序

所長　宮村　達男

今年は研究所が１９４７年に国立予防衛生研究所（予研）として設立されて６０年、還暦を迎えた。そして感染症の変貌に対応すべく予研から国立感染症研究所（感染研）と名称を変更し大きくカーブがきられて１０年がたった。研究所の設立理念として感染症を制圧し、国民の保健医療の向上を図る予防医学の立場から感染症に関する研究を先導的、独創的かつ総合的に行い、科学的根拠に基づく国の保健医療行政に提言し、支援することにある。具体的には国立研究機関として1）感染症のレファレンス、サーベイランス業務、2）ナショナルコントロールラボとしての生物学的製剤等の品質管理業務という二つの看板を持つ。そしてもっとも大切なことはこれらCDC機能、FDA機能を果たすためには高いレベルの基礎研究が恒常的になされていることが必須条件である。感染研の研究者はそれぞれその属する学界において信頼され、畏敬される実績を積み重ねること、そして常に公務員研究者としての使命感と謙虚さを持つことが求められる。この研究理念、姿勢は研究所が設立されて以来一貫して変わるものではない。

創立６０周年を記念して「感染研６０年史」が広報委員会を中心に編纂され、主として感染研の研究活動の１０年の歩みが総括された。また記念シンポジウムは＜感染症との戦い：新知見に基づいた戦略構想＞と題し審良静男大阪大学微生物病研究所教授「病原体認識受容体とシグナル伝達」、笹川千尋東京大学医科学研究所教授「赤痢菌の感染と宿主応答」、野本明男東京大学大学院医学系研究科教授「ポリオウイルス感染と生体機能」について感染と宿主因子の関わりの講演を戴いた。後半には感染研の脇田部長が「肝炎ウイルス克服のための戦略と基礎研究」、荒川部長が「病原体の進化と薬剤耐性」について、変貌する病原体の講演をおこなった。それぞれ最新知見に基づいたスケールのおおきな格調の高い講演でありそのあと活発な討論が行われた。感染症研究機関として感染研が目指す方向が示されたと思う。

研究所の研究活動を示す指標の一つとしてpeer reviewのある欧文誌での発表数があるが、所全体としては年々着実に増加し、本年度は約５００編となった。各研究者が高い目標を持ちコンスタントに業績を積み重ねてゆけば、競争的研究資金の裏付けも得られる。また予研発足後から刊行されている英文誌Japanese Journal of Medical Science and Biologyは２０００年からJapanese Journal of Infectious Diseasesと名称変更、今年度で６０巻を刊行した。

このような定期英文学術誌を保持し巻を重ねることは、研究所としての大切な学術的基盤である。本年度のimpact factor は1．０７４であった。

感染症は大きく変貌し、且つその追求手段、手法も革新的に変化した。感染研のおこなう業務のなかには感染性を持った病原体を取り扱う必然性のあるものがある。改正された感染症法の施行（平成１９年6月）をうけ感染研では感染症法で定める感染症発生予防規程の内容を盛り込んだ病原体等安全管理規程を定めた。その後各種の実験室運営規則、事故対応要領や病原体の運搬要領を続々作成し、病原体の適切な管理のもと各種の業務をおこなっている。病原体を厳重に管理、封じ込めることと病原体の分離・解析を通し感染症を迅速に正確に診断し、対応するという本来の最も大切な使命とが乖離しないよう国の範たらねばならない。

また、研究を実施する際の研究資金管理体制（研究機関における公的研究費の管理・監査のガイドライン、研究活動の不正行為への対応に関する指針など）、研究倫理指針、利益相反の管理に関する体制、知的財産管理など研究所として遵守、推進すべき管理体制の整備を着々とすすめているが、一番大切なのは国研研究者としての矜持と自負で、健全な研究活動がいささかも萎縮することのないよう運用していきたい。

研究所が適切に活動するために周辺住民や関連組織との密接なコミュニケーションは必須である。戸山庁舎における安全連絡協議会は一年に2回、もう３３回、３４回を数えた。感染研で実験が安全に適切に行われている報告とともに、その時々の研究のトピックについて本年度は＜最近の寄生虫感染症について＞、＜最近の結核について＞それぞれ遠藤卓郎部長、小林和夫部長が説明した。村山庁舎でも武蔵村山市の協力を得て、感染研市民セミナーをもった。「くらしに役立つ病気の知識」をシリーズで開催し本年度は＜インフルエンザの予防について＞多屋馨子室長など6回行われた。ＢＳＬ３及び４の実験施設見学も実施した。我が国の一類感染症対策の要となる村山ＢＳＬ４施設については、いつ何時使用せねばならない事態がきても即対応出来る準備態勢は維持、整備している。

６つのナショナルセンターは独立法人化に向けての準備がすすめられている。感染研はその使命から考え国立研究所としての位置を堅持すべきであるが、しかし変貌した感染症に

機敏に対応しなければならない難問は山積している。また感染研が行う基礎研究は結果として感染症の診断、予防、治療に役立つよう翻訳され実用化されねばならない。国立研究所を堅持した上で、感染研がＣＤＣの機能、ＦＤＡの機能そしてＮＩＨの機能を持ち続けることについて再検討してゆきたい。感染研は生物製剤等の品質管理についてNational Control Laboratory: NCL）であるが, 現在までの感染研のNCLとしての活動は先日発布されたWHOのガイドラインと必ずしも一致していない。国際的なharmonizationが必要である。６０年の伝統にあぐらをかいて硬直した考えに拘泥しないことを肝に銘じて新しい暦のスタートにしたい。

感染研の多岐にわたる使命を慮ったとき、内外の連携が必須である。地方衛研とのレファレンス機能連携は衛生微生物協議会を核にしてより強固になってきたし、これから結核研究所が参加するのも心強い。国内大学大学院大学との連携の協定も着々と増えてきた。

国外ではWHOの主導するグローバルな感染症コントロール計画で感染研は米国ＣＤＣなどとともに基幹レファレンスラボラトリーとして貢献している。特に新型インフルエンザ対策, 世界ポリオ根絶計画の最終段階、麻疹排除計画についての貢献が期待されている。今年度は昨年の韓国ＣＤＣ、中国ＣＤＣ及びインドネシアＮＩＨＲＤにひき続きベトナムNIHEとの研究所間の覚書が新たに締結された。アジアにおける感染症コントロールに感染研が積極的、主導的に寄与する時代が到来した。これは一朝一夕になるものではなくそれには予研―感染研の先達のこれまでの種々の共同研究の実績とそれによって培われたお互いの信頼が根本になっている。

そしてこの相互信頼は後進にひきついでいかねばならない。これも感染研が国立研究所たらねばならぬ所以の一つである。ワクチンは感染症予防の切り札である。感染研の研究業務はそれぞれ何らかの形でワクチンに関わっている。このほど医薬基盤研、阪大微研、東大医科研と感染研が中心になりワクチン開発機関協議会が発足した。日本発のワクチン開発をめざし産学官の連携のもと感染研の立場に立脚した積極的な貢献をおこなう。C型肝炎やヒト子宮頸癌のワクチン開発研究や実用化に直結するワクチンデリバリーや免疫増強アジュバントの研究進展は心強いが、一方で国研としてワクチンの実際の品質管理そしてより合理的で国際標準に合致した安全で有効なワクチンの品質管理法の開発が求められている。

人事面では、平成19年4月1日付で宮崎義継（長崎大学医学部付属病院講師）が生物活性物質部長に、山崎浩（旭川医科大学助教授）が寄生動物部室長に、藤本嗣人（兵庫県立健康環境科学研究センター感染症部主任研究員）が感染症情報センター室長に、また10月1日付で梁明秀（横浜市立大学医学部准教授）がエイズ研究センターグループ長に着任した。一方で3月31日付で遠藤卓郎寄生動物部長、米山徹夫ウイルス第二部室長、佐々木次雄細菌第二部室長、堀内善信細菌第二部室長、古屋宏二寄生動物部室長、小島朝人感染病理部室長、谷山忠義免疫部室長、布施晃血液・安全性研究部室長、與儀ヤス子生体防御部室長が定年退職した。今年は長年にわたり生物製剤等の品質管理業務を支え、多大の貢献をされた室長が定年を迎えられた。また、森本金次郎ウイルス第一部室長が安田学園女子大学薬学部に、本多三男エイズ研究センターグループ長が米国NIHに、勝二郁夫ウイルス第二部室長が神戸大学大学院医学研究科に、沼崎啓ウイルス第三部室長が国際医療福祉大学病院に転出した。

1．ウ イ ル ス 第 一 部

部 長　倉 根　一 郎

概　要

当部では、本年度、以下の人事異動があった。平成 19 年 4 月 1 日付で大松勉が第二室研究員として採用され就任した。また、第三室中道一生研究員が主任研究官に昇任した。平成 19 年 6 月 30 日付で森本金次郎第三室長が安田学園女子大学薬学部教授に転出した。平成 19 年 11 月 1 日付けで西條政幸主任研究官が第三室長に就任した。

研究業務としては、出血熱ウイルス、SARS コロナウイルス、ポックスウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、狂犬病ウイルス、ＪＣウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、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、ウイルス性出血熱実験室診断法の開発と改良を行った。また新たに南米出血熱の実験室検査法の開発を開始した。痘そうワクチンの有効性をサル痘をモデルとして示した。さらに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。さらに、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。チクングニヤウイルスに関しては分子疫学的解析を行った。

第三室においては狂犬病ワクチンの品質管理法の改良をめざす研究を開始した。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、多数の疑い患者検体を検査した。手法の有用性が確認された。

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を用いてパイロット調査を行い、さらにゲノムタイプの解析も行った。さらに、モルモット CMV を用いて母児感染様式を解析した。

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 熱コクシエラの生態系における感染リスクを評価した。またリケッチア蛋白の網羅的解析を開始した。クラミジアに関しては、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検体に関する行政検査、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．ウイルス性出血熱等に関する研究

1．ラッサ熱に関する研究

（1）ナイジェリアにおけるラッサ熱流行の背景の調査および血清疫学

ナイジェリアは，致死率の高いウイルス性出血熱のひとつであるラッサ熱がはじめて認められた国である。2008 年 1 月にラッサ熱の存在がはじめて確認されたラッサ村（ラッサ総合病院）およびナイジェリア北部の Maiduguri 市を訪れ，ラッサ熱流行地の状況を視察した。ナイジェリア北部に位置する Maiduguri 大学との共同研究として，ナイジェリアの人々におけるラッサウイルス感染状況を，当研究室で開発されたラッサウイルスの組換え核蛋白を抗原とした IgG ELISA を用いて調査し

た。238 名から採取された血清中 51 検体（21%）が陽性を呈した。つまり，比較的多くのナイジェリア人がラッサウイルス感染の既往があることを示している。今後は，ラッサ熱流行地におけるラッサウイルス感染リスクの解析およびラッサウイルス感染者における臨床的調査を行う必要がある。

［西條政幸，David N Bukbuk（University of Maiduguri, Nigeria），水谷哲也，福士秀悦，緒方もも子，倉根一郎，森川茂］

2．クリミア・コンゴ出血熱に関する研究

（１）中国新疆ウイグル自治区におけるクリミア・コンゴ出血熱の流行の分子疫学的解析

2001 年と 2002 年に中国新疆ウイグル自治区において流行したクリミア・コンゴ出血熱（CCHF）が流行した。2001 年の流行時には，9 人の患者から血清が採取された。2002 年には，12 名の疑い患者が報告され，これらすべての患者から血清が得られた。これらの患者血清から，PCR 法によってクリミア・コンゴ出血熱ウイルス（CCHFV）の部分 S-遺伝子と部分 M-遺伝子の増幅を試みた。2001 年と 2002 年のクリミア・コンゴ出血熱流行時の患者から部分 S-遺伝子と部分 M-遺伝子がともに増幅された患者は，それぞれ 1 人（XJ01Pt08）と 3 人（XJ02Pt02，XJ02Pt03，XJ02Pt11）であった。 S-遺伝子および M-遺伝子に基づく系統樹解析を行った。XJ01Pt08 の CCHFV は，S-遺伝子による系統樹解析によると 1966 年に同地域で分離された 66019 株と近縁であるが，M-遺伝子による系統樹解析では 1988 年に分離された 88166 株に近縁であることが明らかにされた。XJ02Pt11 から増幅された CCHFV の遺伝子は，XJ01Pt08 のそれと極めて近縁であった。一方，XJ02Pt02 から得られたウイルス遺伝子は，S-遺伝子と M-遺伝子による解析により，1975 年に分離された 75024 株に近縁の CCHFV であることが明らかにされた。患者 XJ02Pt03 から得られたウイルス遺伝子は，66019 株に近縁であることが明らかにされた。患者 XJ01Pt08 および XJ02Pt11 に感染した CCHFV の S-遺伝子は 66019 株のそれと近縁で，M-遺伝子は 88166 株に近縁であった。つまり，それは 66019 株型ウイルスの S-遺伝子と 88166 株（8402 株）型ウイルスの M-遺伝子が reassortment して生じた CCHFV である可能性がある。

［西條政幸，Tang Qing（中国 CDC），水谷哲也，福士秀悦，緒方もも子，倉根一郎，森川茂］

3．リフトバレー熱に関する研究

（１）リフトバレー熱ウイルスの診断法に関する研究

リフトバレー熱は蚊により媒介されるウイルス感染症である。実験室内では、数多くの種の蚊がウイルスを媒介することが報告されており、いったんウイルスが侵入すると世界中どこでも流行する可能性が高い。しかし現在のところ、我が国におけるリフトバレー熱の実験室診断法は未整備である。病原ウイルスであるリフトバレー熱ウイルス(RVFV)はブニヤウイルス科、フレボウイルス属に属するネガティブ鎖 RNA ウイルスである。本研究では、RVFV 抗原検出 ELISA を構築するための RVFV の核蛋白質(NP)に対する単クローン抗体を作製し、これらの反応性を検討した。RVFV-NP に対する単クローン抗体のうち、F2-36、G2-36 および D5-59 は NP の C 末端側領域のアミノ酸残基 191-245 を認識した。N 末端のみを認識する単クローン抗体は現在のところ得られていないことから、NP の C 末端領域は強い抗原性を示すと考えられた。単クローン抗体 G6-21 および C10-54 は NP 全長にのみ反応したことから、これらの抗体は NP 全長を含む高次構造を認識する可能性が考えられた。今後、合成ペプチドなどを用いてそれぞれの単クローン抗体のエピトープを詳細に検討する必要がある。また、リバースジェネティクス法を用いた擬似 RVFV 粒子(VSV シュードタイプ：VSV-RVFV-Gn/Gc)を作製し、ウイルスそのものを用いることのない、ウイルス中和試験による血清診断法の検討を行った。本研究で作製した VSV-RVFV-Gn/Gc 感染は 2×10^3IU/ml と、低い感染価であった。中和抗体測定法として実用化するため、さらに高い感染価の VSV-RVFV-Gn/Gc の作製を今後検討する予定である。［福士秀悦，水谷哲也，西條政幸，倉根一郎，緒方もも子，森川茂］

4．アレナウイルスに関する研究

（１）南米出血熱の IgG 抗体検出 ELISA に関する研究

南米出血熱（アルゼンチン出血熱、ボリビア出血熱、ベネズエラ出血熱、ブラジル出血熱）は、感染症法の改正に伴い１類感染症に新たに加えられたラッサ熱と類似したウイルス性出血熱である。原因ウイルスは、それぞれ、アレナウイルス科の新世界アレナウイルスの B clade に分類されるフニン（Junin）ウイルス、マチュポ(Machupo）ウイルス、ガナリト(Guanarito）ウイルス、サビア(Sabia）ウイルスで、いずれも BSL4 に分類される。このため、BSL4 実験室が稼働していない日本では

ウイルスが培養できない。本研究では、組換えバキュロウイルスで発現・精製したフニンウイルス NP を抗原とした IgG ELISA を作製し、アルゼンチン出血熱患者血清 26 検体を用いて解析した結果、フニンウイルス感染細胞抗原を用いた IgG-ELISA とほぼ一致する結果が得られた。一方、フニンウイルス中和試験との比較では、中和力価が低い 5 検体は、本 IgG-ELISA、ウイルス抗原を用いた IgG-ELISA では陰性であった。

［森川 茂、福士秀悦、酒井宏治、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、Victor Romanowski（アルゼンチンラプラタ国立大学）］

（２）フニンウイルスの外被糖蛋白を被った増殖欠損型水疱性口内炎ウイルスによるシュードタイプ感染系の開発

南米出血熱の一つであるアルゼンチン出血熱の診断法開発を目的として、フニンウイルス GPC 遺伝子を発現するプラスミドを作製し、増殖欠損型水疱性口内炎ウイルスのシュードタイプを作製した。本シュードタイプは、フニンウイルス感受性細胞に 1 回のみ感染し GFP を発現するため、感染を GFP の発光で検出できる。Vero E6 細胞を用いてシュードタイプの感染価を測定した結果、6×10^6 Infectious Unit/mL と高力価であった。本シュードタイプを用いて、フニンウイルスを用いないウイルス中和試験法を開発する予定である。

［福士秀悦、酒井宏治、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川 茂、Victor Romanowski（アルゼンチンラプラタ国立大学）］

（３）フニンウイルスの単クローン抗体の作製

フニンウイルスの抗原検出 ELISA 法を開発するために、組換え精製フニンウイルス NP に対する単クローン抗体を 3 クローン作製した。いずれも、通常の ELISA 及び 2M urea 存在下での ELISA で同等の反応性を示すことから、アビディティーの高い抗体である。これらの単クローン抗体と GST タグを付加した部分 NP との反応性を WB 解析した結果、クローン E4-2、C11-12 はフニンウイルス NP の N 末端側 235 アミノ酸の領域を、クローン C6-9 は C 末端側 181 アミノ酸の領域を認識した。今後、より詳細なエピトープ決定を行い、これらの抗体を用いたウイルス抗原検出 ELISA 系を開発する予定である。

［福士秀悦、西條政幸、酒井宏治、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、森川 茂、Victor Romanowski（アルゼンチンラプラタ国立大学）］

