Kacmaz, Ozenc Cakir, Altan Aksoy and Aydan Biri ……..261-263

Ochrobactrum anthropi Endocarditis and Septic Shock in a Patient with No Prosthetic Valve or Rheumatic Heart Disease: Case Report and Review of the Literature: D. Ozdemir, Z. Soypacaci, I. Sahin, Z. Bicik and I. Sencan ……...264-265

Emergence of *Vibrio cholerae* O1 Biotype El Tor Serotype Inaba Causing Outbreaks of Cholera in Orissa, India: Bibhuti Bhusan Pal, Hemant Kumar Khuntia, Surya Kanta Samal, Soumya Sucharita Das and Guru Prasad Chhotray …….....…266-269

Combined Genogroup I and II Norovirus Infection at a Nursery: Kiyoko Uchino, Tatsuya Miyoshi, Mitsuko Matsuo,Yoshiharu Ikeda, Yoshiaki Yoshida, Yoko Teranaka,Mitsunobu Sugimoto, Yoshinobu Sasaki, Hisako Shibata, Fumitoshi Fujii and Tomoyuki Tanaka…...270-272

Laboratory and Epidemiology Communications

Epidemiology of Tsutsugamushi Disease and Japanese Spotted Fever in Kagoshima Prefecture, Japan: Mutsuyo Gokuden, Kanji Ishitani, Ken-ichiro Yoshikuni, Nobuhiro Ueno, Naomi Shinkawa, Tsuyoshi Kuramoto, Toshiro Honda and Yoshihiko Miyatapages…….…….273

Shigellosis in Kobe City, Japan, after School Excursion to Malaysia and Singapore: Tomoki Kimura, Akira Inoue, Yasuto Kawakami and Chika Shirai…….274

Molecular Characterization of *Salmonella enterica* Serotype Worthington Isolated from Childhood Diarrhea Cases in Kolkata, India: Saswati Sinha, Gururaja Perumal Pazhani, Bhaswati Sen and Swapan Kumar Niyogi…….275-276

Intrafamilial Transmission of a Sabin 1-Related Poliovirus in Shizuoka Prefecture, Japan: Masaaki Sugieda, Satoshi Adachi, Megumi Inayoshi, Takashi Masuda, Munetoshi Tsubota, Hozumi Mano, Masato Iwana, Yoshio Murakami, Hiromu Yoshida and Hiroyuki Shimizu……277-278

Trail of Nested PCR by Using DNA Templates Extracted from Preparations for Microscopic Tests for *Cryptosporidium* Oocysts and *Giardia* Cysts: Masaaki Keino, Hiroko Kumada, Yuuko Kouno, Shigeki Aizawa and Shigeki Nishida…….…..278-279

Tuberculous Mastitis: A Report of Two Cases in Elderly Females: Varsha Gupta, Harsh Mohan, Prashant Jain, Surinder Singh and Nidhi Singla……...279-280

Salmonellosis of Infants Presumably Originating from an Infected Turtle in Nagasaki, Japan: Haruki Kaibu, Kunihiro Iida, Shinsuke Ueki, Hiroko Ehara, Yuuko Simasaki, Hitosi Anzai, Yuuichirou Toku and Satosi Shirono ……...281

Shigella sonnei Outbreak among Japanese Travelers Returning from Hawaii: Jun Terajima, Naoki Tosaka, Kumi Ueno, Kazutoshi Nakashima, Paul Kitsutani, Mary K. Gaynor, Sarah Y. Park and Haruo Watanabe……282-283

No. 5, October

Original Articles

Biodistribution of a Low Dose of Intravenously Administered AAV-2, 10, and 11 Vectors to Cynomolgus Monkeys: Seiichiro Mori, Takamasa Takeuchi, Yutaka Enomoto, Kazunari Kondo, Kaori Sato, Fumiko Ono, Naoko Iwata, Tetsutaro Sata and Tadahito Kanda……..……285-293

Outbreak of Respiratory Tract Infections on an Islet in Korea: Possbile *Chlamydia pneumoniae* Infection: Kwang-Jun Lee, Su-Jin Kwon, Bo-Ram Choi, Song-Mee Bae, Toshio Kishimoto, Shuji Ando, Chikako Mashida, Young-Hee Lee, Hee-Bok Oh and Ki-Sang Kim……..294-298

Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of Invasive and Non-invasive Pneumococal Isolates in Asturias, Spain: Maria Del Mar Garcia-Suarez, Roberto Villaverde, Alberto F. Caldevilla, Francisco J. Mendez and Fernando Vazquez……..…….....299-305

Intestinal Microsporidiosis in Diarrheal Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus-1 in Addis Ababa, Ethiopia: Tekola Endeshaw, Amha Kebede, jaco J. Verweij, Ayele Zewide Kebede Tsige, Yodit Abraham, Dawit Wolday, Tilahun Woldemichael, Tsehaynesh Messele, Anton M. Polderman and Beyene Petros……306-310

Changes in the Clinical Spectrum of Opportunistic Illnesses in Persons with HIV Infection in Taiwan in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy: Hsin-Yun Sun, Mao-Yuan Chen, Szu-Min Hsieh, Wang-huei Sheng, Sui-Yuan Chang, Chin-Fu Hsiao, Chien-Ching hung and Shan-Chwen Chang…….311-316

Short Communications

Subacute Sclerosing Panencephalitis with Genelized Seizure as a First Symptom: A Case Report: Deniz Tuncel, Aydal Ertugrul Ozbek, Gulen Demirpolat and Hamza Karabiber ……317-319

A Case of Splenic Abscess during Treatment of Interstitial Pneumonia: Koichi Izumikawa, Yoshitomo Morinaga, Kinichi Izumikawa, Kohei Hara and Shigeru Kohno ……...320-322

Marburgvirus Nucleoprotein-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Monoclonal Antibodies to Recombinant Nucleoprotein: Detection of Authentic Marburgvirus: Masayuki Saijo, Marie-Claude Georges-Courbot, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Marianneau Philippe, Alain-Jean Georges, Ichiro Kurane and Shigeru Morikawa……..…323-325

Seroprevalence of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Sistan-va-Baluchestan Province of Iran: Shahrokh Izadi, Kourosh Holakouie-Naieni, Seyed Reza Majdzadesh, Sadegh Chinikar, Abolhassan Nadim, Fatemeh Rakhshani and Badakhshan Hooshmand……326-328

Fluoxetine Potentiates Chloroquine and Mefloquine Effect on Multidrug-Resistant *Plasmodium falciparum* In Vitro: Mohd Fadzli Mustaffa Khairul, Tan hooi Min, Jen Hou Low, Che husin Che Nasriyyah, Azahri Noor A'shikin, Mohd Nor Norazmi, Manickam Ravichandran and Suraparaju Sivachandra Raju……...……329-331

Imaging of Pulmonary Granulomas Using a Photon Imager: Isamu Sugawara, Satoru Mizuno, Taiga Tatsumi and Tadayoshi Taniyama…….…….332-333

Resistance to Erythromycin and Rising Penicillin MIC in *Streptococcus pyogenes* in India: Malini Rajinder Capoor, Deepthi Nair, Monorama Deb, Kadambari Batra and Pushpa Aggarwal……...334-336

Mycobacterium marinum Tenosynovitis: Three Case Reports and Review of the Literature: Hung-Chin Tsai, Susan Shin-Jung Lee, Shue-Ren wann, Yao-Shen Chen, Yu-Wen Liu and Yung-Ching Liu……..337-340

Detection and Characterization of Variant *Salmonella* Genomic Island 1s from *Salmonella* Derby Isolates: Masato Akiba, Kotaro Nakamura, David Shinoda, Noriyo Yoshii, Hiroya Ito Ikuo Uchida and Muneo Nakazawa……341-345

Laboratory and Epidemiology Communications

Outbreak of Food-Borne Infection with Hepatitis A Virus: Yutaka Takeuchi, Gen Kobayashi, Yoko Matui, Yoko Miyajima, Sadaei Tanahashi, Masako Honma, Miyako Takahashi, Hisako Eguchi and Mariko Tanaka……346

Food Poisoning Attributable to *Staphylococcus aureus* Deficient in All of the Staphylococcal Enterotoxin Gene So Far Reported: Sanae Kuramoto, Hiroe Kodama, Keiko Yamada, Itirou Inui, Emiko Kitagawa, Keiko Kawakami, Ryouji Satomi, Akemi Ikawa, Katsuhiko Omoe and Kunihiro Shinagwa…….……..347

Isolation of Enterovirus 71 from Patients with Hand, Foot and Mouth Disease in a Local Epidemic on March 2006, in Miyagi Prefecture, Japan: Chizuko Sato, Mika Syoji, Yo ueki, yuki Sato, Yoko Okimura, Noriyuki Saito, Naoko Kikuchi, Tsuneo Yagi and Hirohiko Numakura……..…348

Psittacosis in All Four Members of a Family in Nagasaki, Japan: Haruki Kaibu, Kunihiro Iida, Shinsuke Ueki, Hiroko Efara, Yuko Shimasaki, Sachiko Watanabe, Hitoshi Anzai, Wakako Takebu, Takaya Muta, Teruyo Kusaba, Toshio Kishimoto and Shuji Ando……349-350

An Outbreak of Group C Rotavirus Infection in an Elementary School in Shimane Prefecture, Japan, February 2006: Setsuko Iizuka, Kenji Tabara, Akemi Kawamukai, Hiroshi Itogawa and Ken Hoshina……..350-351

The First Reported Case of a Dog Infected with *Echinococcus multilocularis* in Saitama Prefecture, Japan: Norishige Yamamoto, Yasuyuki Morishima, Marina Kon, Masanori Yamaguchi, Sakiko Tanno, Masaya Koyama, Naohiro Maeno, Hisashi Azuma, Hajime Mizusawa, Hiroshi Kimura, Hiromu Sugiyama, Kyoko Arakawa and Masanori Kawanaka…….…..351-352

No. 6, December

Original Articles

Association of Human Leukocyte Antigen Polymorphism with Hepatitis B Virus Infection and Genotypes: Shu-Yun Zhang, Hong-Xi Gu, Di Li, Shu-Fen Yang, Zhao-Hua Zhong, Xing-Ku Li and Xi Jin……..…….353-357