（４）リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス M1 株の全配列決定と系統学的解析

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，検出精度の高い遺伝子検出法の開発が困難である。また，これまで公開されている遺伝子配列情報も少なく，それぞれの分離株の配列情報の決定は重要である。理研 BRC で導入マウス系統が LCMV に汚染していた事例で分離された M1 株の L-RNA 遺伝子配列を決定し，既に決定済みの S-RNA の遺伝子配列と共に系統学的解析を実施した。M1 株の L-RNA 遺伝子配列（7,188bases）は、既知の LCMV と約 72%の一致と低く（既知の LCMV 間では、約 80-99%の一致）、S-RNA と共に（既知の LCMV と約 79%の一致、既知の LCMV 間では、約 83-99%の一致）、既知の LCMV と遺伝的に距離があることが示された。S-RNA のコードする N 蛋白質及び GPC 蛋白質、L-RNA のコードする Z 蛋白質及び L 蛋白質の各アミノ酸配列を用いた系統学的解析においても、最近分離された、オーストラリアでの臓器移植による致死的感染患者由来ウイルス（Dandenong virus）とフランスでの死亡胎児（羊水）由来ウイルス（LE 株）に最も近縁であり、これらは既知の LCMV とは異なるグループを形成した。M1 株や Dandenong virus、LE 株のようなウイルス遺伝子を含め、あらゆる LCMV 遺伝子を検出できるシステムの構築が必要であると考えられた。

［酒井宏治，森川茂，水谷哲也，福士秀悦，西條政幸，緒方もも子，倉根一郎（ウイルス第１部），池郁男（理研 BRC）］

（５）リンパ球脈絡膜髄膜炎ウイルスの核蛋白に対する単クローン抗体の作製

リンパ球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 ウイルス感染症の診断法の開発に有用な LCM ウイルスの組換え核蛋白に対する単クローン抗体を作製した。3 クローン（24-1-E10，24-2-E3，24-2-E5）の単クローン抗体分泌ハイブリドーマを樹立した。これらの単クローン抗体は，LCM ウイルスの組換え核蛋白のみならず，ELISA 法，

WB 法，蛍光抗体法にて感染性 LCM ウイルスの核蛋白にも反応することが確認された。現在，これらの抗体の認識するエピトープを解析し，また，これらの単クローン抗体を用いた抗原検出法を開発している。
［西條政幸，水谷哲也，福士秀悦，緒方もも子，倉根一郎，森川茂］

Ⅱ．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）コウモリ由来 ACE2 を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析

SARS コロナウイルス(SARS-CoV)の自然宿主は未だ不明であるが、最近、SARS-CoV 様のウイルス遺伝子が検出されたキクガシラコウモリ、あるいは、近縁なコウモリが SARS-CoV の自然宿主の候補として注目されている。SARS-CoV のレセプターである ACE2 のアミノ酸配列は動物種により多様であり、このことが各動物種のウイルス感受性を規定する要因の一つとなっている。本研究ではキクガシラコウモリおよびオオコウモリの SARS-CoV 感受性を明らかにすることを目的として、これらの ACE2 発現細胞を用いて SARS-CoV の感染性を解析した。その結果、キクガシラコウモリ ACE2 発現細胞では SARS-CoV の感染は認められなかったが、オオコウモリ ACE2 発現細胞では SARS-CoV の感染が認められ、感染効率はヒト ACE2 発現細胞と同等であった。キクガシラコウモリ ACE2 の一部のアミノ酸配列をヒト、あるいはオオコウモリ ACE2 のアミノ酸配列に置換すると SARS-CoV の感染が認められた。キクガシラコウモリ ACE2 はレセプターとして機能しないことから、キクガシラコウモリには SARS-CoV は感染し難いと考えられた。一方、デマレルーセットオオコウモリから SARS-CoV 抗体が検出されていること、ACE2 がレセプター機能を有することから、オオコウモリ類が SARS-CoV に高い感受性を有することが示唆された。
［福士秀悦，水谷哲也，西條政幸，緒方もも子，酒井宏治，倉根一郎，森川 茂（ウイルス第１部），平井明香，新倉綾、山田靖子（動物管理室），横山勝（病原体ゲノム解析研究センター），前田健（山口大学）、吉川泰弘（東京大学）］

（２）CoCoMo(Primer Design from Collection of Common Motif)アルゴリズムの開発と SARS ウイルス共通プライマーの設計

類縁ウイルスに共通する PCR プライマーを自動的に設計する方法として,「ウイルス間で共通する Motif を起点としたプライマー設計アルゴリズム」を開発した。このアルゴリズムは，ウイルス塩基配列のアライメントに基づいてプライマーを設定するという従来の方法と異なり，ウイルス間で共通した相互に相補的でない 6 塩基の Motif を自動的に選択することによりウイルス間共通プライマーを設計する。この自動化により，理論的には各種ウイルスの共通プライマーの設計をコンピュータ上で試行することにより,「共通プイラマーが設計可能なウイルスグループ」を設定することが可能となる。ただし，現状ではコンピュータのデータ処理能力の限界から，対象ウイルス種を限定する必要が示された。本研究では，このアルゴリズムで Corona ウイルス科内での共通プライマーを設計するため，コロナウイルスをゲノム塩基配列相互の相同性に基づいて４つのグループに分けた。そのうち，SARS ウイルス，Bat SARS ウイルスおよびチベット SARS ウイルスの３種の SARS から構成されるグループに適用して 33 種のプライマーを設計した。33 種のプライマーセットについて SARS ウイルスを増幅したところ, 32 種のプライマーセットで明確な増幅が確認された。これらの結果から，CoCoMo アルゴリズムによってウイルス共通プライマーが設計できることが示唆された。今後は，対象ウイルス種を広げるためのアルゴリズムを改良するとともに，ウイルスのグループ構成を含めた自動化を検討する必要が示唆される。［水谷哲也，酒井宏治，倉根一郎，森川 茂，遠藤大二（酪農学園大学）］

Ⅲ．ポックスウイルスに関する研究

1．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 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。これまでの研究により，霊長類（カニクイザル）に 10^6PFU のサル痘ウイルス（Zr-599 株）を皮下接種すると，致死的サル痘を発症すること，LC16m8 を接種し，その 6 週間後に 10^6PFU のサル痘ウイルス（Zr-599 株）を皮下接種してもサル痘発症を予防することが確かめられている。この LC16m8 の効果が, ワクチン接種後 6 ヶ月以上の比較的長期間持続するか否かを検討した。LC16m8 接種後約 6 ヶ月後に，10^6PFU のサル痘ウイルス（Zr-599 株）

を皮下接種しても，その個体では接種部位の軽い潰瘍性病変を呈したのみで，全身性サル痘の発症は認められなかった。LC16m8 の霊長類におけるサル痘発症予防効果は，比較的長期にわたって持続し，その効果は人における天然痘予防効果にも当てはまるものと考えられる。

［西條政幸，飯塚愛恵，森川茂，水谷哲也，福士秀悦，緒方もも子，倉根一郎（ウイルス第 1 部），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．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 LAMP 法の開発と評価

サル痘ウイルスは、霊長類において天然痘様の急性発疹性疾患（サル痘）を引き起こし，ヒトにおいても天然痘様疾患（ヒトサル痘）を引き起こす。サル痘ウイルスはコンゴ盆地型と西アフリカ型に分類され，コンゴ盆地型の病原性が西アフリカ型のそれよりも高い。迅速・簡便に，しかも定量的に遺伝子を検出する方法として開発された Loop-Mediated Isothermal Amplification（LAMP）法を，サル痘ウイルス感染症の診断法として応用した。また，西アフリカ型とコンゴ盆地型を鑑別するための LAMP 法も開発した。サル痘ウイルス遺伝子検出法として，極めて高感度の nested PCR 法に比べて，感度は約 70%程度で若干劣るものの，精度は 100%であった。また，サル痘症状が重いサル個体ほど，ウイルス血症レベルが高く，その持続期間も長かった。一方、サル痘症状が認められなかった個体ではウイルス血症は検出されなかった。本研究で開発された LAMP 法により高い感度と精度でサル痘ウイルス遺伝子が検出され、LAMP 法はサル痘ウイルス感染症の診断法として有用であることが確認された。

［西條政幸，飯塚愛恵，森川茂，水谷哲也，福士秀悦，緒方もも子，倉根一郎（ウイルス第 1 部），網康至・須崎百合子（動物管理室），長谷川秀樹・永田典代（感染病理病理部）］

（2）敗血症を伴う劇症型サル痘の解析

霊長類がサル痘ウイルスに感染すると，ヒトにおける天然痘類似感染症（サル痘）を発症する。サル痘ウイルスは病原性の比較的高いコンゴ盆地型と低い西アフリカ型に分類され，コンゴ盆地型と西アフリカ型はカニクイザルではそれぞれ重症（時に致死的）サル痘と比較的軽症サル痘を発症する。しかし，3 頭の西アフリカ型サル痘ウイルス感染カニクイザルの中で，1 個体が感染 10 日目に死亡した。その個体では．典型的なサル痘症状は認められず，極めて高いウイルス血症を呈していることが認められた。サル痘ウイルス感染カニクイザルでは通常みられない，中枢神経感染症の存在も確認された。病理学的解析により，中枢神経組織，リンパ系臓器，消化器臓器，呼吸器臓器，内分泌組織，循環器臓器，泌尿生殖器系臓器など，調べられた臓器全てにウイルス抗原が存在した。また，本個体ではグラム陽性球菌の菌塊が肝臓や肺臓などの臓器に認められたことから，敗血症を伴っていたことも明らかにされた。西アフリカ型サル痘ウイルス感染カニクイザルの中でも，劇症型サル痘を発症する場合があり，その病態は全身臓器・組織にサル痘ウイルス感染が成立するという極めて特異的なものであった。この成績は，ヒトにおいてもサル痘ウイルス感染症により劇症型ヒトサル痘を発症する可能性があることを示している。特に敗血症を合併する場合に，劇症型ヒトサル痘を発症するリスクが高まると考えられる。

［西條政幸, 飯塚愛恵, 塩田　智之, 森川茂, 水谷哲也, 福士秀悦，緒方もも子，倉根一郎（ウイルス第 1 部），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）］

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・改良と応用に関する研究」

（1）改良型 RDV 法を用いたダチョウ由来ウイルスの同定

昨年度改良した RDV 法を用いて，日本で飼育されているダチョウ（*Struthio camelus*）の新鮮糞便より分離した，融合性の CPE を示す未同定のウイルスの遺伝子の同定を試みた。得られた遺伝子配列とデータベースを用いた遺伝子相同性解析により、7 つの部分遺伝子が既知のトリレオウイルスに近縁であることが示された。レオウイルスであることの確認のために，sigma A 蛋白質のトリレオウイルス共通プライマーを用いた PCR において特異的バンドを確認した。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，Orthoreovirus 属のニワトリ分離株が分類されるグループ 1 に属することが示された。本研究はダチョウ由来レオウイルス分離の最初の報告である。

［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（ウイルス第 1 部），岡村雅史，中

村政幸，竹原一明（北里大学)］

（２）改良型 RDV 法を用いた急性呼吸器患者からのレオウイルス同定

2007 年 11 月に，インドネシアからの渡航者が，帰国後，高熱を伴う急性呼吸器症状を呈し，入院した。高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）及び重症急性呼吸器症候群（SARS)、RS ウイルス感染症の検査を実施したところ，インフルエンザ（A 型、B 型、H1 亜型、H3 亜型、H5 亜型、H7 亜型）及び SARS コロナウイルス，RS ウイルスの遺伝子検査は全て陰性であった。ウイルス分離検査において，患者咽頭拭い液を用いて感染させた Vero E6 細胞において融合性の CEP が認められたため，改良型 RDV を用いてウイルスの遺伝子の検出・同定を試みた。その結果，過去 1 例のみ論文報告のある極めて稀なオルソレオウイルスのネルソンベイウイルスに属する Melaka ウイルス（Proc Natl Acad Sci U S A. 104: 11424-11429. 2007.）と類似のウイルスであると同定することができた。その後の，電子顕微鏡による鏡検においてもレオウイルス様粒子が認められ，RNA の電気泳動においてもレオウイルスと考えられる 10 分節の泳動パターンを示した。また，患者急性期血清と回復期血清を用いた分離株の 50%減少ウイルス中和試験においても抗体価の有意な上昇を確認できた。以上より，当該患者はオルソレオウイルスのネルソンベイウイルスグループに属するウイルスに感染していたことが明らかとなった。［酒井宏治，水谷哲也，森川茂，福士秀悦，西條政幸，緒方もも子，倉根一郎（ウイルス第一部)，影山努，小田切孝人，白戸憲也，田口文広（ウイルス第３部)，永田典代，片岡紀代，長谷川秀樹（感染病理病理部)， 岩切章，山本正悟，三浦美穂，塩山陽子，河野喜美子，平田泰久，川畑紀彦（宮崎県衛生環境研究所)］

（３）RDV 法の簡便化を目的とした改良（RDV ver3.0）

従来の RDV 法ではダイレクトシークエンスを行なうための最終 PCR において、6 万通り以上のプライマーの組み合わせがあった。我々は経験からウイルスを検出しやすいプライマーセットを選んで 96well の PCR を行なってきた。網羅的検出という目的を無くすことなくプライマーセットの組み合わせを減少させて、RDV 法の効率化を目指した。最終 PCR を行なう前のステップとして DNA フラグメントに平滑末端でアダプターを結合させていたが、片側を突出末端にすることにより DNA フラグメントの両端に異なるアダプターを結合できるようになり、このことが最終 PCR におけるプライマーセットを 256 通りまで減少することが可能になった。この改良法を RDV ver3.0 と呼んでいる。ヨコセウイルス（フラビウイルス属）を手法の検討に用いると従来の RDV 法では検出ができなかったが、RDV ver3.0 では効率良く遺伝子断片をシークエンスできた。RDV ver3.0 はその簡便さから汎用 RDV 法となる可能性がある。[水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、飯塚愛恵、倉根一郎、森川茂（ウイルス第一部)、渡辺俊平・明石朝臣（東京大学農学部）]

（４）RDV 法の感度上昇を目的とした改良（RDV ver4.0）

RNA ウイルス検出用の RDV ver2.1（昨年度報告)、ver3.0 では、検出感度は約 1 万ゲノムであり、血清などに含まれるウイルス粒子数が少ないと検出できない。また、短いゲノムを有するウイルスの感度が極端に悪い。そこで、検出感度をさらに上げることと、どのような長さのウイルスゲノムにも対応できるように、RDV 法における非特異的増幅のステップを改良した。RNA を cDNA に逆転写した後に cDNA 同士をライゲースにより結合させ、長い cDNA を作製して Phi29 が効率良く増幅できる鋳型を作製した。このライゲーション反応には合成オリゴを添加することにより、cDNA 間を架橋するという工夫を加えた。これを Phi29 酵素で非特異的に増幅したのちは、従来の RDV 法と同様にダイレクトシークエンスを行い、ウイルスの遺伝子配列を決定した。これを RDV ver4.0 と呼んでいる。RDV ver4.0 では 1kb の合成アルブミン RNA を少なくとも 1000 コピーまで検出できることがわかった。RDV ver4.0 は理論的には RNA ウイルスと DNA ウイルスが混在していても両者を検出できる方法である。[水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、飯塚愛恵、倉根一郎、森川茂（ウイルス第一部)、江下優樹（大分大学医学部)、山尾卓也・木原悠希・佐藤朝光（福岡大学薬学部）]

（５）RDV ver4.0 による新しいウイルスの検出

タイのデングウイルス感染患者の住宅内で 33 匹の蚊の幼虫を採取し、磨り潰した後に蚊の培養細胞 C6/36 に添加した。8 日後に培養上清から RNA を抽出し、特に細胞障害を起こしたものについて RDV ver4.0 を用いて新規 RNA ウイルスの検出を試みたところ、約 100 塩基の遺伝子断片がリフトバレーウイルスなどのブニヤウイルスの L 遺伝子と低い相同性があることがわかった。この遺伝子断片をアミノ酸に変換したところリフトバレーウイルスと約 60%の相同性があった。培養上清を C6/36

細胞で 4 回継代したところ、3 回目からこの遺伝子を PCR で検出できたので、この遺伝子配列を有する感染性のウイルス粒子の存在が証明された。このウイルスを採取された地区名から、Phasciharoen virus 1 (PhaV1)と呼ぶ。PhaV1 は Vero 細胞には感染しないこと、C6/36 細胞には感染するがウイルスの複製速度は遅いことなどが明らかになった。PhaV1 は稲に感染する Rice stripe virus にもリフトバレーウイルスと同様に相同性があるが、これ以上に相同なウイルスは GenBank には登録されていないので、新しいウイルスであると言える。PhaV1 ゲノムの他の領域についても次世代高速大量シークエンス（メガパイロシークエンス）法で解析した。[水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、飯塚愛恵、倉根一郎、森川茂（ウイルス第一部）、黒田誠、関塚剛史（ゲノム解析センター）、江下優樹（大分大学医学部）、山尾卓也、木原悠希、佐藤朝光（福岡大学薬学部）]

Ｖ．フラビウイルスに関する研究

1．デングウイルスに関する研究

（１）デングウイルス１型 NS1 と相互作用する細胞側因子の探索

デングウイルス１型の非構造蛋白質である NS1 のＣ末端側に Flag と呼ばれる７アミノ酸からなるペプチドを融合させた蛋白質 NS1F を発現するプラスミドを構築した。これを用いてヒト肝がん由来細胞 Huh-7 内で融合蛋白質を発現させた後、融合蛋白質を抗 Flag 抗体を用いて回収することにより、融合蛋白質と結合する細胞側因子を同時に分離した。NS1F とともに精製された細胞側蛋白質を質量分析（ＭＳ）法により解析したところ、数種類のシャペロン蛋白質がヒットした。また翻訳に関わる蛋白質も同定された。現在これらの相互作用候補蛋白質とＮＳ１との相互作用を個別に確認中である。[田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

（２）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、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。33 例中 TaqMan RT-PCR により尿中の DV 遺伝子が検出された症例は 9 例であった。このうち 7 例で遺伝子解析により確認された。また、尿中からのデングウイルス遺伝子の検出は、デングウイルス 1 型から 4 型までのすべてのウイルスで生じることも確認された。[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（埼玉医科大学）、水野泰孝・加藤康幸・工藤宏一郎（国立国際医療センター）]

（３）デング熱サルモデルの開発

デングウイルス感染症の病態解析およびワクチン評価系のためのモデルとして，ある種のサルを用いたウイルス感受性試験を行ったところ低接種量においても高接種量と同等のウイルス血症を示し、この種のサルが他の動物種に比べ高い感受性を有することが明らかになった。さらに、各主要臓器における経時的なウイルス変化を追ったところ免疫系臓器におけるウイルス増殖が確認され、また病変の確認された臓器においては他の臓器に比べ高いウイルス量であることが確認された。また、異なる血清型を用いた二次感染実験においては、感染増強は確認されなかったがわずかな感染防御とともに白血球の抑制が観察された。

[大松　勉、高崎智彦、平山隆則、伊藤美佳子、小滝　徹、倉根一郎、明里宏文（医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター）、中村紳一朗（滋賀医科大学）、片貝裕子（予防衛生協会）]

（４）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用いて，Fcγ受容体を介したデング出血熱の in vitro における感染機構モデルを作製した。本モデルを用いた結果 Fcγ受容体の膜結合領域およびリン酸化部位の欠損変異体において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受容体の生理学的活性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]

（５）台湾におけるデング熱発生状況現地調査とアジアのラボネットワークの確立

2007 年 8 月に台湾におけるデング熱発生状況現地調査報告とラボネットワークの確立のため台湾疾病対策センター(CDC)高雄支所及び台湾高雄市 CDC を訪問し，

高雄市のデング熱流行地域の現地調査を行った。本調査により台湾CDC高雄支所および高雄市CDCと我々の連絡体制の確認を行った。さらに現地調査の結果デングウイルスの流行している地区は衛生環境も良いにもかかわらず，100m四方の狭い範囲で短期間に感染が広がったことが明らかとなり雨期におけるデングウイルス媒介蚊対策の困難な状況が明らかとなった。しがって今後もアジア各国との連絡体制を密にし,情報を共有することが重要であることが示された。またアジア各国のデング熱流行状況を把握するためのウェブサイトを感染研ホームページ内に構築した。[林　昌宏，田島茂、小滝徹、柴崎謙一、高崎智彦，倉根一郎]

2．日本脳炎ウイルスに関する研究

（１）低継代日本脳炎ウイルス３型の病原性の解析

当研究室で使用している３型日本脳炎ウイルスBeijing-1(smb37)(B1smb37)株は、マウス脳での高継代（３７代）に伴うゲノム変化が多数見つかっており、さらにマウスに馴化している可能性もあり、本来の３型としての性状を維持しているか疑問である。そこで我々は、継代数の少ない３型 JEV ３株（JaTAn1/75(Tn1/75), JaTAn1/90(Tn1/90), JaTAn2/91(Tn2/91)）について、ゲノム配列、in vitro での増殖性、およびマウスに対する病原性を調べ、B1 株や１型 JEV である Sw/Mie/41/2002(M41)株と性状を比較した。3'非翻訳領域の塩基配列を比較したところ、Tn1/90 および Tn2/91 株は Tn1/75 株に比べ９塩基短かった。一方、B1smb37 株は登録されている Beijing-1 株から 25 塩基欠失していることが明らかとなった。Vero 細胞およびブタ腎由来 PK15 細胞でのプラーク形態では、B1smb37 株に比べ Tn1/90、Tn2/91 および M41 株は明らかに大きいプラークを、Tn1/75 はその中間の大きさを示した。また C6/36 細胞でのウイルス増殖能を比較したところ、Beijing-1(smb37)株に比べ Tn1/75、Tn1/90、Tn2/91 および M41 株は顕著に速い増殖速度を示した。マウスに対する病原性を調べたところ、Tn1/75、Tn1/90 および Tn2/91 の３株は M41 株よりも強毒であったが、B1smb37 株よりは明らかに弱毒であった。以上より、通常の３型は B1smb37 株ほどマウスでの病原性が高くないことが示唆された。[田島茂、貫井陽子、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

（２）遺伝子型間の病原性を規定するウイルス側因子の同定

３型の Sw/Mie/41/2002 株（M41 株）に比べ、１型の Beijing-1(smb37)(B1smb37)株はマウス病原性が顕著に高い。両ウイルスのＥ領域の塩基配列を決定後比較したところ、８アミノ酸の差異が認められた。そこで昨年度作製した M41 株の感染性分子クローンを用いて、Ｅ領域のみを B1smb37 株に置換したキメラウイルスを作製したところ、このウイルスは B1 株と同等の病原性を示した。さらに点変異を導入することにより病原性発現に関わるアミノ酸の特定を試みたところ、123 番目のアミノ酸が B1smb37 株の病原性を規定することが明らかとなった。またこの変異体の増殖特性は、株化細胞を用いても B1smb37 株と同等であった。さらにこのアミノ酸の置換は、ウイルスのヘパリンセファロースへの結合能に影響することが明らかとなった。[貫井陽子、田島茂、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

（３）遺伝子型内の病原性を規定するウイルス側因子の同定

Sw/Mie/41/2002 株（M41 株）に比べ、同じく１型の Sw/Mie/40/2002 株(M40 株)はマウス病原性が顕著に高い。両者の病原性の差異を規定する部位を特定するため全塩基配列を決定したところ、翻訳領域内では７アミノ酸残基、非翻訳領域内では６ヌクレオチドが異なっていた。また B1smb37 株との場合とは異なり、Ｅ領域には差異は認められなかった。次に M41 株と M40 株との間でキメラウイルスを作製し病原性を調べたところ、M41 株の非構造蛋白質 NS4A 上の１アミノ酸のみが M40 株型となったキメラウイルスで顕著な病原性の上昇が観察された。これよりこのアミノ酸が１型内での病原性の差異を規定することが明らかとなった。[貫井陽子、田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

（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のうち愛知県の担当者に対して研修を行った。現在日本脳炎ウイルスの中和抗体価測定法に用いられているプラーク法には約１週間を要するのに対し，フォーカス法においては 3 日間で結果が得られるため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]

（５）ブタから分離された日本脳炎１型ウイルスのマウスにおける病原性解析

全国各地のブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体調査を行った。さらにブタ血清より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。マウスを用いた感染実験の結果これまで日本各地から得られた日本脳炎Ｉ型ウイルス分離株の中には強毒株が含まれており，今後も日本脳炎対策が必要であることを明らかとした。[林　昌宏１，高崎智彦１，田島　茂１，大松　勉１，貫井陽子１，根路銘令子１，小滝　徹１，モイ メンリン１，池田真紀子１，小山田敏文２，清水良太２，水野俊秀３，倉根一郎１]（１.国立感染症研究所ウイルス第一部，２.北里大学獣医学部獣医病理学研究室，３.国立循環器病センター人工臓器部）]

（６）無血清培地を用いた組織培養日本脳炎不活化ワクチン製造に関する研究

マウス脳由来の不活化精製ワクチンは、日本をはじめ広くアジアで使用されてきた。しかし、以前より 1）マウス脳由来の物質の混入の可能性、2）急性散在性脳脊髄炎との因果関係が完全に否定できないこと、3）精製に時間と費用がかかり過ぎること、4）マウス確保が将来的に不安定になる可能性、5）マウス焼却に伴う環境破壊および動物愛護の観点などから Vero 細胞を用いた組織培養不活化ワクチンの製造が急がれている。しかしこの場合、細胞培養に使用する牛胎児血清を通じて、牛由来成分が混入する可能性があるため市販されている無血清培地を用いて、Vero 細胞を維持培養できるように馴化した。馴化した Vero 細胞（Vero-SFM 細胞）を 15 継代後、毎回凍結保存し、再び解凍して無血清培地下に培養再開が可能であることを 20 継代まで確認した。また、日本脳炎ウイルスの増殖だけでなく日本脳炎ウイルスよりも増殖力が遅いデングウイルスを用いて、そのウイルス増殖能およびプラーク形成能を検討した。Vero-SFM 細胞上清中の細胞由来 DNA 量を測定し、ワクチン製造用細胞に関する WHO の基準を満たすことを確認した。[高崎智彦、田島茂、林昌宏、小滝徹、倉根一郎]

（７）日本脳炎ウイルスの活動と気象との関連についての解析

我が国で 1965 年以来、実施されているブタにおける日本脳炎抗体調査のデータをもとに夏季の気温（平均気温、最高気温、真夏日など）、降水量と日本脳炎ウイルスの活動との相関関係を検討し、気温と正の相関をすることを見い出し、地球温暖化と日本脳炎ウイルスの活動が関連する可能性を確認した。[柴崎謙一、小滝徹、高崎智彦、倉根一郎]

3．ウエストナイルウイルスに関する研究

（１）ウエストナイルウイルス感染症に関する解説書の作製

ウエストナイルウイルスに関する一般的な解説書「ウエストナイルウイルスーあなたと地域ができる対策ー」及び「ウエストナイル熱 Q&A」をそれぞれ小冊子として作製し，ウエストナイルウイルスに関して解説した CD-ROM と共に各検疫所, 各都道府県等の関係機関に配布した。これはウエストナイルウイルスの性状，疫学的解析，ウエストナイル熱・脳炎の症状および予防法等を平易に解説したものである。また国立感染症研究所ウイルス第一部のホームページ内にウエストナイルウイルスの検査と治療，虫除け剤の安全な使用法等について解説した一般的な質問と回答(Q&A)集を作製し公開した。[林昌宏，高崎智彦，田島　茂，伊藤美佳子，根路銘令子，小滝　徹，倉根一郎]

（２）ウエストナイルウイルス組織培養由来不活化ワクチン（WN ワクチン）の性状解析

WN ワクチンをマウスに免疫した結果，防御に有効な中和抗体価の上昇が認められた。ところで我が国では長年にわたり日本脳炎ワクチン接種を行ってきた。そこで我が国に WN ワクチンを導入するモデルとして日本脳炎ワクチンを１度接種したマウスに WN ワクチンを追加接種した。その結果マウスモデルにおいて両ワクチンは相互に干渉することなくそれぞれのウイルスに対して相乗的な効果を示すことを明らかにした。これらの結果はウエストナイルウイルス侵入時の我が国における WN ワクチン接種スケジュールの検討に寄与する。[林　昌宏，高崎智彦，小滝　徹，倉根一郎]

Ⅵ．その他のアルボ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研究

（１）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とその性情解析

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

ングニア熱の輸入症例を確認した。また続いて発症した2 例目のチクングニア患者血清より日本で初めてチクングニア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で流行しているチクングニア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］

（２）チクングニヤウイルスの実験室診断法の開発と評価および応用

チクングニヤウイルス感染症は、わが国では現在のところ感染症法あるいは検疫法において定められていない感染症であるが、この流行の主媒介蚊は本邦においても沖縄県から東北地方まで広く分布しているヒトスジシマカである。ヨーロッパ・アメリカ・カナダ・東南アジア諸国では非常に警戒されているウイルス感染症である。そこで Robert Koch Institute を中心とした「ヨーロッパ輸入ウイルス感染症診断ネットワーク「1st External Quality Assurance（EQA）for the PCR & serology diagnostic of Chikungunya virus（CHKI)」の呼びかけに応じて、実験室診断感度を検討した。また、チクングニヤ熱流行地でからの帰国者でデング熱が疑われた症例について、チクングニヤウイルスの病原体診断・血清診断を実施した。[林　昌宏，高崎智彦，小滝　徹，倉根一郎]

2．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，さらにコウモリから分離されたフラビウイルスであるヨコセウイルスを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]

3．ベネズエラウマ脳炎血清診断法の確立

平成１９年度より施行されている感染症法改正において新たに４類感染症として追加されたベネズエラウマ脳炎に関して、より汎用性を高めるためにヒト IgG 抗体捕捉 ELISA plate を用いたベネズエラウマ脳炎ウイルス診断用 ELISA system の開発を試み、抗原としてβ‐プロピオラクトンによる不活化抗原がより感度が高いことを明らかにした。また、より反応性の高いモノクローナル抗体同定を行なった。[大松　勉、高崎智彦、倉根一郎]

4．野生コウモリにおけるフラビウイルス検出の試み

蚊媒介性ウイルスの中で日本のコウモリから唯一分離されているウイルスであるヨコセウイルスについて、横瀬地域のコウモリにおけるの常在の有無について検索を行った。本年度は野生の小型コウモリ 15 頭の各主要臓器からウイルス RNA の検出を試みたがウイルス RNA は確認されず、ヨコセウイルスの常在化は確認されなかった。[大松　勉、高崎智彦、倉根一郎、江下優樹（大分大学医学部感染分子病態制御講座）]

Ⅶ．神経系ウイルスに関する研究

1．狂犬病ウイルスに関する研究

（１）狂犬病ワクチンの品質管理法に関する研究

狂犬病ワクチンの国家検定試験ではマウスを用いた力価試験および不活化試験を行っており、力価試験では攻撃ウイルス量およびワクチン力価をマウスの生死によって評価している。しかしながら、動物愛護の観点からは死亡する前段階において人道的エンドポイントを設定し、安楽殺による苦痛軽減措置を施すことが望ましい。そこで、過去の検定における約2400頭分のデータを基盤として人道的エンドポイントとなりうる段階を設定し、実際の力価試験によってその適用性を評価した。その結果、全身の麻痺症状を示した個体は、時間の経過に伴って著しい体重減少を示し､5～6日で死亡することが分かった。以上の結果から、全身の麻痺症状の発現を指標として人道的エンドポイントの設定が可能であることを明らかにした。また、不活化試験では哺乳マウスが使用されているが、同じく動物愛護の観点からは動物を使用しない試験が望まれる。［伊藤睦代、中道一生、久保山有紀、倉根一郎、西條政幸］

2．JCポリオーマウイルス(JCV)に関する研究

（１）進行性多巣性白質脳症(PML)の診断および治療を目的としたJCVの脳脊髄液検査体制の整備とその評価

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、持続感染している JCV によって引き起

こされる。感度や特異性、侵襲性において優れた PML の診断技術を確立することを目的として、脳脊髄液から JCV を検出するリアルタイム PCR 検査系を確立した。また、全国の医療機関からの検査依頼に対応し、PML の診断支援および発生状況調査を行った。平成 19 年度では、神経学的所見や脳 MRI 等から PML が疑われた症例について計 85 件の依頼を受けた。13 検体（9 症例）が JCV 陽性と判断された。PML 患者の基礎疾患は HIV 感染症が 5 例、白血病等の血液系疾患が 4 例であった。また、同一患者において複数回の定量的検査を実施した場合には、症状の進行もしくは改善（HAART 導入後）に伴って JCV 量が増減することが明らかにされた。本検査系は PML の診断だけでなく、治療法の評価においても、有用なウイルス学的情報を提供する。［中道一生、久保山有紀、伊藤睦代、森本金次郎、倉根一郎、西條政幸］

3. 単純ヘルペスウイルスに関する研究

（１）神経節に潜伏感染している単純ヘルペスウイルスの再活性化に関する研究：チミジンリン酸化酵素欠損薬剤耐性ヘルペスウイルスの再活性化に関する研究

単純ヘルペスウイルス感染症の治療にはアシクロビルやペンシクロビルなどの有効な薬剤が使用されている。しかし，免疫不全患者においては，単純ヘルペスウイルスを含むヘルペス科ウイルス感染症は重症化し，また，治療に難渋することがある。先生性免疫不全症候群（Wiskott-Aldrich 症候群）患者から分離された薬剤（アシクロビル）耐性単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）のチミジンリン酸化酵素（TK）遺伝子にはフレームシフト変異が認められ，このウイルスが産生する TK には酵素活性がないことが明らかにされている。これまでの報告では，TK 活性欠損 HSV-1 は再活性化されないと報告されている。本研究では，TK 活性欠損 HSV-1 感染症罹患後に，再び出現した口唇ヘルペス病変から分離されたウイルスをアシクロビル存在下で増殖させ，そこから 23 クローンのアシクロビル耐性株をプラーク精製法にて得た。これらの各クローンの TK 遺伝子を解析したところ，この 23 クローン中 6 クローン（26%）に，本患者から分離されているアシクロビル耐性 HSV-1 の TK 遺伝子変異と同じ変異が認められた。この変異は薬剤耐性株が含まれない HSV-1 を同様に処理して得られるクローンでは，約 5%に認められる．これらの成績は，ヒトにおいては再活性化能を有しない TK 活性欠損 HSV-1 が，再活性化能を有する TK 陽性アシクロビル感受性 HSV-1 の再活性化に伴って再活性化することを示している。

［西條政幸，塩田智之，錫谷達夫（福島県立医科大学微生物学），伊藤陸代，中道一生，森川茂，倉根一郎］

Ⅷ. 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 値解析を昨年度に引き続き検討した。[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が、感染細胞と我々が樹立した 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。この系を用いて、昨年度の 5600 種類に加え、今年度 4000 種類のランダム化合物ライブラリーから VZV 感染を 20μM で阻害する新規抗ウイルス剤候補を検索し、細胞毒性がなく (>20μM)、VZV 感染阻害がある 7 化合物を新たに同定した。[中野友莉、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）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

我々が昨年度開発した先天性 CMV 感染のマススクリーニング法を用いて新生児 1000 例について先天性感染を検討した。昨年度の 600 例とあわせ計 1600 新生児中、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 6 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。陽性児について、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)、稲見有希、津田美穂子、倉根一郎]