Salmonella enterica Serovar Kentucky: Antimicrobial Resistance and Molecular Analysis of Clinical Isolates from the Slovak Republic: Viktor Majtan, Tomas Majtan, Juraj Majtan, Monika Szaboova and L'ubica Majtanova..358-362

A Two-Step Strategy for Detecting Intrauterine Cytomegalo-virus Infection with Clinical Manifestations in the Mother, Fetus, and Newborn: Masatoki Kaneko, Hiroshi Sameshima, Tsuyomu Ikenoue and Toshio Minematsu……363-366

Duration of the Metronidazole-Containing Regimen for Eradication of *Helicobacter pylori* Infection in Northern Japan: Shinsaku Fukuda, Tadashi Shimoyama, Muneo Tanaka, Fumika Nakasato, Michio Fukushi and Akihiro Munakata……...….367-369

Clinical Study on the Efficacy and Safety of Intravenous Itraconazole Infusion for the Treatment of Invasive Fungal Infection in China: Wang Aixia, Zhang Yingyuan, He Lixian, Shen Zhixiang, Liao Wanqing, Han Mingzhe, Li Ruoyu, Liang Derong, Wu Shaoxi, Hahn-Ast Corinna, Glasmacher Axel and Liekwok Wai Albert……..370-376

"Syndromic Surveillance within a Hospital" for the Early Detection of a Nosocomial Outbreak of Acute Respiratory Infection: Akihiko Kawana, Katsuji Teruya, Teruo Kirikae, Jun-ichiro Sekiguchi, Yasuyuki Kato, Emi Kuroda, Kumi Horii, Sin-ichiro Saito, Hiroshi Ohara, Tadatoshi Kuratsuji, Satoshi Kimura and Koichiro Kudo……..377-379

Short Communications

Microbial Sensitivity Pattern in Urinary Tract Infections in Children: A Single Center Experience of 1,177 Urine Cultures: Mostafa Sharifian, Abdollah Karimi, Sedigheh Rafiee Tabatabaei and Navid Anvaripour……380-382

A Simplified PCR Methodology for Semiquantitatively Analyzing Dengue Viruses: Supranee Upanan, Arturo Cabrera-Hernandez, Maneerat Ekkapongpisit and Duncan R. Smith……..……383-387

Validation of Urinary Antigen Test for *Streptococcus pneumoniae* in Patients with Pneumococcal Pneumonia: Serpil Ercis, Alper Ergin, Gulsen Ozkaya Sahin, Gulsen Hascelik and Omrum Uzun……....388-390

Tularemia Re-Emerging in European Part of Turkey after 60 Years: Saban Gurcan, Muzaffer Eskiocak, Gamze Varol, Cem Uzun, Muserref Tatman-Otkun, Nermin Sakru, Aynur Karadenizli, Cigdem Karagol and Metin Otkun……391-393

Detection of Adenovirus DNA in Throat Swabs and Blood by SYBR Green Real-Time PCR Assay in Patients with Adenovirus-Associated Tonsillitis: Urara Kohdera, Minoru Kino and Masahiro Ito……..……..394-396

Characteristics of *Streptococcus suis* Isolated from Patients in Japan: Bin Chang, Akihito Wada, Tadayoshi Ikebe, Makoto Ohnishi, Kazuhito Mita, Miyoko Endo, Hirosuke Matsuo, Yoshinori Asatuma, Sanae Kuramoto, Hiroshi Sekiguchi, Motoyosi Yamazaki, Hiroko Yoshikawa, Nobuei Watabe, Hideko Yamada, Shohachi Kurita, Yumiko Imai and Haruo Watanabe……..……..…….397-399

Epidemiological Report

Infection with HIV and Intestinal Parasites among Street Dwellers in Gondar City, Northwest Ethiopia: Feleke Moges, Yenew Kebede, Afework Kassu, Getu Degu, Moges Tiruneh and Molla Gedefaw……..400-403

Laboratory and Epidemiology Communications

Annual Incidence of Tsutsugamushi Disease in Miyazaki Prefecture, Japan in 2001-2005: Seigo Yamamoto, Hidenari Ganmyo, Akira Iwakiri and Sen Suzuki……404-405

Two Outbreaks Caused by *Salmonella* Derby and *S.* Anatum at Grilled-Meat Restaurants in Fukuoka City: Sumi Ebuchi, Ai Baba, Kayo Uryu and Hiroshi Hiwaki……405-406

Food Poisoning Outbreak of *Salmonella* Enteritidis Caused by Box Lunch in Shiga Prefecture, Japan: Akinori Kawabata, Kazuhiko Ishikawa, Yuki Iwasaki, Kayo Aoki, Shinji Takagi, Takashi Namikawa, Kazue Ohtomo and Tomohiro Inoue……..…….406-407

Outbreak of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 Attributed to a Grilled-Meat Restaurant: Sumitaka Manago, Kyouko Kishikawa, Hideno Tokunaga, Sadayuki Funatsumaru, Yasunori Kubo, Motoyasu Sonoda, Takuya Yoshihara, Fujiaki Nasu and Katsuko Kasahara…...407-408

An Outbreak of *Campylobacter jejuni* Food Poisoning Caused by Secondary Contamination in Cooking Practice at a High School: Kiyoe Yoda and Masako Uchimura…….408-409

Enterotoxigenic *Escherichia coli* O6:H16 Food Poisoning Outbreak in Prisons: Tomoko Kimura, Yoko Akiba, Miyoshi Tsuruta, Toru Akimoto, Yoshio Mitsui, Yoshihiro Ogasawara and Hiroshi Ikegami……410-411

ACKNOWLEDGMENTS

The Editorial Board is grateful to the following scientists for reviewing articles submitted to Japanese Journal of Infectious Diseases during 2006.

Kenji Abe, Shigeru Abe, Hideki Aizaki, Atsushi Ajisawa, Shuji Ando, Takafumi Ando, Fumie Aoki, Koya Ariyoshi, Manabu Ato, Bin Chang, Tamaki Cho, Yuki Eshita, Hirotoshi Fujikawa, Tsuguto Fujimoto, Takashi Fukuoka, Harumi Gomi, Naomasa Gotoh, Nobuyuki Hamashima, Grant Stuart Hansman, Ryo Harasawa, Futoshi Hasebe, Hiroshi Hatano, Akira Hebisawa, Takehiko Hiroma, Hiroki Hori, Atsuko Horino, Shizunobu Igimi, Tadayoshi Ikebe, Mitsunobu Imai, Koichi Imaoka, Koji Ishi, Yoshikazu Ishii, Tetsuya Ishikawa, Akira Ito, Teruyo Ito, Masaaki Iwaki, Sunao Iyoda, Shuji Izumo, Kazunari Kamachi, Katsuhiko Kamei, Kiyoko Kamei,

Masahiro Kami, Shigeru Kamiya, Hiroji Kanbara, Shigeyuki Kano, Haru Kato, Ikuo Kawamura, Akihiko Kawana, Tsuyoshi Kenri, Ken Kikuchi, Shogo Kikuchi, Toshiaki Kikuchi, Kenji Kimura, Kouji Kimura, Masatomo Kimura, Teruo Kirikae, Kazuo Kobayashi, Seiki Kobayashi, Nobuo Koizumi, Katsuhiro Komase, Eiji Konishi, Fumiaki Kura, Makoto Kuroda, Tian-Cheng Li, Chang Kwang Limn, Akihiko Maeda, Shinji Maeda, Yumi Maeda, Koichi Makimura, Asao Makioka, Toshiyuki Masuzawa, Tetsuya Matsumoto, Hiroyuki Matsuoka, Shuzo Matsushita, Hiroshige Mikamo, Satoshi Mitarai, Jiro Mitobe, Motonobu Miyazaki, Tetsuya Mizutani, Keita Morikane, Kyoko Murakami, Soumei Murayama, Yoshinari Myoken, Noriyuki Nagano, Setsuko Nakajima, Tomohiko Nakamura, Kazutoshi Nakashima, Hidekazu Nishimura, Masatsugu Obuchi, Kuniyasu Ochiai, Masaki Ochiai, Wakano Ogawa, Yoshirou Ohara, Akihiro Ohkado, Yasushi Ohkusa, Tomoichiro Oka, Tetsu Okumura, Ro Osawa, Kazunobu Ouchi, Takaaki Oyama, Masayuki Saijo, Yuko Sasaki, Tsutomu Sekizaki, Seigo Shiga, Mika Shigematsu, Motoyuki Sugai, Kazuo Sugane, Isamu Sugawara, Takashi Sugita, Satowa Suzuki, Yasuhiko Suzuki, Kazuo Tajima, Shigeru Tajima, Ayato Takada, Tsutomu Takegami, Keiko Tanaka, Masahiro Tanaka, Masatoshi Tanaka, Yasuto Tanaka, Kenichi Tanamoto, Kazuhiro Tateda, Katsuji Teruya, Takehiro Togashi, Masaharu Tokoro, Haruyoshi Tomita, Kyoichi Totsuka, Kimiko Ubukata, Katsuhisa Uchida, Junichi Wachino, Hiroshi Watanabe, Kenji Yagita, Akihiko Yamamoto, Masahiro Yamamoto, Kunikazu Yamane, Shinji Yamazaki, Toshio Yamazaki, Tsutomu Yamazaki, Hisako Yano, Jun Yatsuyanagi, Akira Yasuoka, Takashi Yoshiyama

２２．ハンセン病研究センター

センター長　森　　亨

概　要

当センターは昨年度創立 50 年､国立感染症研究所との統合後 10 年という２つの節目を折り返し、次の 50 年、10 年を目指す新しい１年目を迎えた。

「新興再興感染症」のキャッチフレーズが世に出てから久しいが､感染症に対する世間の関心はますます高く、感染症研究所への社会の期待もますます重くなっている。そうしたなかにあって当研究センターのミッションはユニークである。日本で新たに発生するハンセン病患者の数こそ１ケタとはいえ、後遺症に悩む人々は全国に千をゆうに超える数で残っている｡一方､全世界的に見れば、未だに３０万人になんなんとする新たな患者の発生が報告され、それらのすべての患者がそろって望ましい医療の恩恵に浴しているとは言い難い。ハンセン病研究を看板に掲げる、先進国にはまれな国設施設として、当研究センターはすでに日本国内の枠を越えて、全地球的視野で研究を推進することが要請されている。

一方ハンセン病という病気、らい菌という原因菌の謎に満ちた姿は我々科学研究者を時に翻弄し、時に魅了しながら強く惹きつけてやまない。当研究センターが総力をあげて取り組んで主として基礎研究の成果はハンセン病の対策に翻訳されるのみならず、他の抗酸菌、その他の細菌、いな生命現象一般にも敷衍されるべきものとなっている。

近年ハンセン病など、一定の線を超えて減少した病気に対する関心が不当に低くなることがあることをとりあげて、それらの病気をまとめて“Neglected diseases”として国際的に注意喚起を行う動きがある。問題の「切り捨て」に対する批判と警戒である。日本でも同様である。

加えて我が国はハンセン病対策の厳しい歴史を背負っている。本年度は当研究センターも胎児標本問題への対応として特別の重い関わりをもった。

研究以外の面でもしかりであるが、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｣を平成 18 年度の科学技術週間の事業の一環として 4 月 22 日に行った｡近隣の市民がハンセン病という病気についての講義を専門家から聴き、またらい菌の顕微鏡像をじかに覗く体験をして、病気や問題への理解を深めるきっかけをもった。

第 29 回を迎えるハンセン病医学夏期大学講座も例年通り全生園、入所者自治会等の協力の下に企画、実行された。さまざまな職種の参加者 25 人を集めて、全国から（国外からも 1 名）招請したハンセン病医学の最高権威者を講師に、講義、実習、入所者等との交流など極めて多角的かつ濃密にハンセン病に向かい合う１週間として本年度も好評を博した。

国際協力機構（JICA）の委託による国際研修が例年のように行われ、エルサルバドル、ハイチ、チャド、インドネシアの研修生が参加した。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 5 回目である。長年継続されてきたこのコースの修了者は自国のハンセン病対策の要に成長し、彼らと当研究センターのつながりは世界に広がる重要な知的ネットワークとして大きな資産となっている。今後はこれを維持し育成していくことも当研究センターの責務となろう。

折り返し点の再出発にふさわしく 17 年度から 3 年計画で予算が承認された BSL-3 研究棟(動物実験施設 ABSL-3 を含む）の建設がいよいよスタートした。ただし、19 年度予算の関係上、設計の変更のために年度途中で工事は一時中止された。竣工までにはなおも曲折を覚悟しなければならないが、各方面からのサポートによってとうとう発足した計画であるからには、なんとしても所期の機能を具有する研究棟を完成させ、社会の付託に応える施設にしたい。

国内関係事業等

1. 第 29 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 21～25 日)。参加者数は 25 名（うち医師及び医学部学生が 4 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、ふれあい福祉協会で構成。

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（5 月 26 日、9 月 20 日、2 月 20 日）

3. 「ハンセン病医学市民公開講座」の実施
日時：平成 18 年 4 月 22 日（土）14:00〜15:30
会場：ハンセン病研究センター講義室
演題：「ハンセン病とハンセン病研究センター」
講師：牧野正彦（病原微生物部長）
来聴者数：約２０人

4. ハンセン病研究センターに保管されていた２体の胎児標本を、１体は国立療養所多磨全生園に、もう１体を国立療養所栗生楽泉園にお返しし、それぞれの慰霊祭(9 月 27 日、11 月 7 日)にセンター長が出席した。

国際協力事業

1. 平成 18 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する人材の育成を目的とする。
参加者：エルサルバドル、ハイチ、チャド、インドネシア　計 4 名
参加期間：平成 18 年 4 月 4 日〜平成 18 年 12 月 9 日
内容：日本語講義　1 ヶ月
講義　年間 27（所内 16、所外 11）
個別研修　約 4 ヶ月
外部研修　約 14 回
(株)　BML
川崎市高津区保健福祉センター
ファイザー株式会社
結核予防会 結核研究所
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
京都大学医学部
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
日本熱帯病医学会総会出席
ハンセン病医学夏期大学講座
他
成果：各研修員は有意義な研修を行い、平成 18 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：ハンセン病の早期診断技術指導を最終目的として、新しい血清診断法に関する共同研究及び遺伝子診断技術導入のための研究基盤整備への協力を遂行するため職員 3 名を派遣。

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 18 年度（平成 18 年 4 月〜平成 19 月 3 月）の検査件数は表のごとく 29 症例、62 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おり、カッコ付けで記載した。平成 19 年度からは薬剤耐性遺伝子検査を正式に採用する予定である。

29 症例の最終診断は、9 例は新規にハンセン病と診断、5 例は既にハンセン病と診断、15 例はハンセン病でないと診断した。

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、平成 17 年度：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)}である。平成 18 年度は 62 件と減少した。ハンセン病新規患者数は平成 18 年では 7 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、近年は鑑別診断のために行政検査を利用する傾向がみられる。

今後の課題として、行政検査の各医療機関へのさらなる周知徹底、検査依頼の簡素化、検体送付の迅速化、検査結果の迅速通知、臨床症状を把握したうえでの検査の指導、皮膚スメア検査の指導、知覚検査の指導、治療効果判定への検査利用、検査結果を基にしたコンサルテーション、追跡検査などがあり、患者・主治医に一層有益

な検査のあり方が求められている。

平成 18 年度（2006 年度）行政検査実績

年度	2006
年度	平成18
登録検査番号	35
総検査件数	62
病理学的検査件数	18
血清抗体価検査件数	12
PCR検査件数	32
薬剤耐性遺伝子検査件数	(10)
実症例数	29

らい菌の供給（松岡正典・天内 肇）

平成 18 年 4 月より同 19 年 3 月までの間において、のべ 20 回、63 匹、6 施設（国内 4、国外 2)、13 名（国内 11、国外 2）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。

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

病原微生物部では、らい菌・非病原性抗酸菌・結核菌に関し、発症機構・病態生理・診断・治療・予防に関する研究を行っている。

ハンセン病に関する研究では、らい菌の特性に関する生化学的解析を行い、従来らい菌には存在しないと考えられていた Trehalose di-mycolate (TDM)が、らい菌にも存在することが初めて証明された。さらに、Trehalose mono-mycolate (TMM)の組成も、BCG 菌の TMM 組成とは大きく異なっていることが明らかとなった。一般に、らい菌は病原性も抗原性も弱く、種々の免疫反応を容易に惹起し得ない欠点を有しているが、TMM・TDM の組成の研究から、らい菌の有する重要な一面が明らかになるものと期待される。第二の取り組みは、らい菌細胞膜に主に存在する膜タンパク Major Membrane Protein (MMP)-II を利用した血清診断法の開発である。MMP-II は、らい菌の抗原性を規定する主要抗原の一つとして当部で同定したタンパクであり、近年ワクチン開発に用いてきた分子である。MMP-II の高免疫原性を利用して、日本人ハンセン病患者の血清中の抗 MMP-II 抗体価を測定したところ、多菌型および少菌型ハンセン病患者の両者が陽性を示し、MMP-II は感度・特異度ともに優れた血清診断用抗原であることが判明した。MMP-II を用いた血清診断法の有用性を確認するため、現在国際共同研究を通じて、ミャンマー・ベトナムなどハンセン病濃厚流行国との共同研究を行っている。

ハンセン病に対するワクチン開発研究においても、一定の成果が得られた。上述の MMP-II を分泌するリコンビナント BCG（BCG-SM）の有用性を検討した。従来の BCG がナイーブ CD8 陽性 T 細胞を活性化し得ないのに対し、BCG-SM はこの T 細胞をクロスプライミング機構を通じて MMP-II 特異的に強く活性化し、インターフェロンガンマーを産生誘導した。さらに、BCG-SM をマウス皮内に接種すると、MMP-II に強くかつ迅速に反応するメモリーT 細胞が産生された。したがって、BCG の持つ欠点が明らかに凌駕されたことになり、BCG-SM のワクチンとしての有用性の更なる検討が待たれる。

ハンセン病の免疫療法の開発に関しても種々の取り組みを行っているが、その中で、らい菌とマクロファージの相互作用について検討を加えた。マクロファージの誘導は従来 M-CSF を用いて行うが、今回 GM-CSF を用いて作製したところ、CD4 陽性 T 細胞を活性化する能力を勝ち取り、さらに免疫抑制性サイトカイン IL-10 の産生を抑制することが明らかになった。ハンセン病においては、らい菌はマクロファージ内に寄生性感染をし、長く細胞内に宿りハンセン病発症をもたらす。らい菌感染マクロファージにおいても生体防御反応が誘導され、らい菌の生体外排除を誘導し得ること、すなわちハンセン病に対する免疫療法の開発を考える上で有用な知見が得られた。

非結核性抗酸菌の研究では、*M. avium* complex (MAC) の Glycopeptidolipid (GPL)の糖鎖の生合成経路を解明した。GPL は、非病原性抗酸菌 *M. smegmatis* にも存在すると同時に、MAC の血清型を規定する分子である。*M. smegmatis* の GPL にどのような遺伝子が作用すると MAC の有する GPL が生合成されるかが初めて明らかになった。本研究により、MAC の病原性因子の一つである GPL の作用機序ならびに免疫応答誘導機構が明らかになるものと期待される。

結核菌については、昨年度新たに着任した第四室長を中心としたアジュバント活性を有するワクチンの開発が着手された。

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 8 型 Glycopeptidolipid (GPL) の生合成解析

8 型 GPL を持つ *Mycobacterium avium* complex は、AIDS 患者から頻繁に分離される非結核性抗酸菌の一つであり、8 型 GPL 自身が菌体成分として病原性への関与が示唆されている。本菌株のゲノム上から、予測される生合成遺伝子領域をクローニングし、*M. smegmatis* において発現を行い各遺伝子の機能を解析した。その結果、8 型 GPL に特徴的なグルコース残基の形成に関与する生合成遺伝子を同定した。

[宮本友司、向井　徹、前田百美、中　崇･矢野郁也 (BCG 中央研究所)、牧野正彦]