（２）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、gB 遺伝子の特定の型が先天感染、特に神経学的症状を呈する児より得られた株に有意に多いことなどを見出した。今年度は、さらに糖蛋白 N(gN)、g0 などの遺伝子型を解析し、gN, g0, gH の遺伝子型の解析から、これらの遺伝子間に連鎖があり、先天感染・後天感染を問わず大半の分離株が、７つの連鎖グループに分類できることを明らかにした。さらに、7 グループに属さない株が g0 遺伝子の 3’末端から約 200bp 上流で相同組換えを起こしたものであることを明らかにした。RNA ウイルスと異なりヘルペスウイルスの遺伝子配列は極めて安定であるため、こうした遺伝子組換えがヘルペスウイルスの新たな遺伝子型を形成し、結果的には病原性の異なるウイルスを生成していく過程ではないかと推測される。[顔海念、稲見有希、倉根一郎、井上直樹]

（３）モルモット CMV（GPCMV）を用いた先天性 CMV 感染症に関する基盤的研究

胎盤構造の違いからマウスやラットＣＭＶはヒト CMV のような経胎盤感染をおこさないため、GPCMV が唯一の小動物先天性感染動物モデルである。これまでに、GP83 遺伝子領域をターゲットとした real-time PCR 法の確立、抗 GPCMV モノクローナル抗体の性状解析、入手可能な 5 種の近交系モルモット系統間にウイルス感受性の差がないこと、および腹腔内接種後のウイルス伝播様式がマウス・ヒト CMV と類似することを明らかにしてきた。全遺伝子配列決定の過程で、ATCC より購入した GPCMV ストックに２種類のウイルスが混在することを見出した。一方のウイルス株では、約 1.6kb の欠失が存在した。細胞培養系においては、欠失変異株の方がわずかながら増殖性がよいのに対して、腹腔内接種後の動物個体でのウイルス増殖を各組織において検討したところ、欠失変異株の増殖が著しく低下しており、欠失領域にコードされる遺伝子が個体での増殖に必須であることを明らかにした。[野澤直樹、山本由美子、福井良子、片野晴隆(感染病理部)、佐藤由子(感染病理部)、筒井祥博（浜松医大）稲見有希、中村幸之助、横井雅之、倉根一郎、井上直樹]

（４）新規抗 CMV 薬 146F7 の作用機序の解析

昨年度 9600 種類のランダム化合物ライブラリーを検索して同定した新規抗 CMV 薬候補化合物のひとつ 146F7 についてその作用機序を解析した。1)ヒト２倍体繊維芽細胞上でのヒト CMV に対する増殖阻害が、EC50 値 2.5±0.2μM と同時に測定した ganciclovir の 1.4±0.2μM に相当するほど有効であること、2)マウス CMV 及びモルモット CMV に対しても有効であること、3)薬剤の添加や除去のタイミングを変えることで、感染後 5-12 時間辺りで効果があること、4) 蛋白・RNA レベルでともに前初期蛋白 IE1/IE2 の発現を阻害していること、4)ウイルスの細胞への吸着・侵入は阻害しないことなどを、明らかにした。CMV 感染初期過程を阻害するユニークな化合物として、さらに詳細な作用機序及び動物モルでの効果を今後検討したい。[福井良子、神道慶子、山口十四文(帝京科学大)、倉根一郎、井上直樹]

Ⅸ. 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

つつが虫病をはじめ、近年の日本紅斑熱の増加や死亡例の発生、また新たな紅斑熱群やエーリキア症、アナプラズマ症等の発生に対応するため、リケッチア感染症の①疫学的研究、②検査・診断研究、③予防・治療研究を進めた。19 年度は①疫学的研究としては、つつが虫病、日本紅班熱について疫学情報の解析疫学データの集約方法の検討と、アンケートによる医師の認知度と届出率の調査を行い啓発の重要性が再確認された。国内実態調査としては、つつが虫病と日本紅班熱の患者発生状況調査と、推定感染地におけるリケッチアのダニ、動物の浸淫状況調査、さらに近隣国でもアジア大陸共通紅斑熱の現地調査も進め、リスクマップ作成に向けたデータの蓄積をした。イヌとネコを歩哨動物とした全国的な血清疫学調査を行い、一部野生動物のリケッチア感染状況を調査した。アナプラズマ、エーリキアについては、国内におけるマダニの実態調査でアナプラズマ遺伝子群、未知の紅斑熱群リケッチア DNA を検出し、さらにアナプラズマ症や未知のリケッチア症の初症例を見出した。②検査・診断については、早期診断体制の確立を目指し病原体迅速診断法の開発や、皮膚生検等からの検出法の確立を目指し検討した。地域毎のリファレンス体制構築に用いる菌株や患者血清を収集した。新たなタンパク質抗原の用意をして、病理試験への応用のための条件設定を検討中である。患者での検査材料の検討として、皮膚や刺し口の痂皮について検出法を検討し有用性を確認した。

③予防・治療研究としては、患者の病態解析によって重症化の機序の解明と、より有効な治療法の確立をめざし、つつが虫病の重症度とサイトカイン血中濃度との関連性を、臨床例で見出し、in vitro でもテトラサイクリン系薬剤の有効性にも関与する可能性が示唆された。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、坂田明子、花岡　希、猪熊　壽(帯広畜産大学獣医学部)、岩崎博道(福井大学医学部)、大橋典男(静岡県立大学環境科学研究所)、岡部信彦、松井珠乃(感染症情報センターセンター)、川端寛樹(細菌第 1 部)、倉田　毅(富山県衛生研究所)、高田伸弘(福井大学医学部)、田原研司(島根県保健環境科学研究所)、堤　寛(藤田保健衛生大学医学部)、藤田博己((財)大原総合病院付属大原研究所)、古屋由美子(神奈川県衛生研究所微生物部)、山本正悟(宮崎県衛生環境研究所微生物部)]

（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、解析を継続している。[安藤秀二、坂田明子、岸本壽男、藤田博己(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 1 部）]

（３）生物テロに使用される可能性の高いリケッチア属菌の高感度かつ迅速な検出法の確立

生物テロが疑われる不明熱患者発生時において、迅速に原因菌種を特定できる検出法や診断法を開発し実用化することを目的として、リケッチア属の検出、特に主に欧米で問題となっている Rickettsia rickettsii と R. prowazekii、我が国やアジア地域において問題となっている R. japonica を特異的に検出できる診断系の開発を目指し、Taqman MGB プローブの作製を試みた。現在作製したプローブセットの感度、特異性の検討等を行っている。今後本検出系が確立されれば、Fast PCR 系と組み合わせることによって、より迅速性を向上するための検討を行う予定である。[花岡希、安藤秀二、坂田明子、岸本寿男(ウイルス第１部)、川端寛樹、高野愛(細菌第１部)]

（４）PCR 法を用いたリケッチア症病原体検出法の改良―コンタミネーション防止のためのポジティブコントロール作製

PCR 法を用いた特異的遺伝子の検出は、リケッチア感染症において病因を同定する簡便かつ有用な診断ツールではある。しかしながら、ポジティブコントロール(PC.)としてリケッチア菌体から抽出した全ゲノム DNA を用いることから、PC.のキャリーオーバーが発生してしまうリスクが常にあった。今回、組換え技術を用いて国内で常用されているつつが虫病診断用の PCR プライマー領域を含みながら、リケッチアとは明らかに異なる遺伝子配列を持つ他の微生物の同定済み DNA を組み込んだプラスミドを作製した。作製したプラスミドをテンプレートに PCR を実施し、確実に PCR 産物が増幅されることを確認し、反応系が確実に実施されたことの指標となることが示された。また、その増幅産物のサイズが O. tsutsugamushi　全 DNA から増幅される PCR 産物と明らかにことなることから、キャリーオーバーの有無をも確認できる。以上より、有用なポジティブコントロール作製に成功した。[花岡希、安藤秀二、坂田明子、岸本寿男(ウイルス第１部)、川端寛樹、高野愛(細菌第１部)]

（５）Q 熱コクシエラの生態系における感染リスク評価

Q 熱は重要な動物由来感染症であるが、本邦における Q 熱コクシエラの生態系での存在様式の実態は不明である。本研究ではヒト、家畜、ペット、野生動物などの動物と、ダニ等のベクターを含む環境での本菌の実態について調査を行い、国内における本病原体の存在様式を明らかにすることを目的とした。19 年度はまずヒトの Q 熱抗体価測定法についての検討として、健常人の保存血清を用いてスクリーニングとしての ELISA 法(キット)と、われわれの開発した非特異反応除去処理をした IFA 法との比較を行った。ELISA 法によって判定保留ならびに陽性と判定された検体について IFA 法で再検したところ、すべて判定保留以下となり、陽性検体は認めなかった。このことから ELISA 法の単独使用には注意が必要と考えられた。今後、畜産関係者等ハイリスクグループとの比較が検討課題である。次に家畜、ペット、野生動物、ベクターにおける Q 熱コクシエラの感染実態や存在についての調査を進めるにあたって、これらの検体の全

国的な収集を行った。これまでに約 1500 検体イヌ・ネコの血液、野生のシカの血液、ダニが得られ、次年度の遺伝子検査に向けての DNA 抽出や、抗体測定用の抗原等を整備している。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、吉林台、坂田明子、花岡　希、(ウイルス第 1 部)　福士秀人、大屋賢司(岐阜大学応用生物科学部)、猪熊　壽(帯広畜産大学獣医学部)野村彩朱、矢野竹男(オリエンタル酵母(株))]

（6）つつが虫病リケッチアの発現タンパク質の網羅的解析

つつが虫病の起因菌 *Orientia tsutsugamushi* の全塩基配列が報告され、ゲノム構造が他のリケッチアと異なること、いくつかの特徴的な遺伝子が存在することが明らかになった。そこで、本研究では、GeLC-MSMS を用いて、発現タンパク質の網羅的同定を行った。Kuroki 株を培養・精製し用いた。トリプシンおよび Lys-C を使って、ゲル内消化し、LC-MSMS 解析を行った。Lys-C と高分離カラムを用いることで、同定されるタンパク質が飛躍的に増加し、特に低分子領域（<50kDa）での同定率が極めて改善された。最終的に、同定率は 49.4% (584/1152)であった。同定されたタンパク質を COG の機能カテゴリーに分類しすると、翻訳カテゴリーに属するものが比較的多く、メタボリズムに属するものは少なかった。この発現プロファイルは、偏性細胞内寄生細菌に共通のものであり、他の細菌とは異なっていた。この結果は、リケッチアなどの偏性細胞内寄生細菌が進化の過程で、同じようなタンパク質を宿主に依存して失い、同じようなタンパク質を宿主細胞内で生き残るために保存してきたことを示しているのかもしれない。今後、同定されたタンパク質に対して、さらに詳細な解析を行う予定である。[小川基彦、岸本寿男、大内史子・萩原健一・花田賢一郎（細胞化学部)、松谷峰之介（山口大医学部)、内山恒夫（徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部）]

（7）リケッチア種間のミトコンドリアプロセシングペプチダーゼ相同遺伝子の比較解析

リケッチアのゲノム解析より、リケッチアは現在までに知られているどの生物よりミトコンドリアに近縁であることが明らかになっている。さらに、リケッチアゲノム中にミトコンドリアプロセシングペプチダーゼ（MPP）と相同性の高い蛋白質（rickettsial putative peptidase [RPP]）の遺伝子が存在することが明らかとなった。MPP は αMPP、βMPP のヘテロダイマーとして核ゲノムコードの種々のミトコンドリア蛋白質前駆体の輸送シグナルを認識して特異的に切断し、成熟体蛋白質を生成する酵素である。我々は大腸菌で作製した組換え RPP がモノマーとしてペプチダーゼ活性を有すること、RPP がリケッチアで産生され、細胞膜に局在することを第 50 回、51 回の本学会で報告した。本研究では、種々のリケッチア種の rpp 遺伝子を比較解析し、MPP および RPP の分子進化の解明に資することを目的とした。発疹チフス群リケッチア *Rickettsia prowazekii*、*R. typhi*、および紅斑熱群リケッチア *R. aeschlimannii*、*R. africae*、*R. akari*、*R. conorii, Malish 7*、*R. conorii, Israel*、*R. felis*、*R. helvetica*、*R. honei*、*R. japonica*、*R. massilliae*、*R. montanensis*、*R. sibirica*、*R. slovaca*、*R. thailandii*、およびそのいずれにも属さない R. bellii をＬ細胞で増殖し、定法によりリケッチア粒子を精製後、ゲノム DNA を抽出した（一部ゲノム DNA は Dr. Brouqui より分与)。これを基に各 rpp 遺伝子の塩基配列を決定し、比較解析した。得られた rpp 遺伝子の塩基配列について系統樹解析を行った結果、進化的に R. bellii が最古相にあり、R. felis、紅斑熱群の他のリケッチア種、発疹チフス群のリケッチア種がそれに続くことが推測された。また、解析した全てのリケッチア種の rpp 遺伝子間の相同性が非常に高く、MPP についての知見より推定されるペプチダーゼとしての活性中心、触媒部位、金属結合部位、基質認識部位等の配列が良く保存されていた。これらの結果より RPP の酵素活性は種間でよく保存されており、重要な生理活性を担っていることが推測される。[内山恒夫・鎌田和弥・八町和樹・足立昭夫　(徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)、小川基彦、岸本寿男、倉根一郎]

（8）リケッチア感染の宿主特異性

リケッチアは節足動物媒介性であるが、その属する群により異なるベクターを宿主としている。発疹チフス群リケッチア（typhus group rickettsiae [TGR]；*Rickettsia prowazekii*、*R. typhi*）は昆虫類（シラミ、ノミ）をベクターとしており、一方、紅斑熱群リケッチア（spotted fever group rickettsiae [SFGR]；*R. rickettsii*、*R. conorii*、*R. japonica*、*R. akari* 等）はクモ形類（マダニ、小形ダニ）をベクターとしている。このリケッチア群と宿主ベクターの組み合わせの特異性が細胞レベルでのリケッチアの増殖特異性と一致しているか否かについて検討した。TGR の *R. prowazekii* と *R. typhi*、SFGR の *R. japonica* と *R. conorii* あるいは *R. montanensis* をマダニ由来の DALBE3 細胞(Dermacentor albipictus 由来)、ISE6 細胞(Ixodes

scapularis 由来)、昆虫由来の NIAS-AeAl-2 細胞(Aedes albopictus 由来)、あるいは哺乳動物由来の ECV304 細胞（ヒト臍帯血管由来)、Vero 細胞（サル腎由来）に接種し、培養した。3 日毎に培養液を交換し、培養液および細胞中に存在するリケッチアの感染価を定量した。また、これらのリケッチアを細胞に接種後に経時的に細胞を回収してプラック法でリケッチアを定量し、各種細胞へのリケッチアの付着能を調べた。TGR は AeAl2 細胞、Vero 細胞、ECV304 細胞に、SFGR は DALBE3 細胞、ISE6 細胞、Vero 細胞、ECV304 細胞にそれぞれ付着侵入し、増殖した。これに対し、SFGR と AeAl2 細胞との組み合わせ、あるいは、TGR と DALBE3 細胞、ISE6 細胞との組み合わせでは、細胞にリケッチアは付着侵入するが、増殖は認められなかった。これらの結果は、本来の宿主とリケッチアの関係と一致しており、ベクター中でのリケッチア増殖の可否が宿主細胞種とリケッチア群の相互関係のレベルで規定されている可能性が示唆された。今後、リケッチア増殖が成立しない宿主細胞・リケッチアの組み合わせについて、リケッチア付着侵入後の増殖阻害の機構について解析を進める予定である。[内山恒夫・岸真帆美・鎌田和弥・八町和樹・足立昭夫 （徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)、小川基彦、岸本寿男、倉根一郎]

（９）リケッチア感染性保存に及ぼす糖の効果

ノミやマダニは飢餓状態でも年余に渡って休眠・生存し、吸血によりそのライフサイクルを再開する。この間リケッチアはこれらのベクター内で感染性を失わずに存在し続ける。この現象はこれらの節足動物がリケッチアのベクターたりえる要因のひとつである。この現象を解明する手がかりとして、節足動物のヘモリンフ中の血糖として知られるトレハロースに着目した。トレハロースは様々な生物が乾燥や冷却等に対応するために産生する物質としても知られており、リケッチアの感染性の保存にも効果を有する可能性があると考えた。トレハロースを含む種々の糖類について、リケッチアの感染性の保存に及ぼす効果を明らかにすることを目的とした。

リケッチアとして発疹チフス群リケッチア(TGR)の R. typhi、紅斑熱群リケッチア(SFGR)の *R.japonica* を用いた。リケッチアをトレハロース、ショ糖、麦芽糖等を含む緩衝液中で種々の温度で保温した。各糖を含む緩衝液中のリケッチアの感染価を経時的に Vero 細胞を用いたプラック法により測定した。　二糖類のトレハロース、ショ糖、麦芽糖について調べたところ、トレハロース、ショ糖については麦芽糖に比べ感染性の保存効果が認められた。また、この効果は低温ほど大きかった。非還元糖のトレハロースとショ糖とに感染性の保存効果が認められ、ヘモリンフ中のリケッチアの感染性の保存は、主にトレハロースの効果による可能性が示唆された。一方、還元糖の麦芽糖では効果は認められなかったが、この効果が非還元糖であることによるのか否かは不明である。現在、他の糖類および節足動物の血液であるヘモリンフ中に存在する他の物質についても、その感染性保存に及ぼす効果を検討中である。[内山恒夫・岸真帆美 （徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)、小川基彦、岸本寿男（ウイルス第一部)]

（10） 牛放牧地のエゾシカ及び放牧牛におけるアナプラズマ及びリケッチアの検索

近年我が国では人獣共通の新興リケッチア性病原体が多数発見されているが、ベクター・保菌動物等未知な点が多く、医学・獣医学領域において実態把握が求められている。このため北海道内の牛放牧地で捕獲されたエゾシカ 22 検体と同放牧中の牛 83 頭を対象とし、アナプラズマ及びリケッチア対する抗体及び遺伝子を検索した。その結果：(1)*A.phagocytophilum*：抗体検査ではエゾシカ 16 頭(72.7%)が陽性を示し、種特異的 PCR では、10 頭(45.5%)が陽性であったが、牛は共に全頭陰性であった。(2) A.bovis：種特異的 PCR でエゾシカ 5 頭(22.7%)が陽性を示し、牛でも 3 頭(3.6%)が陽性を示した。*A.bovis* は我が国の牛からは初めての検出例であった。(3)*R.helvetica*：抗体検査ではエゾシカ 15 頭(68.2%)および牛 8 頭(9.6%)が陽性を示した。リケッチア属特異的 Nested PCR では、エゾシカ 14 頭(63.6%)が陽性を示したが、遺伝子解析の結果は *R.helvetica* よりもむしろ *Rickettsia* sp. strain IO-1 と近縁であった。牛検体はすべてリケッチア PCR 陰性であった。[吉林台、岸本壽男(ウイルス第１部)、清野伸隆(帯広畜産大学・獣医)、早川大輔・鈴木正嗣(岐阜大学・獣医)、秦　寛・近藤誠司(北海道大学・北方圏フィールド科学センター)、松本高太郎・猪熊壽(帯広畜産大学・獣医)]

Ｘ．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

オウム病の早期診断体制の確立と、患者発生のコントロールを目的として 18 年度に引き続き以下の検討をす

すめた。まずオウム病のより簡便な血清診断法として、Chlamydophila psittaci(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。19 年度は、さらに臨床検体を増やし特異性、感度の検討と、判定基準の設定を行い、臨床応用の有用性について検討した。本法にてオウム病抗体陽性 20 検体を測定した結果、標準法の micro-IF(MIF)法と高い相関性が認められた（r＝0.88)。一方、肺炎クラミジア抗体陽性血清では、本法の種特異性の高さが示唆された。また、改良した検体希釈液では、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。以上のことから本血清診断法の臨床的有用性は高いと考えられた。[岸本寿男、安藤秀二、坂田明子、福士秀人・大屋賢司(岐阜大学応用生物科学部)、野村彩朱・矢野竹男(オリエンタル酵母(株))]

（２）オウム病の病態発現に関する病原因子の探求

オウム病の病態発現に関する病原因子の探究を比較ゲノム解析の視点から行う目的で、C. psittaci ゲノム配列の解読と比較解析を試みた。我が国において集団発生事例で分離された Mat116 株を選定し、増殖と精製ゲノム配列の解読と比較解析に着手した。Mat116 株ゲノムの DNA ドラフト塩基配列は 95 コンティグ，総塩基数約 1100kbp であった。この暫定配列を用い、C. abortus ゲノム配列との比較を行った所、それぞれに固有と思われる領域が複数見いだされた。現在、コードされる遺伝子についてアノテーションを行っており、今後は、C. psittaci Mat116 株ゲノム DNA の完全塩基配列およびコードされる遺伝子を同定する予定である。全塩基配列決定後は、多種クラミジアゲノムとの詳細な比較解析を行い、オウム病の病態発現に関する病原因子の解明をめざす。[福士秀人・大屋賢司(岐阜大学応用生物科学部)、岸本寿男、安藤秀二、坂田明子、野村彩朱・矢野竹男(オリエンタル酵母(株))]

2. 肺炎クラミジアに関する研究

（１）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

肺炎クラミジア感染症の血清診断法「ヒタザイム C. ニューモニエ Ab-IgM」の現行の診断基準案については、カットオフ値が低いことや非特異反応の課題があり、見直しの必要性が指摘されており、その判定基準の再検討を行った。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た。血清は本 ELISA 法と Micro-IF 法で抗体価を測定、スワブは PCR 法による遺伝子検出を実施した。さらに、非特異的反応に関与する因子としてリウマチ因子（RF）と一部検体の抗核抗体を測定し、新前処理剤の効果を検討した。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。１）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。２）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。この前処理剤による健常小児及び健常成人での平均+３SD は上記と同様の結果であった。３）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。健常小児と健常成人から得られた新たな 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 例の陽性率からみても、妥当な値と考えられた。[岸本寿男、安藤秀二、沼崎　啓(ウイルス第 3 部)、尾内一信(川崎医科大学小児科 2)、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]

（２）肺炎クラミジアと多発性硬化症に関する研究

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、MS と肺炎クラミジアの関連について患者血清と髄液を用いて検討した。MS 症例、5 例の血清と髄液での肺炎クラミジアの PCR ではすべて検出限界以下であった。2 例で IgG と IgM 陽性例があり、ウェスタンブロット(WB)でも肺炎クラミジアに対する特異抗体が確認された。このことから、この 2 例はいずれも肺炎クラミジアの初感染、あるいは急性感染が示唆された。しかし、MS の経過からは、肺炎クラミジアの感染が MS の発症に関与したものではなく、MS にたまたま肺炎クラミジア感染が起こった可能性が高いと推察された。前年度の成績とあわせて考えると、肺炎クラミジア感染は一部の MS の急性増悪の要因となる可能性はあるが、MS 発症への直接的な関与を積極的に疑う証拠は認められなかった。[岸本壽男、安藤秀二、坂田明子、川端寛樹（細菌第 1 部)、池島秀明・星 恵子(昭和薬科大学薬物治療学)、加茂 力(聖

マリアンナ医科大学神経内科)、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))]

ＸⅠ．その他の研究

1. 川崎病の原因ウイルス特定に関する研究

日本における川崎病患者数は上昇しており年間１万人以上の小児が入院しているが、原因がわからないために対処療法で治療をおこなっている。川崎病は極地的な流行があることやグロブリン療法の有効性などからウイルスや細菌が起因になることが予想されている。しかしながら、これまで数多くのウイルスなどに関する論文が発表されているにも関わらず、起因となるウイルスは定かではない。そこで、我々は 2 人の患者血清から RNA と DNA を抽出し、69 種類のウイルスについてリアルタイム PCR をおこなったところ TTV が陽性であることがわかった。さらにコンベンショナル PCR でも Torque teno virus (TTV)のバンドが検出された。この患者の RNA と DNA を RDV 法と次世代高速大量シークエンス（メガパイロシークエンス）法を組み合わせて、11,000 遺伝子の配列を解析したところ、TTV の配列や GenBank に登録されていない遺伝子配列が得られたので、さらに解析中である。「水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、飯塚愛恵、倉根一郎、森川茂（ウイルス第一部)、片野晴隆（感染病理部)、黒田誠、関塚剛史（ゲノム解析センター)、大場邦弘（公立昭和病院)、梅田陽、上村茂（昭和大学医学部)、川崎富作（日本川崎病研究センター)」

2. バイオセーフティに関する研究

（１）バイオセーフティ教育の世界的現況-リスク評価に基づくバイオリスク管理の取り組み

感染症法の改正は、日本国内においてバイオセーフティおよびバイオセキュリティ対策の総合的、体系的な教育システムの構築を強く求めることになった。国際的にも世界保健機構（WHO）を中心にバイオリスク管理分野の WHO コラボレーティングセンターの一つである米国 NIH が主体となり教育システムの国際的基準が提案され、2007 年 7 月に、バイオセーフティ分野の指導者訓練（Train-the-Trainer、TTT）がシンガポールで開催された。この指導者訓練の機会は、WHO の実験室バイオセーフティ指針(第 3 版)を背景に、バイオセキュリティの概念を加味し、各地域において体系的にバイオリスク管理を構築し、拡大することを目的としている。その概要は、地域の流行状況を含めた個々の地域における病原体のリスク評価をベースに、個々の施設の活動内容、病原体取り扱いの手法、施設のハード、ソフト、人員の教育訓練レベルに応じてバイオセーフティレベルを決定することを求めており、バイオリスクに関する概論、各論それぞれにおいても常に評価に基づく決定を必要としている。また、病原体を取り扱う人員は一定の教育レベルをもつ者であることから、受け入れられやすい効果的な成人教育の手法についても言及している。近年のバイオリスク管理の必要性の高まりのもと、各国においてもこの分野における体系的な教育システムの構築が試みられている。今後日本においても、新しい知見や医学的進歩をふまえ、バイオリスク管理分野の持続可能な教育プログラムとそれ自身の評価と更新が求められるであろう。[安藤秀二(ウイルス第 1 部)]

（２）バイオセーフティ・バイオセキュリティ教育の効果的運営に関する検討

平成 19 年 6 月以降、感染症法の改正にともない、病原体等を取り扱う施設現場での管理とそれらの輸送に関し混乱が生じた。問題解決の試みとして、特に法解釈を含めた病原体管理のあり方、輸送の実際にテーマを絞った４回のワークショップを開催した。各ワークショップの企画・準備、内容を検討し、実施後の各ワークショップ参加者の評価をもとに効果的な教育手法について考察した。人数を制限して対象者の背景を同一のものとすることにより､短期のカリキュラムではテーマを絞ること、また、実習を含めた目に見えるもの、具体的イメージを展開しやすいカリキュラムを準備することにより、理解度が深まると考えられた。企画準備に一定の時間的余裕のあった回のワークショップワークショップの評価度が上昇したが、緊急に設定された３回目、４回目においては、企画運営を極めて限られた人数で対応したこと、１回目からの間にさまざまな機会に情報を得られる機会があったことなどから受講側の評価にばらつきが見られた。４回のワークショップにおいては十分な討議時間と質疑応答に時間をなるべく多く設定することにより一定の効果と評価を得られたと考える。しかしながら、効果的なバイオリスク管理教育を実施するには、教育訓練プログラム自体の評価をおこないながら、情報の更新と、情報の発信の仕方･ツールの開発､トピックスの取り込みなど常に内容を進化させる必要がある。受講生の効果をはかりながら繰り返しの教育を行うことにより、国内に広く法規制による管理との整合性の保てるバイオリスク管理

のあり方を根付かせることが求められている。[安藤秀二(ウイルス第 1 部)、重松美加(感染症情報センター)、佐多徹太郎(感染病理部)、杉山和良、山崎利雄、伊木繁雄、嶋崎典子(バイオセーフティ管理室)]

（３）感染症法の基準に従った病原体等の輸送シミュレーション

感染症法の改正にともない、一部の病原体と病原体によって産生される毒素の国内輸送において法的な規制がかかったことから混乱が起こっている。具体的に解決策を示すために、感染症法によって輸送の基準の遵守が求められる特定病原体等を輸送することを計画し、手続、実際の輸送をシミュレートすることにより問題点の洗い出しを試みた。限られた期限内に実施するシミュレーションであったため、2 種を１回、3 種病原体を 3 回の輸送を実施した。実際の輸送の際には、個々の関係機関の組織内の情報共有と理解が不十分のような場面がみられ、関係機関が同様の理解をもつことができるような調整の機会を設置することが必要と考えられる。また、輸送時にかかる人員や機材の準備にはコストをかければ準備対応が可能と考えられるが、現状の基準では国際輸送よりも高いコストがかかることからも、関係機関が協議し、安全保障と感染症対策のバランス、国際的なバランスの取れたルールの見直しが必要であろう。現在、国際ルールとの整合性をみながら、国内における輸送手段の事例集、情報の整理、法的基準の解説、マニュアル、電子媒体の申請書類様式を提供する準備を始めた。[安藤秀二(ウイルス第 1 部)、鹿住祐子(結核研究所)、藤本嗣人(感染症情報センター)、山崎利雄、伊木繁雄(バイオセーフティ管理室)]

（４）病原体等の保管・管理と輸送に関するワークショップ

平成 19 年 6 月の改正感染症法の施行にともない、病原体等を取り扱う施設現場での管理とそれらの輸送に関し混乱が生じた。一部法律の厳しい制限から、法律による規制のかからない病原体を含め多くの病原体が廃棄、輸送の停滞が起こったため、問題解決の試みとして、特に法解釈を含めた病原体管理のあり方、輸送の実際にテーマを絞ったワークショップを、地方衛生研究所職員を対象に開催した。実習を含めた十分な討議時間を設定することで、個々の施設、個人の理解において問題解決のために焦点とすべき項目を見極めることが可能となった。今後、感染症法で求められる対象病原体等の管理と法律で規制されないその他多くの病原体等の取扱いについても輸送上のルールに混乱があり、解決のために、事例集の作成や特定病原体等を含めた病原体等の輸送のルールについての情報を整理して提供するとともにマニュアルの作成・提供を予定している。さらに、ワークショップであげられた質疑応答を Q&A として情報発信していく計画である。同一対象者の講習を繰り返して理解度を深めるとともに、視点の異なる教育機関や病院検査室を対象とした同様の試みが必要と考える。[安藤秀二、重松美加(感染症情報センター)、佐多徹太郎(感染病理部)、杉山和良・山崎利雄・伊木繁雄・嶋崎典子(バイオセーフティ管理室)]

レファレンス業務

1．フラビウイルスに関する行政検査

デングウイルス、日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルスに関する病原体診断、血清診断を行政検査依頼に基づき、デング熱 18 件、日本脳炎 2 件、ウエストナイルウイルス 1 件について実施した。[田島茂、大松勉、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

2．JCポリオーマウイルスに関する行政検査

進行性多巣性白質脳症が疑われた患者について1件の依頼を受け、髄液のPCR検査を実施した。[中道一生、伊藤睦代、倉根一郎、西條政幸]

3．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 19 年の行政検査においては、オウム病 8 例 17 検体、リケッチア症 11 例 26 検体、Q 熱 1 例 2 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 4 例 7 検体、リケッチア 11 例 40 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多数検査検討した。[安藤秀二、坂田明子、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 19 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、森川茂、倉根一郎］

2．日本脳炎不活化ワクチンの国家検定及び依頼検査
平成１９年度は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。[田島茂、林昌宏、大松勉、高崎智彦、倉根一郎]

3．黄熱ワクチンの依頼検査
平成１９年度は２ロットの黄熱ワクチンの依頼検査を実施し、いずれも適と判定した。
[林昌宏、田島茂、大松勉、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19年度は、4ロット（RB04、RB05、RB06、RB07）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。［中道一生、伊藤睦代、森本金次郎、西條政幸、倉根一郎］

5．乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定のための攻撃用ウイルスの作製
力価試験において必要な狂犬病ウイルス（CVS株）の新ロット（CV01）を作製し、力価試験において使用可能であることを確認した。［中道一生、伊藤睦代、久保山有紀、森本金次郎、西條政幸、倉根一郎］

6．水痘ワクチンの検定
水痘抗原国家検定１ロット、乾燥弱毒性水痘ワクチン国家検定６ロット､輸出用ワクチン依頼検査 14 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]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1）Ferguson, M., Kurane, I., Wimalarante, O., Shin,J., Wood, D. and WHO informal consultation group: WHO informal consultation on the scientific basis of specifications for production and control of inactivated Japanese encephalitis vaccines for human use, Geneva, Switzerland, 1-2 June 2006. Vaccine. 25(29):5233-5243, 2007

2）Oya, A. and Kurane, I.: Japanese encephalitis for a reference to international travelers. Journal of Travel Medicine. 14(4):259-268, 2007

3）Kurane, I.: Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 30(5-6):329-340. 2007

4）Anantapreecha, S., A-Nuegoonpipat, A., Prakrong, S., Chanama, S., Sa-Ngasang, A., Sawanpanyalert, P. and Kurane, I.: Dengue virus cross-reactive hemagglutination inhibition antibody responses in patients with primary dengue virus infection. Japanese Journal of Infectious Diseases. 60(5):267-270, 2007.

5）Maeda, A., Maeda, J., Takagi, H. and Kurane, I.: Detection of small RNAs containing the 5'- and the 3'-end sequences of viral genome during West Nile virus replication. Virology. 371(1): 130-138. 2008

6）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, 2007

7）Yu, F., Le, M.Q., Inoue, S., Hasebe, F., Parquet, M.D., Morikawa, S., and 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.

8）Mizutani, T., Endoh, D., Okamoto, M., Shirato, K., Shimizu, H., Arita, M., Fukushi, S., Saijo, M., Sakai, K., Limn, C.K., Ito, M., Nerome, R., Takasaki, T., Ishii, K., Suzuki, T., Kurane, I., Morikawa,S., and Nishimura, H. : Rapid Genome Sequencing of RNA Viruses. Emerg. Infect. Dis. 13(2): 322-4, 2007.

9）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, J.S., Chen, P.J., Yamamoto, N., Nomura, T., Ishida, I., Morikawa, S., Tashiro, M., and Sakatani, M. : Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using

SCID-PBL/hu mouse models. Vaccine, 25(16): 3038-3040, 2007

10） Urata, S., Noda, T., Kawaoka, Y., Morikawa, S., Yokosawa, H., and 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.

11） 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

12） Sakai, K., Mizutani, T., Fukushi, S., Saijo, M., Endoh, D., Kurane, I., Takehara, K., and Morikawa, S. : An improved procedure for rapid determination of viral RNA sequences of avian RNA viruses. Arch. Virol. 152(9):1763-5, 2007

13)Saijo, M., George-Courbot, M., Philippe, M., Romanowski,V. Fukushi, S., Mizutani, T., George, A., Kurata, T., Kurane, I. and Morikawa, S. : Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. Clin Vaccine Immunol. 14(9):1182-9, 2007

14)Ike, F., Bourgade, F., Ohsawa, K., Sato, H., Morikawa, S., Saijo, M., Kurane, I., Takimoto, K., Yamada, Y.K., Jaubert, J., Berard, M., Nakata, H., Hiraiwa, N., Mekada, K., Takakura, A., Itoh, T., Obata, Y., Yoshiki, A., and 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.

15)Ikejiri, M., Saijo, M., Morikawa, S., Fukushi, S., Mizutani, T., Kurane, I., and Maruyama, T. : Synthesis and biological evaluation of nucleoside analogues having 6-chloropurine as anti-SARS-CoV agents. Bioorg. Med. Chem. Lett. 17(9): 2470-3, 2007.

16)Morikawa, S., Saijo, M. and Kurane, I. : Current knowledge on lower virulence of Reston Ebola virus. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 30(5-6):391-8, 2007

17)Morikawa, S., Saijo, M. and Kurane, I. : Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 30(5-6):375-89, 2007

18)Fukushi, S., Mizutani, T., Sakai, K., Saijo, M., Taguchi, F., Yokoyama, M., Kurane, I., and Morikawa, S. : Amino acid substitutions in S2 region enhance SARS-CoV infectivity in rat ACE2-expressing cells. J. Virol. 81(19):10831-4, 2007

19)Kihara Y, Satho T, Eshita Y, Sakai K, Kotaki A, Takasaki T, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, Lapcharoen P, Sumroiphon S, Iwanaga S, Ushijima H, Endoh D, Miyata T, Sakata A, Kashige N, Miake F, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Mizutani T. : Rapid determination of viral RNA sequences in mosquitoes collected in the field. J Virol Methods. 146(1-2):372-4, 2007

20)Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Sato Y, Morikawa S, Saijo M, Itamura S, Saito T, Ami Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T. : Pathology and virus dispersion in cynomolgus monkeys experimentally infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus via different inoculation routes. Int J Exp Pathol. 88(6):403-14, 2007.