2． らい菌 Thai53 株ゲノム情報から検索した SNPs 解析

らい菌の全ゲノムシークエンスはTN株について2001年に報告されたが、当センター及び日本国内のらい菌研究のために維持、使用されているらい菌は Thai53 株である。これまでに Thai53 株ゲノムのショットガンライブラリーを作成し、部分的にシークエンスを決定してきた。これまでに決定した Thai53 株ゲノムの塩基配列を TN 株のものと比較し Thai53 株に特徴的な情報を検索している。現在までに報告されていない新規の SNPs 候補を十数カ所発見したので保存している臨床検体について解析を行っている。

［甲斐雅規、中田 登、松岡正典（生体防御部）、椎名 隆・猪子英俊（東海大学）、牧野正彦］

3． らい菌2成分情報伝達系の解析

らい菌の持つ4つの2成分情報伝達系のうち、SenX3-RegX3 を解析し、その第2成分である RegX3 が機能的に不完全であることが判明した。第1成分 SenX3 のプロモーター機能は RegX3 の機能不全にもかかわらず、結核菌 SenX3 と同等に見られることを lacZ を用いたプロモーター活性測定から明らかとなった。さらにゲルシフトアッセイで、RegX3 がリン酸化の有無にかかわらずプロモーター領域に結合することがわかった。*M. smegmatis* を用いた遺伝子破壊株を解析するとともに、最近報告されたリン酸化の有無による発現制御も解析中である。

[甲斐雅規、中田 登、牧野正彦]

4． らい菌由来糖脂質の解析

結核菌の菌体成分の1種である糖脂質、Trehalose Dimycolate (TDM)が病原性因子であるとともに、各種生物活性を示すことが知られている。らい菌ではこれまで TDM の存在の証明はされていなかったが、らい菌由来糖脂質を高性能の質量分析装置（MALDI-TOF Mass）を用い調べたところ、結核菌および BCG 菌の糖脂質、TDM 及び Trehalose Monomycolate (TMM)と同等のものを同定できた。これら糖脂質はらい菌からの収量が著しく悪いこと、BCG 菌コンノート株がらい菌と同じミコール酸のサブクラスを持つことから、らい菌 TDM, TMM 類似物質として BCG 菌コンノート株由来の TMM, TDM を抽出し血清反応性を調べたところハンセン病患者血清が反応することがわかった。

［甲斐雅規、藤田由希子（BCG 中央研究所）、前田百美、中田 登、和泉眞藏（インドネシア・アイルラング大学）、矢野郁也（BCG 中央研究所）、牧野正彦］

5． *Mycobacterium smegmatis* の *katG* 遺伝子発現

katG 遺伝子は、カタラーゼ-パーオキシダーゼをコードし、結核菌ビルレンス因子の一つである。*M. smegmatis* は2つの異なる *katG* 遺伝子（*katGI*、*katGII*）を持つが、これらの機能分担を明らかにするため各増殖期での発現を比較した。その結果、*katGI* の mRNA は全ての増殖期で一定の発現量を示したが、定常期では酵素活性の低下が見られ分解が示唆された。*katGII* は定常期にのみ mRNA、酵素活性とも強い発現が見られ、2 種の *katG* 間で巧みな発現の切替が行われていることが示された。

[中田登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦]

6． *Mycobacterium intracellulare* 血清型7の GPL 合成遺伝子領域の解析

Mycobacterium avium complex(MAC)は *M. avium* と *M. intracellulare* から成るが、菌体が持つ糖脂質 GPL の糖鎖構造により現在 31 種の血清型に分類されており、GPL 糖鎖構造の相違は MAC のビルレンスに影響を与えることが疑われている。そこで *M. intracellulare* 血清型7の GPL 合成に関与する遺伝子領域19.7kbの塩基配列を決定し、存在する open reading frame の機能を推定した。

[中田登、藤原永年（大阪市立大）、前田伸司（結核研究所）]

Ⅱ．生体防御機構とワクチン開発に関する研究

1． 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、1個体において7ヶ月後よりＰＧＬ抗体価±を示した。

[向井 徹、松岡正典(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]

2． 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用いて、らい菌刺激によるサイトカイン産性を検討した。CD40L 存在下ではシュワン細胞から産生される IL-8 が増加した。さらに数種類のサイトカイン下で IL-8 産生能に対する影響を調べたところ、IL-1 のみが、シュワン細胞の IL-8 誘導能を有していた。これらのことから、IL-8 及び IL-1 はらい菌感染後に神経障害に関与していると考えられた。

[前田百美、寺尾恵治(筑波医学実験用霊長類センター)、牧野正彦]

3． ハンセン病におけるマクロファージのサイトカイン産生調節機構

マウスマクロファージはらい菌刺激により TNF や IL-10、IL-1αを産生した。IFNγにより TNF 産生は増強され IL-10 産生は著明に抑制された。ヒト単球はらい菌刺激による TNF やIL-10産生反応が弱かったが、単球をM-CSF存在下で培養して得たマクロファージはらい菌刺激によりTNFやIL-10、PGE2 を産生し、PGE2 や IL-10 産生は特に著明であった。そして IFNγは TNF 産生を増強し IL-10 産生を抑制した。以上、Th1 型サイトカインの IFNγが Th2 型サイトカインである IL-10 を抑制する一方、マクロファージ活性化等に関与する TNF 産生を増強することが示され、ハンセン病病巣におけるサイトカイン産生調節機構の一端が明らかとなった。

[福富康夫、前田百美、牧野正彦]

4． 宿主内におけるらい菌の殺傷および菌増殖機構に関する研究

ヒト末梢血単球由来マクロファージに in vitro にてらい菌を感染させて培養を行い、らい菌を回収して生存率を調べた。35℃で培養したところ 37℃と比べて著明に細胞内らい菌の生存率が高くなった。また、単球培養において GM-CSF 添加により多くの分化したマクロファージが確実に得られ、らい菌感染実験に適した条件を得ることができた。さらにIL-10を添加するとマウスマクロファージの場合と同様にらい菌の代謝活性が未添加群と比べ高く維持され生存率が高まった。さらに IFNγ存在下で培養したヒト単球由来マクロファージに抗らい菌活性が誘導されることが判明した。

[福富康夫、前田百美、松岡正典(生体防御部)、牧野正彦]

5． らい菌由来リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

らい菌由来 LpK の 13 アミノ酸からなる合成リポペプチドlipoK と樹状細胞、T 細胞との相互作用を検討した。 らい菌存在下で LipoK をパルスした樹状細胞は、ナイーブ T 細胞を刺激し、有意に IFN-γを産生した。免疫細胞である CD8+ T 細胞は感染細胞や腫瘍細胞を抗原特異的に傷害することが知られている。lipoKは樹状細胞上のTLR2を認識し、パーフォリン産生 CD8+ T 細胞数を増強することが明らかとなった。従って、lipoK は、免疫療法に活用し得る重要な分子であることが示唆された。

[前田百美、田村敏生、 福富康夫、牧野正彦]

6． 効率的な抗原提示を行うＢＣＧの開発

ＢＣＧを宿主とした、ハンセン病ワクチン開発のため、Urease C 遺伝子破壊ＢＣＧ株を作製した。Ureasre は、尿素を分解しアンモニアを産生させ、菌体周囲の環境を塩基性に傾ける。そのため酸性酵素の効果を抑制し、菌体破壊を回避する機構が考えられている。本酵素の破壊株は、酸性酵素により分解され、親株と比較し、より強い抗原提示誘導されることが期待された。

[向井 徹、宮本友司、牧野正彦]

7． Major Membrane Protein-Ⅱを用いたハンセン病予防ワクチンの開発

昨年らい菌由来 Major Membrane Protein-Ⅱ(MMP-Ⅱ)を分泌する BCG 株(BCG-SM)を作製した。今回は BCG-SM 及びベクターコンロール BCG をマウス(C57BL/6J)に皮下接種し、らい菌の増殖抑制と抗原特異的な IFN-γ産生について検討した。その結果 BCG-SM はコントロール BCG より優れた効果をもたらすことが示唆された。BCG-SM はハンセン病ワクチンとして期待される。

[前田百美、田村敏生、松岡正典(生体防御部)、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． 簡易･迅速らい菌遺伝子検出法の開発

らい菌遺伝子 RLEP を標的とした簡易遺伝子検出法である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。インドネシア国由来の鼻腔拭い液を用い、ＰＣＲ法により遺伝子検出の比較検討を行った。その結果、ＦＴＡclassic カードより、ＦＴＡ elute カードは、より安定した検出率を示した。

[向井 徹、松岡正典(生体防御部)、宮本友司、和泉眞藏(アイルランガ大学)、牧野正彦]

2． 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を用いた ELISA 法を報告した。今回、2 つの新たな、らい菌抗原である ML0405 及び ML2331 を用いて ELISA 法で患者中の抗体陽性率を検討した。患者血清中(n=30)の抗 ML0405 抗体陽性率は、多菌型ハンセン病患者では 90%、少菌型ハンセン病患者では 70%を示した。抗 ML2331 抗体の陽性率は多菌型ハンセン病患者では 96.7%、少菌型ハンセン病患者では 26.7%。多菌型患者では特に高い陽性率を示した。

[前田百美、Malcolm S. Duthrie ･Wakako Goto (IDRI, Seattle)、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 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)のモルモットにおける結核菌噴霧感染後の結核菌防御能を、肺、肝、脾、胸部リンパ節の還元培養成績から検討した。rBCG(pMV261-SM)を 10^6cfu/匹に

接種した場合には、PBS 群に比べて各臓器の還元培養の菌数は低く、明らかに結核菌防御効果が見られた。しかし、結核菌防御能は、BCG-Tokyo 株が最もよく rBCG(pMV261-SM)は若干劣っている程度であった。このことは、結核とハンセン病の多目的ワクチンとして利用できる可能性が示唆された。
[山崎利雄、宮本友司、牧野正彦]

4． 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

ハンセン病における抗らい菌薬であるクロファジミン(B663ともいう)にはマクロファージに対する細胞死誘導活性が存在した。健常人末梢血単球由来マクロファージやヒトマクロファージ細胞株 THP-1 をクロファジミン存在下にて培養したところ、顕微鏡下で 6 時間後には細胞死が観察された。その過程で細胞質の縮小化や核の縮小化・断片化が認められた。また、ミトコンドリア代謝酵素活性測定による生細胞定量法おいても細胞死が確認された。annexinV 染色陽性細胞が現れ、ヌクレオソーム単位の大きさでの DNA 断片化が観察されたことから、この細胞死はアポトーシスであることが判明し、アポトーシスに特徴的な caspase の活性化もみられた。
[福富康夫、前田百美、牧野正彦]

Ⅳ. 薬剤耐性らい菌に関する研究

らい菌の薬剤耐性菌と感受性菌の混合感染に関する研究

ハンセン病治療薬、ダプソンの耐性がらい菌の葉酸合成酵素の 53 位及び 55 位のアミノ酸変異と関連することが知られており、耐性菌検出の指標となっている。しかし臨床分離株ではしばしば変異箇所周辺領域の塩基配列を決定するのが困難であることがしばしばあり、混合感染あるいは耐性化菌と感受性菌の混在が疑われた。そこで、種々の臨床検体から変異領域をＰＣＲ増幅しダイレクトで塩基配列を決定するとともにクローニングして多数のクローンの塩基配列を決定し比較したところ、耐性菌と感受性菌が混在していると考えられる検体を発見した。
［甲斐雅規、中田 登、松原久美子、牧野正彦］

Ⅴ. 結核菌と非結核性抗酸菌に関する研究

1． 多剤耐性抗酸菌感染症の治療法の確立の基礎研究

結核菌の排除・封じ込めに重要な役割を果たしているマクロファージの活性化は、$CD4^+$ T 細胞が産生する IFN-γ、TNF-αや、CD40 リガンド-CD40 を介した $CD4^+$ T 細胞-マクロファージ相互作用によって調節されていると考えられている。そこで、マクロファージの活性化における T 細胞-マクロファージ相互作用の役割を検討した結果、BCG 感染後のマクロファージによる TNF-α産生には $CD4^+$ T 細胞との相互作用は必須ではないこと、また iNOS 発現には T 細胞に依存性の経路と非依存性の経路が存在することを明らかにした。
[田村 敏生、牧野 正彦]

2． 新規結核ワクチン開発のための基礎研究

結核に対する効果的なワクチンを開発するためには、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、結核菌分泌蛋白由来のペプチド(P25)が選択的に Th1 免疫応答を惹起すること、P25 による Th1 誘導にはこれまで知られている T-bet 依存性経路の他に非依存性の経路が存在することを見出した。また、P25 が誘導する Th1 免疫反応環境が他の免疫反応に影響を与えるか検討した結果、P25 は共免疫した抗原のクロスプレゼンテーションを増強し、共免疫抗原特異的 CTL 生成を増強することを明らかにした。
[田村 敏生、高津 聖志(東京大学・医科学研究所)]

3． BCG の結核菌防御能の持続性について

あらかじめ BCG 0.5mg または PBS を下腹部皮下に注射後、5 年間または 1 年半飼育した（それぞれ老年期または壮年期）モルモット及び新たに購入した幼年期モルモットを対照群として用いた。BCG あるいは PBS を接種（幼年期モルモットでは初回接種）6 週間後、結核菌 H37Rv 株を噴霧感染し、5 週後に解剖した。解剖時の肉眼所見では、壮年期群は、BCG の再接種の有無に関係なく結核菌抑制効果が見られた。また、老年期群も BCG 再接種群で効果が認められた。還元培養でも、この傾向は変わらず、老年期に BCG を再接種した場合に幼年期と同程度の結核菌の抑制傾向が見られた。このことは、老年期モルモットであっても、BCG の免疫効果があることを示唆している。
[山崎利雄、宮本友司、相澤志保子・服部真一朗（エイズ研究センター）、山本三郎（遺伝子・疾患研究所）]

4． 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

昨年に引き続き、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 感受性試験法の検討を、臨床分離菌 75 株を用いて行った。ATP 法と参照法との一致率は、液体テスト法 93.3%、寒天比率法 82.2%、ピラジナミダーゼ試験 93.3%であった。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用であった。
[山崎利雄、山本三郎（遺伝子・疾患研究所）、岡沢 豊（極東製薬工業）]

5． ATP 測定による BCG 生菌数測定法の検討

BCG ワクチンのアンプル中の生菌数は、通常 1%小川培地に希釈菌液を接種して 3 週目と 4 週目に肉眼的にコロニ

ー数を数える。この方法は、煩雑であり時間がかかる。そこで、アンプル中の生菌数をATP測定法にて検討した。7H9 broth希釈系列を用いた場合、BCGの濃度に依存してRLU測定値は減少し、同一ロットであっても、RLU測定値は異なり、その大小は固形培地で測定した生菌数に依存していた。また、BCG同一ロットのアンプルを各3本ずつ切って各3測定を行い、ATP法の再現性も確認した。希釈係数とRLU値によりアンプル中のおよその生菌数を知ることができるATP法は、アンプル切断後、およそ1時間で終了する迅速簡単な方法である。

[山崎利雄、山本三郎（遺伝子･疾患研究所）]

6．入浴施設の浴槽水より分離された抗酸菌の分離状況

循環式浴槽における浴用水の浄化･消毒方法の最適化を検討する上に、浴槽水中にいかなる抗酸菌が存在するかの調査を行った。その結果55検体中、2検体から抗酸菌5株が分離された。分離菌は、*Mycobacterium avium* 4株、*M. fortuitum* 1株と同定された。また、ろ過槽等のろ過剤からは、*M. gordonae* 1株、*M. avium* 4株、*M. goodii* 9株が分離された。結核菌(*M. tuberculosis*)は、検出されなかった。

[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）]

国際協力関係業務

Ⅰ．ベトナム国との国際共同研究

当センターでハンセン病患者血清と反応するらい菌膜タンパクとして同定、精製した、Major Membrane Protein II (MMP-II)を利用したハンセン病の新しい血清診断法の評価をベトナム国中部のクイホーハンセン病病院において行った。血清約1500サンプルを用いて行った結果、感度･特異性ともに良好に患者血清と反応する成績を示したので、継続して本法の評価を行うとともに特に患者の治療経過での変動に注目して本法を用いたモニターを行っている。さらにPCR法を用いたDNA診断の技術供与の継続とその技術を活かした共同研究としてベトナム国中部地域における薬剤耐性らい菌の発生状況を調査している。

［甲斐雅規、福富康夫、宮本友司、前田百美、Nguyen Phuc Nhu Ha・Nguyen Thangh Tan(Quyhoa hospital, Vietnam)、牧野正彦］

Ⅱ．JICA研修

平成18年度JICA研修として、4名の研修生に対し、のべ4人の研究員が2ヶ月間マンツーマンで指導に当たった。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

１）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.

２）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.

３）Makino M, Maeda Y, Mukai T, and Kaufmann SHE.: Impaired maturation and function of dendritic cells by mycobacteria through IL-1β. Eur. J. Immunol., 36:1443-1452, 2006.

４）Suzuki K, Nakata N, Bang PD, Ishii N, and Makino M.: High-level expression of pseudogenes in *Mycobacterium leprae*. FEMS Microbiol. Lett., 259:208-214, 2006.

５）Suzuki K, Takeshita F, Nakata N, Ishii N, and Makino M.: Localization of CORO1A in the macrophages containing *Mycobacterium leprae*. Acta Histochemica et Cytochemica, 39:107-112, 2006.

６）Makino M, Maeda Y, and Inagaki K.: Immunostimulatory activity of recombinant *Mycobacterium bovis* BCG that secretes Major Membrane Protein II of *Mycobacterium leprae*. Infect. Immunity, 74:6264-6271, 2006.

７）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.

８）Maeda Y.: Diagnosis of leprosy: serological aspects. Jpn. J. Leprosy, 75:285-289, 2006.

９）Fujiwara N, Nakata N, Maeda S, Naka T, Doe M, Yano I, and Kobayashi K.: Structural characterization of a specific glycopeptidolipid containing a novel N-acyl-deoxy sugar from *Mycobacterium intracellulare* serotype 7 and genetic analysis of its glycosylation pathway. J. Bacteriol. 189: 1099-1108, 2007.

2. 和文発表

１）牧野正彦：生体防御機構. 牧野正直・長尾栄治・畑野研太郎編,総説現代ハンセン病医学,東海大学出版会, 92-104, 2006.

２）甲斐雅規：ハンセン病における血清学. 牧野正直・長尾栄治・畑野研太郎編, 総説現代ハンセン病医学, 東海大学出版会, 119-134, 2007.

３）向井　徹：迅速・簡易遺伝子診断法の開発. Jpn. J. Leprosy, 75：265-269, 2006.

４）山崎利雄, 儀同政一, 松岡正典：生物発光法による抗らい菌活性測定法の開発、日本ハンセン病学会誌 75：227-237, 2006.

５）山崎利雄：佐々木次雄編著, 図説呼吸器系細菌感染症疫学・診断・治療, 第 9 章　結核菌, 140-176, 株式会社じほう, 2006.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

１）Maeda Y, Kai M, and Makino, M.: LipoK activates *Mycobacterium leprae* infected macrophages and dendritic cells. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan, 18-23 June, 2006.

２）Kiyoshi Takatsu, Haruyuki Ariga, Yoko Shimohakamada, Makiyo Nakada, Takeshi Tokunaga, Takeshi Kikuchi, Ai Kariyone and Toshiki Tamura : Role of T-cell receptor signal and T-bet in the induction of Th1 differentiation and cross-priming of antigen. RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2006, Yokohama, Japan, June 2006.

３）Mukai T, Macdonald M, Ranjit C, Sapkota BR, Miyamoto Y, Matsuoka M, and Makino M.: Development of rapid and simple diagnostic tool for leprosy. U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 41st Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.

４）Makino M, Maeda Y, Inagaki K, and Mukai T.: Immunostimulatory activity of recombinant *M. bovis* BCG expressing the dominant antigen of *Mycobacterium leprae*. U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 41st Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.

５）Fukutomi Y, Maeda Y, and Makino M.: Clofazimine-induced cell dealth in macrophages. U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 41st Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.