21)Saijo M, Suzutani T, Mizuta K, Kurane I, Morikawa S. : Characterization and susceptibility to antiviral agents of herpes simplex virus type 1 containing a unique thymidine kinase gene with an amber codon between the first and the second initiation codons. Arch Virol. 153(2): 303-14, 2008

22)Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Iizuka I, Sakai K, Sata, T, Kurata T, Kurane I, and Morikawa S. : Diagnosis and assessment of monkeypox virus (MPXV) infection by quantitative PCR assay: differentiation of Congo Basin and West African MPXV strains. Jpn J Infect Dis, 61(2): 140-2, 2008.

23)Sunohara M, Morikawa S, Sato T, Miyado M, Sato I, Sato T, Fuse A. Promoter regulatory motifs involved in c-mpl gene expression induced by PMA. Cell Biol Int. 32: 692-697, 2008

24)Maeda K, Hondo E, Terakawa J, Kiso Y, Nakaichi N,

Endoh D, Sakai K, Morikawa S, Mizutani T. Isolation of Novel Adenovirus from Fruit Bat (Pteropus dasymallus yayeyamae). Emerg Infect Dis. 14(2):347-9, 2008.

25)Ami Y, Nagata N, Shirato K, Watanabe R, Iwata N, Nakagaki K, Fukushi S, Saijo M, Morikawa S, Taguchi F. Co-infection of respiratory bacterium with severe acute respiratory syndrome coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. Microbiol Immunol. 52(2):118-27, 2008.

26)Wang, H.Y., Takasaki T., Fu, S.H., Sun, X.H., Zhang, H.L., Wang, Z.X., Hao, Z.Y., Zhang, J.K., Tang, Q., Kotaki, A., Tajima, S., Liang, X.F., Yang, W.Z., Kurane, I. and Liang G.D. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China. Journal of General Virology, 88: 885-894, 2007.

27)Mizuno, Y., Kotaki, A., Harada, F., Tajima, S., Kurane, I. and Takasaki, T. Confirmation of dengue virus infection by detection of dengue virus type 1 genome in urine and salva but not in plasma. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 101: 738-739, 2007.

28)Ito, M., Yamada, K., Takasaki, T., Pandey, B., Nerome, R., Tajima, S., Morita, K. and Kurane, I. Phylogenetic analysis of dengue viruses isolated from imported dengue patients: possible aid for determining the countries where infections occurred. Journal of Tropical Medicine, 14: 233-244, 2007.

29)Tajima, S., Nukui, Y., Takasaki, T. and Kurane, I. Characterization of the variable region in the 3' non-translated region of dengue type 1 virus. Journal of General Virology, 88: 2214-2222, 2007.

30)Nerome, R., Tajima, S., and et al. Molecular epidemiological analyses of Japanese encephalitis virus isolated from swine in Japan from 2002 to 2004, Journal of General Virology, 88: 2762-2768, 2007.

31)Omatsu T. Watanabe S. Akashi H. Yoshikawa Y.: Biological characters of bats in relation to natural reservoir of emerging virus. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diesases. 30(5-6):357-374, 2007

32)Nidaira M, Taira K, Itokazu K, Kudaka J, Nakamura M, Ohno A, Takasaki T. Survey of the antibody against japanese encephalitis virus in Ryukyu wild boars (Sus scrofa riukiuanus) in Okinawa, Japan. Jpn J Infect Dis. 2007;60(5):309-311

33）Takasaki T, Kotaki A, Nishimura K, Sato Y, Tokuda A, Lim C-K, Ito M, Tajima S, Nerome R, Kurane I. Dengue virus type 2 isolated from an imported dengue patients in Japan: First isolation of dengue virus from Nepal. J Travel Med. 2008 15:46-49.

34)Fujii Y, Kitaura K, Nakamichi K, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I. Accumulation of T-cells with selected T-cell receptors in the brains of Japanese encephalitis virus-infected mice. Jpn J Infect Dis. 2008 Jan;61(1):40-8

35)Dewi BE, Takasaki T, Kurane I. Peripheral blood mononuclear cells increase the permeability of dengue virus-infected endothelial cells in association with downregulation of vascular endothelial cadherin. J Gen Virol. 2008 Mar;89(Pt 3):642-52.

36)Nidaira M, Taira K, Itokazu K, Okano S, Kudaka J, Nakamura M, Ohno A, Takasaki T. Detection of Japanese encephalitis virus genome in Ryukyu wild boars (Sus scrofa riukiuanus) in Okinawa, Japan. Jpn J Infect Dis. 2008 Mar;61(2):164-5.

37)N Nozawa, S Koyano, Y Yamamoto, Y Inami, I Kurane, N Inoue. Real-time PCR assay using specimens on filter disks as a template for detection of cytomegalovirus in urine specimens. J Clin. Microbiol 45:1305-7, 2007.

38)K Ishibashi, T Tokumoto, K Tanabe, H Shirakawa, K Hashimoto, N Kushida, T Yanagida, N Inoue, O Yamaguchi, H Toma, T Suzutani. Association between outcomes of renal transplantation and antibody responses to cytomegalovirus strain-specific glycoprotein H epitopes. Clin Infec Dis 45:60-7, 2007.

39)N Inoue, S Koyano. Evaluation of screening methods for congenital CMV infection. Ped Infec Dis J 27:182-4, 2008.

40)H Yan, S Koyano, Y Inami, Y Yamamoto, T Suzutani, M

Mizuguchi, H Ushijima, I Kurane, N Inoue. Genetic variations in the gB, UL144 and UL149 genes of human cytomegalovirus strains collected from congenitally and postnatally infected Japanese children. Arch Virol 153:667-674, 2008.

41)T Koshizuka, Y Kawaguchi, N Nozawa, I Mori, Y Nishiyama. Herpes simplex virus protein UL11 but not UL51 is associated with lipid rafts. Virus Genes 35:571-5, 2007.

42)M Shimakage, K Kawahara, S Harada, T Sasagawa, T Shinka, T Oka. Expression of Epstein-Barr virus in renal cell carcinoma. Oncol Rep. 18:41-6, 2007.

43)M Shimakage, H Sakamoto, S Harada, T Sasagawa, K Kodama. Expression of the Epstein-Barr virus in lymphoproliferative diseases of the lung. Oncol Rep. 17:1347-52, 2007.

44)Nomura T., Fujimoto T., Ebisutani C., Horiguchi H. and Ando S.:The First Fatal Case of Japanese Spotted Fever Confirmed by Serological and Microbiological Tests in Awaji Island, Japan. Japanese Journal Infectious Diseases, 60:241-243, 2007

45)Matsui,T., Nakashima, K., Ohyama,T., Kobayashi,J., Arima,Y., Kishimoto,T., Ogawa,M., Cai,Y., Shiga,S., Ando, S., Kurane,I., Tabara,K., Itagaki,A., Nitta,N., Fukushi,H., Matsumoto,A., and Okabe,N. An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan. Epidemiology and Infection, 136(4):1-4, 2008

46)Ogawa, M., Renesto, P., Azza, S., Moinier,D., Fourquet, P., Gorvel, JP., Raoult, D.: Proteome analysis of Rickettsia felis highlights the expression profile of intracellular bacteria. Proteomics 7(8):1232-48, 2007

47)Takahashi S, Yamazaki T, Satoh K, Inoue M, Takahashi S, Ishihara O, Oka Y, Horiguchi Y, Okuwaki Y, Suzuki S, Kishimoto T. Longitudinal epidemiology of Chlamydia trachomatis serovars in female patients in Japan. Jpn J Infect Dis. 2007 60:374-6.

2．和文発表

1)倉根一郎：ウエストナイル熱流行の問題点．臨床と微生物 34(5): 377-381, 2007

2)倉根一郎：日本脳炎ワクチン．日本医事新報　4352 号（平成 19 年 9 月 22 日号）：68-72, 2007

3)水野泰孝、高崎智彦、倉根一郎：輸入デング熱症例の臨床的検討．日本医事新報　4354 号（平成 19 年 10 月 6 日号）：66-69, 2007

4)倉根一郎：日本脳炎ワクチンと問題点．感染・炎症・免疫 39(3): 66-67, 2007

5)水谷哲也「新興ウイルス感染症の網羅的検出方法（RDV 法）の確立と応用 」、ウイルス、2007．57 巻 pp217-226.

6)福士秀悦　「コウモリ由来ACE2発現細胞を用いたSARSコロナウイルスの感染性の解析」　JVM獣医畜産新報 vol.61 No3 199-201.

7)森川茂「サル痘」 新感染症学（日本臨床）, 65(suppl 3): 150-153, 2007

8)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

9)高崎智彦．デング熱・デング出血熱　日本臨床 65. 117-121（2007）

10)高崎智彦．ウエストナイル熱・脳炎　日本臨床 65. 98-103（2007）

11)原田文植、高崎智彦．海外で罹る危険性のある感染症 update②　デング熱・デング出血熱．公衆衛生　71(7) 556-560 (2007)

12)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）

13)高崎智彦．ウエストナイル熱・脳炎．ウイルス 57(2) 199-205 (2007)

14)木村幹男、高崎智彦、狩野繁之．感染症と新しい検査法と最近のトピックスーマラリア，デング熱．小児科診療　71(1) 137-144 (2008)

15)Nukui Y, Takasaki T. Mosquito-vector infections: West Nile fever. Nippon Naika Gakkai Zasshi. 96(11):2435-41 (2007)

16)高崎智彦．感染制御のための微生物学講座ウイルス デングウイルス(DENV) 感染制御　4(2) 139-142 (2008)

17)水野泰孝、加藤康幸、工藤宏一郎、高崎智彦、倉根一郎．遷延する関節痛より確定診断に至ったチクングニヤ熱の本邦初症例．感染症学雑誌 81(5)600-601 (2007).

18)水野泰孝、高崎智彦、倉根一郎．輸入デング熱症例の臨床的検討．日本医事新報 4354:66-69 (2007).

19)水野泰孝、高崎智彦、倉根一郎．　国立国際医療センターにおける輸入デング熱症例の臨床的検討．病原体検出情報　28(8) 217-218 (2007)

20)井戸田一郎、戸塚恭一、増田剛太、菅沼明彦、今村顕史、味澤　篤、根岸昌功、山田堅一郎、矢部貞夫、高崎智彦、倉根一郎．　病原体検出情報　28(8) 218-219 (2007)

21) 林　昌宏，高崎智彦．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

22)岸本寿男，安藤秀二，坂田明子．クラミジア感染症の過去と現在－疫学．臨床と微生物，34(3):171‐178,2007 年 5 月

23)安藤秀二，佐多徹太郎，重松美加，杉山和良，中嶋建介．感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2007-2008．（WHO 出版物翻訳）平成 19 年 8 月

24)松井珠乃，佐藤弘，岡部信彦，安藤秀二，岸本寿男，尹浩信，坂崎善門，瀬戸山充，成田博実．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と，2005 年における診断・届出の現状．日本皮膚科学会雑誌，117(12)：1977－1980, 2007

25)佐藤　梢,安藤秀二,岸本寿男,井上美由紀,山崎　勉: Chlamydia trachomatis に対する gatifloxacin の in vitro 抗菌作用および殺菌作用.あたらしい眼科 25;85-87,2008

26)岸本寿男:8.リケッチア感染症.わかりやすい内科学.第 3 版.井村裕夫ほか編.文光堂 510-511,2008 年 1 月

27)岸本寿男:9.Q 熱.わかりやすい内科学.第 3 版.井村裕夫ほか編.文光堂 512,2008 年 1 月

28)岸本寿男:10.マイコプラズマ感染症.わかりやすい内科学.第 3 版.井村裕夫ほか編.文光堂 513,2008 年 1 月

29)岸本寿男:11.クラミジア感染症.わかりやすい内科学.第 3 版.井村裕夫ほか編.文光堂 514-516,2008 年 1 月

30)岸本寿男:抗クラミジア(クラミドフィラ)・ニューモニエ抗体.最新臨床検査項目辞典.櫻林郁之介ほか監修.医歯薬出版. 650-651,2008 年 3 月

31)岸本寿男:クラミジア培養・同定.最新臨床検査項目辞典.櫻林郁之介ほか監修.医歯薬出版. 651,2008 年 3 月

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1)Yokote H, Shinmura Y, Kanehara T, Satou A, Nagai C, Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, and Hashizume S : Explicit Comparison of Smallpox Vaccines by PRNT Titer Requires Standardization of PRNT Methods.　International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, Vienna 2007

2)Yokote H, Shinmura Y, Nagai C, Satou A, Kanehara T, Sasaki T, Matsui H, Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, KurataT, and Hashizume S: Efficacy and Safety Evaluation of Attenuated Smallpox Vaccine LC16m8.　International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, Vienna 2007

3)Lee SL, Di Caro A, Favier AL, Grolla AR, Lacote S, Morikawa S, Nitsche A, Olivera H, Zimmermann P, and Damon I :　Smallpox Diagnostics: Global Preparedness. International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, Vienna 2007

4)Urata S, Noda T, Morikawa S, Kawaoka Y, and Yasuda J : Cellular and Viral Requirements for Marburg Virus Budding. 5th ASM biodefense and emerging diseases research meeting, Washington DC, 2007

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, and Hashizume S : Investigation into the Protection Mechanisms of Attenuated Smallpox Vaccine LC16m8. 5th ASM biodefense and emerging diseases research meeting, Washington DC, 2007

6)Yokote H, Kanehara T, Satou A, Nagai C, Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, and Hashizume S : Establishment of PRNT Method for Smallpox Vaccines. 5th ASM biodefense and emerging diseases research meeting, Washington DC, 2007

7)Saijo M. Cytokine responses in monkeys infected with monkeypox virus. xSAMPLES Japan seminar, Yokohama, May 2007

8)Saijo M. Diagnostic systems for VHFs developed in NIID, Japan. The 1st US-Japan Biodefence Meeting, Washington DC, June 2007

9)Saijo M. Highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, lacking B5R membrane protein expression, protects monkeys from monkeypox. The 1st US-Japan Biodefence Meeting, Washington DC, June 2007

10)Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Iwata N, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Kurata T, and Morikawa S : Therapeutic vaccination with a highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, for protection of nonhuman primates from monkeypox: 41st annual meeting of the US-Japan Cooperative Medical Science, Baltimore (2007. 7)

11)Nukui, Y., Tajima, S., Lim, C.K., Nerome, R., Takasaki, T., Kurane, I.: Definition of major determinant responsible for neurovirulence of Japanese encephalitis virus. 56th Annual meeting American society of tropical medicine and hygiene. Philadelphia, November 4-8, 2007.

12)Lim, C.K., Takasaki, T., Kotaki, A., Ishikawa, T., Kurane, I. Mouse Antibody Response to novel Vero-Cell-derived Inactivated Human West Nile Vaccine for Immunization against West Nile virus. 第 41 回日米医学ウイルス性疾患専門部会 2007 年 7 月

13)Moi, M.L., Lim, C.K., Takasaki, T., Kurane, I. Role of Fc-gamma II receptor in antibody dependant enhancement of dengue viral infection. 第 3 回デングウイルス研究ネットワーク会議 2007 年 8 月

14)N Inoue, Nozawa, S Koyano, Y Yamamoto, Y Inami, H Yan, I Kurane. Development of a filter paper-based real-time PCR assay for newborn CMV screening programs. 11th International CMV & Betaherpesvirus Workshop, Touluse, France, May 13-17, 2007.

15)Ando S., Shigemastsu M., Sakata A. And Sugiyama K. Survey of public health laboratories in Japan
Asia Conference on Laboratory Biosafety and Biosecurity, Thailand, Bangkok, 2007 April 17-19

16)Shigematsu M., Gaudioso J., Ando S. and Sugiyama K. Self-assesment questionnaire tool for facility Biosecurity. Asia Conference on Laboratory Biosafety and Biosecurity, Thailand, Bangkok, 2007 April 17-19

17)Ando S., Shigematsu M., Sakata A., Sugiyama K. Current Status and Strategy on Biosafety of Public Health Laboratories in Japan. Japan-Taiwan Symposium on Influenza Control and Biosafety,
Tokyo, Sept. 6-7, 2007

18)Ando,S., Shigematsu,M., Shimazaki,N., Ikebe,T., Obuchi,M., Terashima,J., Sugiyama,K., Sata,T. Problem and Confusion of Infectious Substance Transport in Japan. 3rd Asia-Pacific Biosafety Conference,2008 Mar, バンコク

19)Shigematsu,M., Caskey,S., Gaudioso,J., Ando,S. Biosecurity self-assessment tool trial run in Japan. 3rd Asia-Pacific Biosafety Conference, 2008 Mar, バンコク

2. 国内学会

1)木原悠希・佐藤朝光・酒井宏治・江下優樹・宮田健・鹿志毛信広・見明史雄・水谷哲也 「未知の蚊媒介性ウイルス検出を目的とした Whole genome amplification の応用」、第 59 回日本衛生動物学会大会、大阪、2007 年 4 月

2)西條政幸「アジアにおけるクリミア・コンゴ出血熱の流行と感染リスク因子」第 27 回日本医学会総会, 大阪, 2007 年 4 月

3)西條政幸「アシクロビル（ACV）耐性ウイルス性チミジンリン酸化酵素欠損 HSV-1 は ACV 感受性 HSV-1 とともに再活性化する」第 17 回抗ウイルス療法研究会, 高松, 2007 年 5 月.

4)水谷哲也「SASR-CoV や West Nile virus など新興・再興感染症の新規同定方法と実験動物の活用」(シンポジウム)第 54 回 日本実験動物学会総会　2007 年 6 月　東京

5)前田健、本道栄一、寺川純平、木曽康郎、水谷哲也、遠藤大二、安本　茂「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」第 22 回ヘルペスウイルス研究会、2007 年 6 月(福岡)

6)前田健、本道栄一、寺川純平、木曽康郎、水谷哲也、酒井宏治、遠藤大二、「オオコウモリ由来新規アデノウイルスの分離と同定」第 23 回中国四国ウイルス研究会、2007 年 6 月（愛媛）

7)西條政幸「ウイルス性出血熱とその対策」岐阜赤十字病院講習会，岐阜市，2007 年 6 月

8)西條政幸「ウイルス性出血熱：バイオセーフティーレベル 4(BSL4)病原体と封じ込めレベル 4（P4）研究所での仕事を語る」みちのくウイルス塾，仙台，2007 年 7 月

9)西條政幸「国立感染症研究所における新興ウイルス感染症対策と感染動物実験」第 4 回北海道実験動物研究会, 札幌，2007 年 7 月

10)水谷哲也、木原悠希、佐藤朝光、江下優樹、酒井宏治、高崎智彦、小滝徹、遠藤大二、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂「新興、再興ウイルスの網羅的検出方法、蚊媒介ウイルスへの応用」第 144 回日本獣医学会学術集会、江別、2007 年 9 月

11)酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、遠藤大二、岡村雅史、中村政幸、竹原一明、倉根一郎、森川茂「改良網羅的ウイルスゲノム検出方法を用いた鳥由来ウイルスの同定」第 144 回日本獣医学会学術集会、江別、2007 年 9 月

12)佐藤朝光、木原悠希、江下優樹、酒井宏治、見明史雄、牛島廣治、高崎智彦、小滝　徹、遠藤大二、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川　茂、水谷哲也「ウイルスの網羅的検出方法、RDV 法による蚊媒介性 RNA ウイルスの検出」ペスチウイルス研究会、北海道札幌市、2007 年 10 月 20 日

13)木原悠希、佐藤朝光、酒井宏治、江下優樹、宮田健、鹿志毛信広、見明史雄、水谷哲也「Rapid Determina-tion of Viral RNA Sequence（RDV）法による蚊媒介性 RNA ウイルスの検出」第 60 回日本寄生虫学会南日本支部大会・第 57 回日本衛生動物学会南日本支部大会・合同大会。熊本市、2007 年 10 月

14)佐藤朝光、江下優樹、酒井宏治、見明史雄、牛島廣治、高崎智彦、小滝徹、遠藤大二、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂、水谷哲也「タイで採集されたネッタイシマカからの RDV 法による RNA ウイルスの検出」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

15)水谷哲也、西村秀一、酒井宏治、前田健、清水博之、遠藤大二、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂「新興ウイルス感染症の網羅的検出方法の確立と応用」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

16)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、飯塚愛恵、酒井宏治、佐多徹太郎、倉根一郎、森川茂「高病原性コンゴ盆地型サル痘ウイルス（MPXV）と低病原性西アフリカ型MPXV の鑑別可能な定量的PCR法による MPXV 感染症の診断」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

17)前田健、本道栄一、安本茂、遠藤大二、森川茂、水谷哲也「コウモリ由来ウイルスの分離・増殖のための新規培養細胞の樹立とその応用」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

18)酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、遠藤大二、倉根一郎、森川茂「網羅的ウイルスゲノ

ム検出方法を用いたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）の同定」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

19)石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲朗、田代眞人、田口文広「高度弱毒化ワクチニアウイルス DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

20)福士秀悦、前田健、平井明香、新倉綾、山田靖子、横山勝、吉川泰弘、水谷哲也、酒井宏治、西條政幸、倉根一郎、森川茂「コウモリ由来 ACE2 を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

21)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「SARS-CoV 感染動物モデルにおける加齢による免疫応答の相違」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

22)西條政幸「Wiskott-Aldrich 症候群患者における単純ヘルペスウイルス 1 型感染症の経過：薬剤耐性感染症、潜伏感染、そして、再活性化」第 55 回日本ウイルス学会・学術集会，札幌，2007 年 10 月

23)福士秀悦、前田健、平井明香、新倉綾、山田靖子、横山勝、吉川泰弘、水谷哲也、酒井宏治、西條政幸、倉根一郎、森川茂 「コウモリ由来 ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析」 第７回ヒトと動物の共通感染症研究会学術集会、東京、2007 年 11 月

24)西條政幸、網康至、永田典代、長谷川秀樹、福士秀悦、水谷哲也、飯塚愛恵、佐多徹太郎、倉田毅、倉根一郎、森川茂「高度弱毒化天然痘ワクチン LC16m8 の暴露後使用時の天然痘予防効果：霊長類におけるサル痘モデルによる検討」第 11 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、平成 19 年 12 月

25)石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲朗、田代眞人、田口文広「高度弱毒化ワクチニアウイルス DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討」第 11 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、平成 19 年 12 月

26)松本武久，上條加寿恵，山本典生，高谷大輔，佐藤万仁，大貫裕之，倉根一郎，西條政幸，竹田－志鷹真由子，廣田洋，梅山秀明，森川茂，山本直樹，横山茂之 SARS コロナウイルス（SARS-CoV） 3CL-Pro タンパク質の立体構造に基づく抗ウイルス感染症薬候補化合物の探索. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会の合同大会，横浜、平成 19 年 12 月

27)水谷　哲也　「Whole Transcriptome Amplification キット：RNA 解析の新戦略（ランチョンセミナー）」第 30 回日本分子生物学会　2007 年 12 月　神奈川

28)酒井宏治・水谷哲也・福士秀悦・西條政幸・緒方もも子・飯塚愛恵・遠藤大二・池郁生・倉根一郎・森川茂　「リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）M1 株の遺伝子配列と分子系統学的解析」、第 145 回日本獣医学会学術集会、相模原、2008 年 3 月

29)遠藤大二，奥島順子，　水谷哲也，酒井宏治，　森川茂，林　正信「TA プライマー: 多種ウイルス同時検出のための新たな degenerated プライマーの設計方法」 第 145 回日本獣医学会学術集会，相模原、2008 年 3 月

30)田島茂、貫井陽子、根路銘令子、高崎智彦、倉根一郎：Genotype 間キメラウイルスを用いた日本脳炎ウイルスの性状解析　第４２回日本脳炎ウイルス生態学研究会　石川県白山市　2007 年 5 月 18-19 日

31)田島茂、高崎智彦、倉根一郎：デング１型ウイルス NS1 糖鎖付加部位変異がウイルス複製に及ぼす影響　第５５回日本ウイルス学会学術集会　札幌市　2007 年 10 月 21-23 日

32)貫井陽子、田島茂、根路銘令子、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎：日本脳炎ウイルスの病原性を規定するウイルス因子の同定.

33)田島茂、貫井陽子、高崎智彦、倉根一郎：７０年代および９０年代に分離された３型日本脳炎ウイルスの性状分析　第１４回トガ･フラビ･ペスチウイルス研究会　札幌市　2007 年 10 月 20 日

34)貫井陽子，田島　茂，林　昌宏，高崎智彦，倉根一郎：日本脳炎ウイルス Genotype shift の生物学的意義，第 81 回日本感染症学会 2007 年 4 月

35)井本淳一，石川知弘，山中敦史，小西美佐子，村上賢二，林　昌宏，濱野正敬，高崎智彦，宇田川晴英，向田嘉宏，小西英二：ブタ流産予防を目的とした日本脳炎 DNA/蛋白ワクチン混合投与法及び針無投与法の併用効果, 第 42 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 2007 年 5 月

36)高崎智彦, 林　昌宏, 小滝　徹, 水野泰孝, 加藤康幸，工藤宏一郎，渡邉香奈子，倉根一郎：チクングニヤ熱輸入 2 症例と実験室診断法，第 42 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 2007 年 5 月

37)貫井陽子，田島　茂，根路銘令子，林　昌宏，高崎智彦，倉根一郎：日本脳炎ウイルスの病原性を規定するウイルス因子の同定, 第 12 回日本神経感染症学会 2007 年 10 月

38)モイ　メンリン，林　昌宏，高崎智彦，倉根一郎：デング出血熱における Fc γ IIA（CD32）受容体を介した抗体依存性感染増強（ADE）メカニズムの解析，第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月

39)貫井陽子，田島　茂，根路銘令子，林　昌宏，高崎智彦，倉根一郎：日本脳炎ウイルスの病原性を規定するウイルス因子の同定，第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月

40)井本淳一，石川知弘，山中敦史，小西美佐子，村上賢二，林　昌宏，濱野正敬，高崎智彦，小西英二：ブタにおける日本脳炎 DNA/蛋白ワクチン混合針無投与法の有用性評価，第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月

41)林　昌宏，高崎智彦，小滝　徹，モイ　メンリン，伊藤美佳子，倉根一郎：チクングニヤ熱輸入症例患者血清より日本で初めて分離されたチクングニヤウイルスの性状解析，第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月

42)大松勉、倉根一郎、高崎智彦：IgG capture ELISA 法を用いたベネズエラウマ脳炎診断法の確立．第 14 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会　北海道　2007 年 10 月 20 日

43)渡辺俊平、大松勉、上田直也、加藤健太郎、遠矢幸伸、吉川泰弘、明石博臣：オオコウモリを用いた Yokose virus の感染実験　第 55 回日本ウイルス学会、北海道　2007 年 10 月 21－23 日

44)古谷野伸、井上直樹、長森恒久、浅沼秀臣　先天性サイトメガロウイルス感染マススクリーニングのパイロット調査（第 1 報）第 55 回日本ウイルス学会　札幌　2007 年 10 月 21 日-23 日

45)井上直樹、小杉伊三夫、倉根一郎　レポーター細胞株を用いたスクリーニングにより同定した新規抗サイトメガロウイルス（CMV）薬候補化合物 146F7 は感染初期過程を阻害する。第 55 回日本ウイルス学会　札幌 2007 年 10 月 21 日-23 日

46)飯島義雄,田中忍,貫名正文,伊藤正寛,春田恒和,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 81 回日本感染症学会総会,京都市,平成 19 年 4 月 10－11 日

47)和田耕一郎,上原慎也,狩山玲子,門田晃一,松本章,公文裕巳,村尾航,藤原道久,福士秀人,安藤秀二,小川基彦,岸本寿男,津川正也:男性尿道円及び子宮頚管炎患者から高頻度に分離される Chlamydophila caviae 類似株の臨床的検討.第 81 回日本感染症学会総会,京都市,平成 19 年 4 月 10－11 日

48)安藤秀二:2006 年 12 月公布の改正感染症(特に病原体取扱規制）について解説.第 15 回ダニと疾患のインターフェース　宮崎市,平成 19 年 5 月 25 日～27 日

49)安藤秀二:国内のリケッチア感染症検査について.第 15 回ダニと疾患のインターフェース　宮崎市,平成 19 年 5 月 25 日～27 日

50)岸本寿男,安藤秀二,山崎勉,沼崎啓,尾内一信,田中敏博,中浜力:肺炎クラミジアの血清診断における「ヒタザイム C.ニューモニエ Ab-IgM」の診断基準の見直し.第 55 回日本化学療法学会総会,仙台市,平成 19 年 6 月 1－2 日

51)安藤秀二:事故・災害時のバイオセーフティ，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，平成 19 年 6 月 21 日

52)安藤秀二:国内のリケッチア症の状況と実験室診断の課題，衛生微生物技術協議会第 28 回研究会，岡山市,平成 19 年 7 月 5 日-6 日

53)山本正悟,岩切章,三浦美穂,御供田陸代,本田俊郎,千々和勝己,石橋哲也,小河正雄,平野学,原健志,船津丸貞幸,松尾,藤田博巳,片山丘,古屋由美子,田原研司,大瀬戸光明,安藤秀二,川端寛樹,岸本壽男:九州地域におけるリケッチア症（つつが虫病・日本紅斑熱）の発生状況と疫学的特徴衛生微生物技術協議会第 28 回研究会,岡山市,平成 19 年 7 月 5 日-6 日

54)田原研司,保科 健,高尾信一,島津幸枝,葛谷光隆,藤井理津志,松本尚美,近藤玲子,大瀬戸光明,山本保男,千屋誠造,山内健生,山本正悟,片山丘,古屋由美子,新井 智,川端寛樹,安藤秀二,高野 愛,藤田博己,矢野泰弘,高田伸弘:中国・四国地域におけるリケッチア症（つつが虫病・日本紅斑熱）の発生状況と疫学的特徴衛生微生物技術協議会第 28 回研究会,岡山市,平成 19 年 7 月 5 日-6 日

55)松井珠乃,佐藤弘,岡部信彦,安藤秀二,岸本寿男,尹 浩信,坂崎善門,瀬戸山充,成田博実: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と，2005 年における診断・報告の現状.第 5 回南九州地区合同皮膚科地方会,鹿児島市，平成 19 年 7 月 14～15 日

56)安藤秀二:感染症研究におけるフィールド調査の重要性．静岡県立大学大学院月例セミナー．静岡市,平成 19 年 7 月 9 日

57)安藤秀二:バイオセーフティの実際 I．ソフト面．平成 19 年度バイオセーフティ技術講習会主任管理者コース,東京平成 19 年 9 月 5 日

58)安藤秀二,坂田明子,高野愛,川端寛樹,藤田博己,宇根有美,五箇公一,岸本寿男:爬虫類寄生ダニ類からのリケッチアの検出.第 54 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 北日本支部合同大会,平成 19 年 9 月 21 日,仙台市

59)高野愛,安藤秀二,坂田明子,岸本寿男,倉根一郎,渡邉治雄,鶴見みや古,仲村昇,佐藤文男,高橋守,中村豊,福長将仁,藤田博己,川端寛樹:Carios 属ダニの病原体ベクターとしてのリスク評価．第 54 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 北日本支部合同大会,平成 19 年 9 月 21 日,仙台市

60)藤田博己,安藤秀二,川端寛樹:福島市の山林におけるタネガタマダニの紅斑熱群リケッチア保有状況調査．第 54 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 北日本支部合同大会,平成 19 年 9 月 21 日,仙台市

61)内山恒夫,小川基彦,鎌田和弥,八町和樹,倉根一郎,足立昭夫：リケッチア種間のミトコンドリアプロセシングペプチダーゼ相同遺伝子の比較解析,第 55 回日本ウイルス学会,札幌,平成 19 年 10 月 21 日-23 日

62)安藤秀二:輸入動物に見るマダニと病原体.第 62 回日本衛生動物学会西日本支部大会シンポジウム特別発言．平成 19 年 10 月 21 日，大津市

63)山内健生,小原真弓,長谷川澄代,堀元栄詞,岩井雅恵,林美貴子,米田豊,安藤秀二,堀田和,城石将幸,出村尚子,松浦涼子,廣瀬修,渡辺護:富山県の平野部における感染症媒介蚊の生息調査(2003 年～2007 年)．第 62 回日本衛生動物学会西日本支部大会．平成 19 年 10 月 21 日,大津市

64)野村彩朱,矢野竹男,内田浩二,中尾義喜,安藤秀二,岸本寿男,大屋賢司,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の臨床応用．第 25 回日本クラミジア研究会・第 14 回リケッチア研究会合同研究発表会．平成 19 年 10 月 27 日～28 日，東京

65)花岡希,安藤秀二,坂田明子,川端寛樹,高野愛，岸本寿男,倉根一郎:PCR 法を用いたリケッチア症病原体検出法の改良－コンタミネーション防止のためのポジティブコントロール作製－．第 25 回日本クラミジア研究会・第 14 回リケッチア研究会合同研究発表会．平成 19 年 10 月 27 日～28 日,東京

66)松井珠乃,佐藤弘,岡部信彦,安藤秀二,岸本寿男,山本正悟:宮崎県の内科標榜医療機関を対象としたつつが虫病・日本紅斑熱サーベイランスの認知度および報告状況.第 25 回日本クラミジア研究会・第 14 回リケッチア研究会合同研究発表会．平成 19 年 10 月 27 日～28 日,東京

67)岸本寿男,安藤秀二,沼崎啓,尾内一信,山崎勉,中浜力:肺炎クラミジア血清診断法研究会．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」の新たな判定基準の提唱．第 25 回日本クラミジア研究会・第 14 回リケッチア研究会合同研究発表会．平成 19 年 10 月 27 日～28 日,東京

68)岸本寿男,安藤秀二,沼崎啓,尾内一信,山崎勉,中浜力: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. 第 56 回日本感染症学会東日本地方総会・第 54 回日本化学療法学会合同学会. 平成 10 年 10 月 26 日～27 日,東京

69)内山恒夫,小川基彦,岸真帆美,岸本寿男,倉根一郎,足立昭夫：リケッチア感染の宿主特異性,第 14 回リケッチア研究会,東京,平成 19 年 10 月 27 日-28 日

70)安藤秀二:バイオセーフティ概論. 第 19 年度後期バイオセーフティ技術講習会基礎コース. 平成 19 年 11 月 19 日,東京

71)鶴見みや古,尾崎清明,藤田博己,川端寛樹,安藤秀二,高橋守:鳥類標識調査における外部寄生虫採集調査. 第 22 回日本鳥類標識協会全国大会,2007 年 12 月 16 日,東京

72)安藤秀二:法改正に伴う病原体管理の現状と課題. 平成 19 年度希少感染症技術研修会, 平成 20 年 2 月, 東京

73)安藤秀二:感染症患者の検体の取り扱いと病原体診断に関わる輸送の注意点. 第23回日本環境感染学会, 平成 20 年 2 月, 長崎市

74)内山恒夫,小川基彦：リケッチア感染性保存に及ぼす糖の効果,第 81 回日本細菌学会,京都,平成 20 年 3 月 24 日-26 日

2．ウ イ ル ス 第 二 部

部 長　脇 田　隆 字

概　要

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

第１室の最重要課題は経口生ポリオワクチンの検定、検査である。本年は小分製品１件およびバルク１件の検定をおこなった。WHO 世界ポリオ根絶計画が進展し、国産不活化ポリオワクチン開発に協力するための研究を継続している。しかし、当面の間生ポリオワクチン検定も続くことが予想されるため、今後も全力をあげて対応していく。