６）Toshiki Tamura, Ai Kariyone, Yoko Shimohakamada, Takeshi Tokunaga and Kiyoshi Takatsu：Enhancement of cross-priming activity of antigen-presenting cells by Peptide-25 of Ag85B. 41st US-JAPAN Conference on Tuberculosis and Leprosy, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.

2. 国内学会

１)山崎利雄:入浴施設の浴槽水における抗酸菌の検出. 第 81 回日本結核病学会総会、仙台、2006 年 4 月.

２）山崎利雄、山本三郎、ATP 測定による BCG 生菌数測定法の検討、第 76 回実験結核研究会総会、仙台、2006 年 4 月.

３）山崎利雄：東日本地区の温泉浴槽水からの抗酸菌の分離状況. 第 35 回結核･非定型抗酸菌治療研究会､東京、2006 年 6 月.

４）山崎利雄：結核の現状について. 衛生微生物協議会第 27 回研究会、札幌、2006 年 6 月.

５）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と核の形態変化. 第 79 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006 年 5 月.

６）甲斐雅規、Nguyen Phuc Nhu Ha、松岡正典、牧野正彦：リアルタイム PCR 法を利用した耐性変異の多剤同時検出. 第 79 回日本ハンセン病学会総会･学術大会､高松、2006 年 5 月.

７）中田　登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦：*Mycobacterium smegmatis* を用いたらい菌 *folP* 遺伝子変異とダプソン感受性に関する解析. 第 79 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006 年 5 月.

８）牧野正彦：高免疫原性分子の同定と予防法への応用（シンポジウム;ハンセン病の診断と予防:最近の進歩). 第 79 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006 年 5 月.

９）向井　徹：迅速・簡易遺伝子診断法の開発（シンポジウム；ハンセン病の診断と予防：最近の進歩). 第 79 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006 年 5 月.

１０）福富康夫、牧野正彦：らい菌感染マクロファージの in vitro 培養. 第 36 回日本免疫学会総会･学術集会、大阪、2006 年 12 月.

１１）刈米　アイ、田村　敏生、高津　聖志：Ag85B 由来 Peptide-25 によるクロスプライミング増強効果の解析. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2006

年 12 月.

１２）Ayano Yahagi, Masayuki Umemura, Toshiki Tamura, Dilala Mst. Begum, Satoru Hamada, Ai Kariyone, Kiyoshi Takatsu, Goro Matsuzaki：Delayed induction of *Mycobacterium tuberculosis*(Mtb)-specific Th1 immune response in the lung of Mtb-infected TCR-transgenic mice. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2006 年 12 月.

１３）山本　久美子、田村　敏生、高津　聖志、菊池　雄士：結核菌由来 Peptide-25 を用いたアレルギー反応制御機構の解析. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2006 年 12 月.

１４）福富康夫、前田百美、牧野正彦：ハンセン病におけるマクロファージのサイトカイン産生調節機構. 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月.

１５）前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦：らい菌由来リポ蛋白の抗らい菌生体防御反応に及ぼす影響. 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月.

１６）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：抗酸菌糖脂質生合成における fucose 転移酵素遺伝子の解析. 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月.

１７）藤原永年、中田　登、前田伸司、中崇、矢野郁也、小林和夫：*Mycobacterium intracellulare* serotype 16 由来特異糖ペプチド脂質の糖鎖構造と合成遺伝子の解析. 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月.

１８）深沢　豊、内山良介、角泰人、原英樹、野村卓正、河村伊久雄、山崎利雄、光山正雄：ストレプトマイシン要求性結核菌18ｂ株のストレプトマイシン依存的 IFN-γ産生誘導（続報）、第80回日本細菌学会総会、大阪、2007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順調に減少し、2006 年の世界の新規患者数は約 26 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。しかし近年 OFLX に対する耐性菌も出現し、強力なニューキノロンも必要になってきた。モキシフロキサシン(MFLX)はニューキノロンの中では SPFX と同等の優れた抗らい菌活性を示した。

耐性菌の早期・簡便な検査も重要である。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、ミャンマー、インドネシア、フィリピンの 3 ヶ国で検討したところ、新患 252 例では 2%の RFP 耐性、3%の DDS 耐性が検出された。再燃例では 8%の RFP 耐性、15%の DDS 耐性例が検出され、再燃例では高い耐性菌の割合が示された。2 例の 2 剤耐性菌も検出された。キノロンに対する耐性菌は検出されなかった。

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、heat shock 蛋白、神経栄養因子、その他のサイトカインなどが後根神経節細胞の変性を引き起こし、知覚麻痺の進行に関与する可能性が示唆された。

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、2006 年には日本人は 1 名、在日外国人は 6 名であった。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、皮膚科医への講義・実習も行った。

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、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、病態解明が進んだ。また、培地上の菌の色調と毒素の産生能との相関も判明

した。

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(３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。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. 抗ハンセン病薬に関する研究

1. garenoxacin の抗らい菌活性

キノロン骨格の 6 位にフッ素基がなく、既存ニューキノロンと異なった構造式を持ち毒性を軽減した garenoxacin(GRNX)の抗らい菌活性を検討した。a) Buddemeyer 法:GRNX の抗らい菌活性は､RFP＞STFX＞MFLX＞SPFX＞GFLX＞LVFX,GRNX＞OFLX の順で､LVFX と同程度であった。b) ヌードマウス足蹠法：GRNX は、60mg/kg(週 5 日毎日経口投与)でヌードマウス足蹠内のらい菌の増殖を完全抑制し、LVFX と同等の抗らい菌活性を認めた。GRNX は小児から高齢者までのハンセン病患者に使用できる唯一のニューキノロン系薬として期待される。　［儀同政一］

2. OFLX 耐性らい菌に対する moxifloxacin の抗らい菌活性

キノロン骨格の 7 位にピロロピリジン基、8 位にメトキシ基を導入することで光毒性などの副作用を軽減した moxifloxacin(MFLX)の OFLX－耐性らい菌(Zensho-4 株)に対する抗らい菌活性を検討した。a)Buddemeyer 法:MFLX の抗らい菌活性は､WQ-3402＞STFX＞MFLX＞SPFX＞GFLX＞LVFX＞OFLX の順で、SPFX より強かった。b)ヌードマウス足蹠：MFLX は、40mg/kg(週 5 日毎日経口投与)でヌードマウス足蹠内の OFLX 耐性らい菌の増殖を完全抑制した。MFLX は OFLX との間に部分交差耐性を示したが、OFLX 耐性らい菌に対して最も強い *in vivo*-抗らい菌活性を示す SPFX と同等の優れた抗らい菌活性を認めた。　［儀同政一、松岡正典］

3. 薬剤耐性遺伝子変異の検索による東南アジア諸国における薬剤耐性菌の伝播状況の検討

主要ハンセン病治療薬である DDS, Rifampin (RIF) および Quinolone (QLN)に対する耐性獲得は *folP, rpoB, gyrA* によりコードされる蛋白質中の特定アミノ酸（Drug Resistant Determining Region DMDR）の変異によって惹起されることが明らかにされたことから、これら薬剤に対する耐性菌の割合をミャンマー、インドネシア、フィリピンより得た新患例 252、再燃例 53 のらい菌について検討した。新患例では 2%の RIF 耐性、3%の DDS 耐性が検出された。再燃例では 8%の RIF 耐性、15%の DDS 耐性例が検出され、再燃例では高い耐性菌の割合が示された。2 例の 2 剤耐性菌も検出された。QNL に対する耐性菌は検出されなかった。流行地における薬剤耐性菌の伝播に関する包括的な調査はほとんど行われていない。ハンセン病の主たる対策が化学療法によっていることに鑑み、より多くの症例を対象とし、継続的かつ正確なモニタリングが望まれる。

［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進めている。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、らい菌感染シュワン細胞に特異的に発現する 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、その他のサイトカインなどを見いだした。これらの因子が後根神経節細胞の変性を引き起こし、知覚麻痺の進行に関与する可能性が考えられる。

［遠藤真澄］

Ⅳ. ハンセン病の免疫応答に関する研究

１． らい菌ゲノム由来 RNA 発現の網羅的解析

らい菌ゲノム全域をカバーするタイリングアレイを作製し、らい菌に発現する遺伝子領域の同定を試みた。RNA として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． らい菌の細胞内寄生機構に関する研究

TLR2 と CORO1A という菌の生存にとって相反する作用を持つマクロファージに発現する因子間の相互作用に関して検討を行った。培養マクロファージにらい菌を感染させるか、TLR2 のリガンドである PGN で刺激すると CORO1A の発現量が経時的に減少した。CORO1A の存在は TLR2 に由来するシグナルを特異的に抑制したことから、両者は拮抗的に働いていることが判明した。したがって、これらの因子間の相互作用が、らい菌感染後の菌の生存と排除の決定に重要であると考えられた。

[鈴木幸一、武下文彦（横浜市大)、石井則久]

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)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 に強い作用があることなどを明らかにした。

[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 5 年間(2001-2005 年)の平均では年間約 11 名で、日本人は 3.4 名で、その 52.9%は 60 歳以上であり、沖縄県出身者は 52.9%を占めていた。一方在日外国人は 7.6 名で、ブラジル人は 57.9%を占め、男性の若者が多かった。なお、平成 18 年（2006 年）については、日本人 1 名、在日外国人 6 名（ブラジル人 2 名、インドネシア人 2 名、ネパール人 1 名、スリランカ人 1 名）であった。平均年齢は 36.0 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講習会開催

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、さらに皮膚科医 57 名に対して講習及び皮膚スメア検査の実習を行った。

［石井則久］

３． 開発途上国で有効なハンセン病の診断、治療、障害予防に関する研究

ミャンマー連邦および他の途上国におけるハンセン病の早期診断、確実な治療、障害予防について、現地の研究者と研究した。その中で、ハンセン病医療プログラムを一般医療政策へ統合し、国民へのハンセン病の啓発が今後の課題であった。偏見・差別については各国ごとの歴史的背景を考慮して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

ブルーリ潰瘍の治療薬等を開発するため、*M. ulcerans* のマウス実験感染モデル系を確立し、rifalazil の有効性を明らかにした。また同モデル系の病変について形態･生理学的解析を行い、*M. ulcerans* と毒素 mycolactone による末梢神経傷害がブルーリ潰瘍に特徴的な無痛の症状の原因である可能性を示した。*M. ulcerans* に近縁の *M. ulcerans* subsp. *shinshuense* 株より白色の変異株を分離し、mycolactone 産生遺伝子の欠失で、病原性も失われることを明らかにした。

[中永和枝､石井則久､岩本朋忠(神戸市環境保健研究所)、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, M. genavense, M. mageritense* および *M. heckeshornense* の分離・同定に成功した。さらに、これまでに報告されたことのない新種抗酸菌を見出し、現在例数を集めてそ

れらの病原性と性状等について検討中である。
[中永和枝、石井則久、岩本朋忠(神戸市環境保健研究所)、
後藤正道(鹿児島大)、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

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

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 研修生に対し４月から 12 月まで研修を行っている。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

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) Seishima M, Fujisawa T, Yamanaka S, Ishii N, Mori S, Ohashi K, Suzutani T: BCG granuloma appearing more than 50 years after vaccination. Arch Dermatol 142: 249-250, 2006.

2) Goto M, Nakanaga K, Aung T, Hamada T, Yamada N, Nomoto M, Kitajima S, Ishii N, Yonezawa S, Saito H: Nerve damage in *Mycobacterium ulcerans*-infected mice. Probable cause of painlessness in Buruli ulcer. Am J Pathol 168: 805-811, 2006.

3) Saha S, Takeshita F, Sasaki S, Matsuda T, Tanaka T, Tozuka M, Takase K, Matsumoto T, Okuda K, Ishii N, Yamaguchi K, Klinman DM, Xin K-Q, Okuda K: Multivalent DNA vaccine protects mice against pulmonary infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Vaccine 24: 6240-6249, 2006.

4) Sasaki S, Smith JM, Takase K, Okuda K, Ishii N, Takeshita F: Activator protein 1-mediated transcriptional regulation strategy sustains long-term expression of a xenogeneic gene product in vivo: an implication for gene therapy targeting congenital protein deficiencies. Int J Mol Med 18: 289-297, 2006.

5) Suzuki K, Nakata N, Bang PD, Ishii N, Makino M: High-level expression of pseudogenes in *Mycobacterium leprae*. FEMS Microbiol Lett 259: 208-214, 2006.

6) Matsuoka M, Lopez R, Budiawan T, Kyaw K, Chae G.-T: Genotypic analysis of *Mycobacterium leprae* isolates from Japan and other Asian countries reveals global transmission pattern of leprosy. FEMS microbiology Letter　261：150-154, 2006

7) Lopez-Roa RI, Fafutis-Morris M, Matsuoka M: Dapsone resistant *Mycobacterium leprae* detected by DNA sequence analysis from a relapsed Mexican leprosy patient. Revista Latinoamericana de Microbiología 48:256-259, 2006

8) Ishii KJ, Coban C, Kato K, Takahashi K, Torii Y, Takeshita F, Ludwig H, Sutter G, Suzuki K, Hemmi H, Sto S, Yamamoto M, Uematsu S, Kawai T, Takeuchi O, Akira S: A TLR-independent antiviral response induced by double-stranded B-DNA. Nat Immunol 7:40-48, 2006.

9) Suzuki K, Kohn LD: Differential regulation of apical and basal iodide transporters in the thyroid by thyroglobulin. J

Endocrinol 189:247-255, 2006.
10) Takeshita F, Tanaka T, Matsuda T, Tozuka M, Takase K, Saha S, Matsui K, Ishii KJ, Coban C, Akira S, Ishii N, Suzuki K, Klinman DM, Okuda K, Sasaki S: Toll-like receptor adaptor molecules enhance DNA-raised adaptive immune responses against influenza and tumors through activation of innate immunity. J Virol 80:6218-6224, 2006.
11) Suzuki K, Takeshita F, Nakata N, Ishii N, Makino M: Localization of CORO1A in the macrophages containing. *Mycobacterium leprae*. Acta Histochem Cytochem 39:107-112, 2006.

2．和文発表

1) 石井則久：ハンセン病．今日の治療指針 2006（山口徹、北原光夫、福井次矢総編集）,p868-869,医学書院（東京）,2006.
2) 石井則久、小茂田昌代、朝比奈明彦：疥癬に対するイベルメクチン皮膚疾患の最新医療（斎田俊明、飯塚　一編集主幹）, p46-49, 先端医療技術研究所（東京）,2006.
3) 石井則久：ハンセン病．皮膚科学（片山一朗、土田哲也、橋本　隆、古江増隆、渡辺晋一編）, p708-713, 文光堂（東京）,2006.
4) 石井則久:イベルメクチンの使用法．What's new in 皮膚科学 2006-2007(宮地良樹編), p94-95, メデイカルレビュー社（東京）,2006.
5) 小野友道、尾崎元昭、石井則久責任編集：ハンセン病アトラス p1-70, 金原出版（東京）,2006.
6)森　修一、石井則久：ハンセン病と医学Ⅰ.-隔離政策の提唱とその背景-．日本ハンセン病学会雑誌 75: 3-22,2006.
7) 鈴木幸一、森　修一、石井則久：世界のハンセン病の将来戦略．日本ハンセン病学会雑誌 75: 23-39, 2006.
8) 石井則久、森　修一、鈴木幸一：世界のハンセン病の現況．日本ハンセン病学会雑誌 75: 41-49,2006.
9) 石井則久:疥癬診療ガイドライン皮膚疾患最新の治療 2007-2008（瀧川雅浩、渡辺晋一編）, p6-9, 南江堂（東京）,2006.
10) 福沢正男、石井則久：Hansen 病-紅斑を伴う症例-．皮膚病診療 28: 163-166, 2006.
11) 石井則久、朝比奈昭彦：イベルメクチンによる疥癬の治療ガイドライン．臨床皮膚科 60(suppl): 108-112,2006.
12) 石井則久：ハンセン病と皮膚科医．皮膚科の臨床 48: 727-728, 2006.
13) 石井則久：ハンセン病の現状．MB Derma 114: 39-45, 2006.
14) 佐藤かすみ、佐藤則子、小関正倫、石井則久：ハンセン病回復者の爪変形について．横浜医学 57: 95-100, 2006.
15) 後藤正道、野上玲子、畑野研太郎、岡野美子、石井則久、儀同政一、石田　裕、尾崎元昭：ハンセン病治療指針（第 2 版）．日本ハンセン病学会雑誌 75: 191-226, 2006.
16) 石井則久、永岡　譲、森　修一、鈴木幸一：ハンセン病制圧後のハンセン病対策戦略．日本ハンセン病学会雑誌 75: 239-248, 2006.
17) 石井則久、中永和枝、松岡正典、鈴木幸一：らい菌の遺伝子診断の現状．日本ハンセン病学会雑誌 75: 261-264, 2006.
18) 石井則久、小坂眞紀：梅毒検査．皮膚科の臨床 48(suppl 46): 1367-1370, 2006.
19) 鈴木幸一、石井則久：抗酸菌検査．皮膚科の臨床 48(suppl 46): 1371-1375, 2006.
20) 石井則久、鈴木幸一、朝比奈昭彦：新たな結核検査：クオンテイフェロン®TB-2G．皮膚科の臨床 48(suppl 46): 1377-1380, 2006.
21) 石井則久：真菌検査．皮膚科の臨床 48(suppl 46): 1381-1384, 2006.
22) 石井則久：ハンセン病-患者を診たときの対応-．日本皮膚科学会雑誌 116: 1970-1972, 2006.
23) 石井則久：イベルメクチンによる疥癬治療の現況．日本皮膚科学会雑誌 116: 2178-2181, 2006.
24) 山崎利雄、儀同政一、松岡正典：生物発光による抗らい菌活性測定法の開発.日本ハンセン病学会雑誌 75: 227-237,2006
25) 鈴木定彦、松岡正典：DNA マイクロアレイを用いた *Mycobacterium leprae* の迅速薬剤感受性試験法.日本ハンセン病学会雑誌 75: 271-277,2006
26) 鈴木幸一、深田修司、吉田明雄.:Pendred 症候群.日本臨床、別冊、内分泌症候群 No.1,371-373,2006.

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1) Goto M, En J, Nakanaga K, Ishii N, Saito H, Small P: Nerve damage induced by *Mycobacterium ulcerans* - Role of mycolactone. Annual Meeting of the WHO Global Buruli Ulcer Initiative, Geneva, Switzerland, March, 2006.
2) Matsui K, Tsutsumi H, Hayashi M, Emoto N, Suzuki K, Shimonaka M: Comparison of the mitogenic effect of thyroglobulin extracted from thyroids of various species on FRTL-5 rat thyroid cells. 20th IUBMB International Congress

of Biochemistry and Molecular Biology. Kyoto. June, 2006.

3) Matsuoka M, Suzuki Y, Gelber R, Tan E, Kyaw K, Khin S A, Budiawan T: A simple method for detection drug resistant *Mycobacerium leprae* and its application in developing countries. 42th anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006

4) Mukai T, Macdonard M, Ranjit C, Sapkota BR, Miyamoto Y, Matsuoka M, Makino M: Development of rapid and simple diagnostic tool for leprosy. 42th anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006

5) Fujimura T, Sato M, Yogi Y, Matsuoka M, Masuzawa M, Katsuoka K: Epithelial cell entry activity of *Mycobacerium leprae* depends on specific sequence within mceA. 42th anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006

6) En J, Nakanaga K, Ishii N, Yonezawa S, Saito H, Small P, Hamada H, Goto M: Nerve damage induced by *Mycobacterium ulcerans* - Role of mycolactone. 42th anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006

7) Endoh M: Identification of new antigenic candidates in autoimmune neuropathies by serological proteome analysis. 7th Asia Pasific Symposium on Neurochemistry, Singapore, July 2006.

8) Yamazaki K, Suzuki K, Yamada E, Yamada T, Takeshita F, Seya T, Obara T, Takano K, Sato K: Suppression of iodide uptake and thyroid hormone synthesis with stimulation of type I interferon system by double-stranded RNA (dsRNA) in cultured human thyroid follicles. 77th Annual Meeting of the American Thyroid Association. Phenix, Arizona. October, 2006.

9) Matsuoka M: The Prevalence of drug resistance in Japan and some Asian countries. Symposium on rifampicin resistance. New Dehli, November, 2006.

2．国内学会

1）石井則久:疥癬．ICD制度協議会 第35回ICD講習会、金沢、2006年3月．

2）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．

3）岩本朋忠、中永和枝、石井則久、齋藤　肇：*Mycobacterium shinshuense* に関する分子遺伝学的研究．第81回日本結核病学会総会、仙台、2006年4月．

4）中永和枝、斎藤　肇、石井則久、岩本朋忠、後藤正道：*Mycobacterium ulcerans* の着色並びに非着色株のマイコラクトン産生能とマウスに対する病原性．第 81 回日本結核病学会総会、仙台、2006年4月．

5）斎藤　肇、岩本朋忠、中永和枝、秋山也寸史、松本英伸、後藤正道：わが国における *Mycobacterium genavense* およびに *Mycobacterium mageritense* によるヒト感染症第一例．第 81 回日本結核病学会総会、仙台、2006 年 4 月．

6）岩本朋忠、中永和枝、石井則久、齋藤　肇：*Mycobacterium shinshuense* の分子遺伝学的解析．第80回日本感染症学会総会、東京、2006年4月．

7）斎藤　肇、岩本朋忠、中永和枝、秋山也寸史、松本英伸、児玉朱実：わが国における初の *Mycobacterium genavense* 並びに *Mycobacterium mageritense* によるヒト感染症例．第 80 回日本感染症学会総会、東京、2006年4月．

8）中永和枝、齋藤　肇、石井則久、岩本朋忠：*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* の着色並びに非着色株のマイコラクトン産生能とマウスに対する病原性．第80回日本感染症学会総会、東京、2006年4月．

9）斎藤　肇、中永和枝、岩本朋忠：塗抹陽性・小川培養陰性非結核性抗酸菌による皮膚感染症並びにリンパ腺炎－主として分離菌の細菌学．第 38 回非定型抗酸菌症研究協議会、仙台、2006年4月．

10）石井則久:らい菌の遺伝子診断法の現状.シンポジウム：ハンセン病の診断と予防：最近の進歩．第79回日本ハンセン病学会総会、高松、2006年5月．

11）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：2005年のハンセン病新規患者発生状況．第79回日本ハンセン病学会総会、高松、2006年5月．

12）松岡正典、Rico Ivette Lopez Roa、Gue-Tae Chae、Kyaw Kyaw：らい菌の SNP 型別と地理的分布および疫学への応用．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006年5月．

13）藤村響男、山本芙希、狩野真帆、佐藤直哉、増澤真美子、与儀ヤス子、松岡正典、増澤幹男、勝岡憲生：AIDA法を用いたらい菌 mce1A 領域の組換え発現と active sequence の同定．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006年5月．

14）圓　純一郎、後藤正道、松岡正典、北島信一、浜田博文：らい性神経炎の動物モデルにおける末梢神経病変の定量的解析．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006 年 5 月．

15）甲斐雅規、Nguyen Phuc Nhu Ha、松岡正典、牧野正彦：リアルタイムＰＣＲ法を利用した耐性変異の多剤同時検出．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006 年 5 月．

16）和泉眞蔵、Teky Budiawan、 松岡正典：新しい Nested PCR 法を用いたらい菌感染の分子疫学．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006 年 5 月．

17）鈴木定彦、松岡正典：*M.lepra*e の迅速薬剤感受性試験法．第 79 回日本ハンセン病学会総会、シンポジウム、ハンセン病の診断と予防．高松、2006 年 5 月．

18）儀同政一：Moxifloxacin と garenoxacin の抗らい菌活性．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006 年 5 月．

19）斎藤　肇、中永和枝、岩本朋忠、石井則久：“*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*”に関する研究 その 1.培養学的・生化学的性状．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006 年 5 月．

20）中永和枝、斎藤　肇、石井則久、岩本朋忠、後藤正道、Pamela LC Small：“*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*”に関する研究 その 2.病原因子とマウスに対する病原性．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006 年 5 月．

21）岩本朋忠、中永和枝、斎藤　肇、石井則久、Pamela LC Small：“*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*”に関する研究 その 3.分子遺伝学．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006 年 5 月．

22）後藤正道、中永和枝、Thida Aung、北島信一、石井則久、斎藤　肇：*Mycobacterium ulcerans* 接種マウスにおける末梢神経障害．第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松、2006 年 5 月．

23）鈴木幸一、武下文彦、石井　健、石井則久：甲状腺細胞における自然免疫と獲得免疫の活性化と自己免疫発症との因果関係．第 79 回日本内分泌学会学術総会、神戸、2006 年 5 月．

24）石井則久：ハンセン病-患者を診たときの対応-.教育講演：ハンセン病．第 105 回日本皮膚科学会総会、京都、2006 年 6 月．

25）石井則久：イベルメクチンによる感染治療の現況．教育講演：新しい皮膚科検査法・治療法．第 105 回日本皮膚科学会総会、京都、2006 年 6 月．

26）西脇冬子、松本いづみ、松島佐都子、下中美香、岡田如弘、松本禎之、鷹栖晃昌、齋藤　肇、石井則久、戸田憲一：皮膚日和見感染症を発症し、脳脊髄炎で死亡、剖検を施行した突発性 CD4 陽性 T 細胞減少症．第 105 回日本皮膚科学会総会、京都、2006 年 6 月．

27）吉澤奈穂、大内健嗣、杉浦　丹、石井則久：らい性結節性紅斑を呈した LL 型ハンセン病 1 例．第 105 回日本皮膚科学会総会、京都、2006 年 6 月．

28）斎藤 肇、中永和枝、石井則久、鈴木幸一、谷川和也、岡部　勉、今田英明、児玉朱実、後藤正道：*M. shinshuense* による皮膚潰瘍の一例：病巣部よりの原因菌の遺伝子検出による同定．第 35 回結核・非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2006 年 6 月．

29）斎藤　肇、岩本朋忠、秋山也寸史、加藤宗弘、中村敦、佐藤滋樹、中永和枝、岸不盡彌、松本英伸：未だ記載を見ないと思われる一抗酸菌によるヒトの肺疾患の 2 例．第 35 回結核・非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2006 年 6 月．

30）鈴木幸一、中田　登、石井則久：らい菌ゲノム非翻訳領域由来ＲＮＡ発現と病原性との関連．特定領域研究「ゲノム」4 領域合同班会議、大阪、2006 年 9 月．

31）鈴木幸一：らい菌ゲノム非翻訳領域由来ＲＮＡ発現と病原性との関連．特定領域研究「ゲノム」領域横断微生物班会議、松島、2006 年 10 月．

32）吉田明雄、谷口晋一、大倉　毅、福井裕子、上條桂一、重政千秋、鈴木幸一：新しい甲状腺自己抗体：抗ペンドリン抗体．第 49 回日本甲状腺学会、高松、2006 年 11 月．

33）山崎和子、鈴木幸一、山田恵美子、武下文彦、瀬谷司、三橋知明、佐藤幹二、高野加寿恵、小原孝男：２本鎖 RNA はヒト甲状腺濾胞培養系において甲状腺機能を抑制し、Ｉ型インターフェロンを誘導する．第 49 回日本甲状腺学会、高松、2006 年 11 月．

34）鈴木幸一：ゲノム DNA が持つ新たな機能．第２回サイエンス・クロスロード、東京、2006 年 11 月．

35）斎藤　肇、岩本朋忠、秋山也寸史、加藤宗弘、中村敦、佐藤滋樹、田口　修、末安禎子、中永和枝：肺疾患患者より分離された新抗酸菌種．第 76 回日本感染症学会西日本地方会総会、岡山、2006 年 11 月．

36）斎藤　肇、沼岡嘉子、松浦求樹、岩本朋忠、中永和枝：肺炎症性肉芽腫病巣より分離された *Mycobacterium heckeshornense*　わが国における第一例．第 76 回日本感染症学会西日本地方会総会、岡山、2006 年 11 月．

37）中永和枝、斎藤　肇、石井則久、児玉朱実：病巣部の菌の遺伝子検査により診断しえた *M.shinshuense* 皮膚

潰瘍の 1 例. 第 76 回日本感染症学会西日本地方会総会、岡山、2006 年 11 月.

38) 斎藤　肇、中永和枝、岩本朋忠、児玉朱実、石井則久 : *Mycobacterium shinshuense* と *Mycobacterium ulcerans* の異同性. 第 76 回日本感染症学会西日本地方会総会、岡山、2006 年 11 月.

39) 川島　晃、谷川和也、三島眞代、Huhehasi Wu、武下文彦、石井　健、石井則久、鈴木幸一：二本鎖 DNA の自己免疫標的細胞への影響. 日本分子生物学会 2006 フォーラム、名古屋、2006 年 12 月.

40) 谷川和也、川島　晃、三島眞代、Huhehasi Wu、武下文彦、石井則久、鈴木幸一：非免疫細胞における自然免疫活性化.日本分子生物学会 2006 フォーラム、名古屋、2006 年 12 月.

41) 岩本朋忠、斎藤　肇、森田幸雄、中永和枝、長野　誠: *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare*-clusterX“MAIX”株の分子遺伝学的系統解析と血清型・生化学的性状との関連性.第 36 回結核･非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2006 年 12 月.

42) 中永和枝、斎藤　肇、岩本朋忠、岡部　勉、今田英明、児玉朱実、鈴木幸一、谷川和也、石井則久、長野　誠、後藤正道：*Mycobacterium shinshuense* による皮膚潰瘍の一例:病巣部よりの原因菌の遺伝子検出による同定(続報). 第 36 回結核･非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2006 年 12 月.

43) 斎藤　肇、中永和枝、岩本朋忠、沼岡嘉子、松浦求樹、松村博夫：肺炎症性肉芽腫病巣より分離された *Mycobacterium xenopi* 近縁菌 *Mycobacterium heckeshornense* の細菌学. 第 36 回結核･非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2006 年 12 月.