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に関しては、全国地研との連携が確立し、感染研はレファランスセンターとしての機能を良く果たしている。前年度に比較するとノロウイルスの流行はやや落ち着いたが引き続き警戒が必要である。ノロウイルスの研究では､待望のリバースジェネティクス実験系が開発された。今後の進展が大いに期待される。またサポウイルスの研究も進んでいる。

Ｅ型肝炎ウイルスの研究は新たな局面を迎えつつある。ウイルス培養系の確立によりウイルスの感染増殖機構の詳細な解析が可能となった。

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。今年度はオーストラリアで、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を行った。さらに、野生株ポリオウイルス実験室封じ込め活動を進めた。野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階調査報告書を WHO 西太平洋地域ポリオ根絶認定委員会に提出した。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は順調に進み、ウイルスのライフサイクルに関する新たな知見が得られている｡予防的ワクチンの開発のための基礎研究も進んだ。さらにＢ型肝炎ウイルスに関する研究も重点をおいて実施している。また、肝炎ウイルスに関するホームページを立ち上げた。

第５室の最重要課題はＡ型及びＢ型肝炎ワクチンの検定、検査である。本年はＡ型肝炎ワクチン２件、Ｂ型肝炎ワクチン 10 件の検定をおこなった。また、検定 SOP の整備を行った。

各室で以下のような国際的技術協力をおこなった。

1．劉　蘭軍(中国、成都市疾病予防控制センター) <笹川フェロー> 平成 19 年 4 月 1 日～平成 20 年 3 月 31 日､E 型肝炎ウイルスの分子ウイルイス学とワクチン研究

2．呉　芳姿（台湾・疾病予防センター）＜台湾疾病予防センターフェロー＞　平成 19 年 8 月 19 日～19 年 9 月 8 日、下痢症ウイルスの同定と診断

3．タイラー・シャープ（米国ベイラー医科大学分子ウイルス細菌学講座、メアリー・エステス研究室、JSPS サマープログラム)平成 19 年 6 月 19 日～8 月 20 日、ノロウイルス非構造蛋白質 p22 (3A-like protein) の性状と機能の解析

4．Nguyan Thi Hien Thanh (ベトナム、HIHE) <JSPSフェロー> 平成19年8月8日～平成19年9月4日、エンテロウイルス感染症の血清疫学および分子疫学に関する研究

5．Rifqiyah Nur Umami (インドネシア、RIPI) < JSPS フェロー> 平成 19 年 10 月 10 日～平成 20 年 1 月 18 日、インドネシアで伝播しているエンテロウイルスの検出・同定法の研究

6．Andi Utama (インドネシア、RIPI) < JSPS フェロー>

平成 19 年 12 月 20 日～平成 19 年 12 月 26 日、インドネシアで伝播しているエンテロウイルスの検出・同定法の研究

7. Guan Jing (中国、新疆自治区疾病予防控制センター) <JICA フェロー> 平成 20 年 1 月 21 日～平成 20 年 4 月 18 日、ポリオウイルス実験室診断に関する技術研修
8. Yang DongMei (中国、中国疾病予防控制センター) <JICA フェロー> 平成 20 年 1 月 21 日～平成 20 年 4 月 18 日、ポリオウイルスおよびエンテロウイルス実験室診断および分子疫学解析に関する技術研修
9. Bruce Thorley (オーストラリア、VIDRL) <HS フェロー> 平成 20 年 1 月 25 日～平成 20 年 2 月 29 日、オーストラリアで分離されたポリオウイルスの神経病原性の解析

人事面では勝二郁夫第３室長が神戸大学微生物学教室に転出し（平成 19 年 10 月 1 日)、米山徹夫第５室長が平成 20 年 3 月末をもって定年退官となった。勝二先生および米山先生のこれまでの貢献に深謝したい。また、長期出張中であった下池貴志主任研究官が米国スタンフォード大学より（平成 19 年 5 月)、片山和彦主任研究官は米国ベイラー大学より（平成 19 年 6 月)、鈴木亮介研究員は米国テキサス大学ガルベストン校より（平成 20 年 3 月）それぞれ帰国した。

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）ユニークなゲノム末端配列を有するノロウイルス株 HK299 の解析

キャプシド N/S 領域を用いた分子系統解析で、新たなゲノグループクラスターに分別されたノロウイルス株 HK299 は、マウスノロウイルスと同じアミノ酸配列 MRM をゲノム末端、キャプシド末端に有するユニークな株である。121 株のカリシウイルスの完全長ゲノム塩基配列を用いて、HK299 と他のノロウイルス株との関係を調べたところ、ヒトノロウイルス、ゲノグループ II に分別された。次にノロウイルスにコードされている３つの ORF 別に分子系統解析を行ったところ、ORF2 では新しいゲノグループに分別されたが、ORF1 と ORF3 では、ゲノグループ II に分別されることが明らかとなった。HK 299 は、ノロウイルスでよく知られている ORF1-2 ジャンクション以外に ORF2-3 ジャンクション領域に組換え部位を持つ可能性がある。HK299 は、ノロウイルスにおけるゲノグループ間組換えの可能性を持つ初めての株である。

[片山和彦、鈴木義幸（国立遺伝学研究所)、ハンスマン・グラント、岡智一郎、小澤一弘（中部衛生検査センター)、武田直和]

（２）ノロウイルスの培養細胞への結合の解析

ノロウイルスのレセプターの探索を目指し、培養細胞へのノロウイルス VLPs の結合、細胞への取り込みを蛍光免疫染色法、共焦点レーザー顕微鏡観察、継時的なウエスタンブロッティングによって検出した。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。共焦点レーザー顕微鏡観察において、微絨毛株の細胞内部、細胞基底面近傍の細胞内部に VLPs のシグナルが検出され、VLPs の細胞内侵入が示唆された。VLPs 添加後 6 時間おきの継時的なウエスタンブロッティングでは、VLPs の形成する約 60kDa のキャプシド蛋白質が細胞への侵入後、時間経過に伴って分解され低分子量化することが観察された。現在、更に細胞への侵入を明らかにするため、Stanporation（細胞に微細な穴を開け、蛋白質を細胞内に導入する技術)を用いて VLPs を直接細胞内に送り込み、比較検討を行っている。サポウイルス VLPs についても同様に結合性、細胞への侵入を検討している。

[松田　幹、村上耕介（名古屋大)、ハンスマン・グラント、岡智一郎、片山和彦、武田直和]

（３）ノロウイルスプロトタイプ RNA の感染性に関する研究

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より、抽出した NoV ゲノム RNA を培養細胞に導入すると自己増殖し、培養上清中にウイルス様粒子を放出することを昨年報告した。本年度は、培養細胞表面にノロウイルスが結合することが知られている糖鎖抗原を FUT2 遺伝子導入によって細胞に発現させ、NoV 感染細胞を増加させることを試みた。NoV 粒子の再感染を免疫蛍光抗体法で調べた。FUT2 遺伝子を導入した細胞への NoV-VLPs の結合増加は確認されたが、NoV 粒子の感染による蛍光シグナルの増加は認められなかった。培養上清中に放出される粒子に内包された NoV ゲノム RNA のタイターの増加も認められな

かった。ノロウイルスの細胞への侵入には、糖鎖抗原以外の分子、レセプターが関与する可能性がある。今後、Stamporation の技術を用いて、ウイルス粒子を直接細胞内部に送り込み、ノロウイルスの増殖の検討を行う予定である。
[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]

（4）ノロウイルス（NoV） GII/3 U201 株のリバースジェネティックスシステムを用いたレポーター遺伝子内包シュードウイルスの作成

昨年、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ため、ノロウイルス GII/3 U201 株の完全長 cDNA を用いたリバースジェネティックスシステムを構築した。このシステムは NoV ゲノム RNA を内包した粒子を産生可能であった。そこで、非構造蛋白質領域（NTPase と 3A-like protein）の間に GFP 遺伝子を組み込んだコンストラクト pKSF203 を作成し、GFP 遺伝子を内包した粒子の作成を試みた。pKSF203 を導入した細胞は、ウイルスの全ての非構造蛋白質および構造蛋白質を効率よく発現した。さらに、構造蛋白質の発現も確認された。培養上清には遺伝子導入後 36 時間をピークに約 10^6copies/ml の GFP が組み込まれたウイルスゲノムを内包した粒子が観察された。培養上清中のウイルス粒子から抽出した RNA を培養細胞に導入したところ、強い GFP シグナルが観察された。本システムを用いて、GFP 遺伝子を有し自己複製可能なゲノム RNA を内包した人工ウイルスの作成に成功した。人工ウイルスは NoV の細胞への侵入機構の解析、レプリケーションのモニターに有用である。
[片山和彦、岡智一郎、スサーナ・ギックス、タイラー・シャープ、メアリー・エステス]

（5）ノロウイルス非構造蛋白質(3A-like protein:p22)の性状と機能の解析

ノロウイルスの非構造蛋白質の一つである p22 は、ゲノム上の配置がポリオウイルスの 3A protein に相当するため、3A-like protein とも呼ばれている。しかし、NoV とポリオウイルスの 3A-like protein のアミノ酸ホモロジーが低い事に加え、その機能に関する報告はない。P22 の機能を明らかにするため、GFP-p22 の融合蛋白質を細胞内で発現させ、その挙動を調べた。P22 は、トランスゴルジに局在し、特徴的な顆粒状の構造を呈した。ノロウイルス GI と GII の p22 のアミノ酸配列を比較検討し、全てのノロウイルスに共通して認められる ESDG 配列を見出した。そこで p22 のミュータジェネシスを行い、細胞内局在を検討した結果、ESDG 配列は、局在に必須なトランスメンブレンドメインであることが明らかとなった。また、p22 は膜輸送をになう蛋白質である COPII と細胞内局在が一致することから、p22 はホスト細胞の膜輸送をコントロールしている可能性がある。
[タイラー・シャープ、片山和彦、岡智一郎、スサーナ・ギックス、メアリー・エステス]

（6）ノロウイルスの細胞傷害性の解析

非構造蛋白質領域（NTPase と 3A-like protein）の間に GFP 遺伝子を組み込んだコンストラクト pKSF203 を用いてノロウイルス非構造蛋白質の細胞内発現を 48 時間のタイムラプスを行って観察した。非構造蛋白質の発現は、pKSF203 トランスフェクション後 15 時間から観察された。非構造蛋白質の高発現が認められた細胞には強い CPE が誘導され、発現後約 8 時間で細胞死に至った。細胞傷害性に関与する非構造蛋白質の部位を明らかにするため、6 種類の非構造蛋白質を EF1α プロモータ下流にクローニングした発現プラスミドを作成し、個別に細胞内に導入して細胞傷害性を観察した。Protease を導入した細胞は導入後 12 時間から核の萎縮が観察され、アポトーシスによる細胞死が観察された。N-terminal protein, NTPase, 3A-like protein にも細胞傷害性の誘導能があることが示唆された。今後、これらの蛋白質による細胞死誘導の機序について研究を進める予定である。
[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]

（7）組換えバキュロウイルス発現系を用いた VPg 内包したノロウイルス VLPs の作成

ノロウイルスの構造蛋白質 VP1, 2 を組み込んだ組換えバキュロウイルスと、非構造蛋白質 VPg を組み込んだ組換えバキュロウイルスを昆虫細胞 Sf9 に共感染させ、VLPs を作出すると、比重 1.32g/ml を示す VLPs と、通常の VLPs と同じ比重 1.28-30g/ml を示す VLPs が産生された。VLPs の精製後、VPg のモノクローナル抗体を用いたウエスタンブロッティングで VLPs を調べたところ、比重 1.32g/ml の VLPs にのみ VPg のシグナルが確認された。構造蛋白質と VPg を個別に発現させ、発現蛋白質を混合した後、VLPs の比重を調べると、比重

1.28-30g/ml の VLPs のみが観察された。また、この粒子から VPg のシグナルは検出されなかった。以上の結果から、比重 1.32g/ml の VLPs には、VPg が内包されている可能性がある。今後、VPg に GFP 等の蛍光蛋白質を融合させ、レポーターを内包した VLPs の大量作成を試みる予定である。
[片山和彦、ウェイ・リン、スサーナ・ギックス、タイラー・シャープ、メアリー・エステス]

（8）カリシウイルスファミリーのサブデータベースの構築

世界 3 大データベース上のノロウイルス、サポウイルスの塩基配列は、日々更新され、現在 10000 を越える塩基配列が報告されている。今後も日々増加していくことが予想される。そこで、これらのデータベース上からノロウイルス、サポウイルスを含むカリシウイルスファミリーを網羅したサブデータベースを構築し、塩基配列情報の有効活用を促進することを試みた。DDBJ よりカリシウイルスの塩基配列を、オートピックアッププログラムにより、ピックアップし、カリシウェブ（CaliciWeb site, http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calici/modules/news/）上にサブデータベースを構築した。DDBJ に新規登録されたカリシウイルスの塩基配列情報は、上記オートパイロットプログラムにより、毎日、自動更新される。

また、検索ウインドウを用い、目的の塩基配列に素早くアクセスできるプログラムの運用も始まった。今後、ページデザインのリファインと共に、分子系統解析ツールへのアクセスを可能とするリンクの作成などを行う予定である。
[片山和彦、三瀬敬治（札幌医大）、染谷雄一、武田直和]

（9）ノロウイルスのリファレンスシーケンスとジェノタイピング法のアップデート

ノロウイルスの分子系統解析は、日本国内では主に我々の提唱した方法に基づき、キャプシドの N/S 領域の約 300 塩基の核酸配列を用いて行われている。しかし、米国 CDC、ヨーロッパのグループはそれぞれ、別のタイピング方法を提唱しており、混沌とした状態に陥っている。そこで、それぞれの方法で共通に用いられている株の配列を基準配列としてリストアップし、分子系統解析に利用可能な基準配列ファイルを作成し、CaliciWeb にアップした。また、それぞれのタイピング法におけるジェノタイプナンバー対応表と、それぞれのタイピング法の解説を IASR および CaliciWeb にアップした。更に、最新の分子系統解析法をインタラクティブなムービーとしてまとめ、CaliciWeb 上にアップした。
[片山和彦、三瀬敬治（札幌医大）、染谷雄一、武田直和]

（１０）ノロウイルス 3CD 前駆体タンパク質の立体構造解析

ノロウイルス Chiba407 株に由来する 3C 様プロテアーゼの立体構造はすでに明らかになっている。3C 領域に続く 3D RNA 依存性 RNA ポリメラーゼは、3CD 前駆体が更なるプロテアーゼ消化を受けることにより生成することが種々の実験で示唆されている。また、3C と 3CD とでプロテアーゼの性質が代わるという報告もある。3CD 前駆体の立体構造を解明し、3C および 3D の立体構造と比較することは、それぞれの機能を考える上で興味深い。現在、3CD の精製、結晶化を試みている。
[染谷雄一、武田直和、熊坂　崇（(財)高輝度光科学研究センター）]

（１１）ノロウイルス 3C 様プロテアーゼの網羅的変異導入解析

ノロウイルス Chiba407 株に由来する 3C 様プロテアーゼを構成するアミノ酸残基（Gly、Ala 以外）を個々に Ala に置換し、プロテアーゼ活性への影響を見た。その結果、Ala 置換により活性を消失するアミノ酸残基は、プロテアーゼ活性発現に必須の His30 と Cys139 のほか、Trp6, Arg8, Trp16, Leu86, Lys88, Arg89, Leu95, Leu97, Met101, Gln117, Leu121, Thr134, Asp138, Tyr143, Val144, His157, Val167 であった。Thr134, Tyr143, His157 は基質認識に関わり、そのほかの多くの残基は活性中心近傍に位置することが立体構造から示された。
[染谷雄一、武田直和]

（１２）NoV と血液型抗原との結合：H 抗原へ結合の解析

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、NoV の組織特異性に関与している可能性もある。NoV が H 抗原におけるタイプ間の構造の差を認識しているかどうかを検討するために、7 種類の Multivalent 合成糖鎖、Fucα1-2Galβ1-3GlcNAcβ-R1 (H type 1)、Fucα1-2Galβ1-4GlcNAcβ-R1 (H type 2) 、

Fucα1-2Galβ1-3GalNAcα-R1 (H type 3)、Galβ1-3GlcNAcβ-R1 (type 1)、Galβ1-4GlcNAcβ-R1 (type 2)、Galβ1-3GalNAcα-R1 (type 3)、Fucα1-2Galβ-R1 (H(di)) (R1, polyacrylamide with biotin)と VLPs との結合を ELISA にて検出した。VLPs は遺伝子群Ⅰ(GI)に属する 5 遺伝子型から 5 株、遺伝子Ⅱ(GII)に属する 8 遺伝子型から 11 株、計 13 遺伝子型 16 株を用いた。その結果、GI 3 株、GII 6 株が H type 1、H type 2、H type 3 のいずれかと結合した。これら 9 株について H 抗原の前駆体、type 1、type 2、type 3 との結合を解析した結果、9 株とも前駆体とは結合しなかった。また、9 株中 7 株は、タイプ毎に異なる結合強度を示し、H 抗原におけるタイプ間の構造の差を認識していた。残り 2 株はいずれのタイプにも強く結合したが、その結合も、H(di)において弱くなり、前述の 7 株同様、H 抗原におけるタイプ間の構造の差を認識していた。

[白土東子、石井孝司、脇田隆字、武田直和]

(１３) NoV と血液型抗原との結合：A、B 抗原へ結合の解析

NoV が A, B 抗原におけるタイプ間の構造の差を認識しているかどうかを検討するために、4 種類の Monovalent 合成糖鎖、GalNAcα1-3(Fucα1-2)Galβ1-3GlcNAcβ1-3Galβ1-R2 (A type 1)、Galα1-3(Fucα1-2)Galβ1-3GlcNAcβ1-3Galβ1-R2 (B type 1)、GalNAcα1-3(Fucα1-2)Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-R2 (A type 2)、Galα1-3(Fucα1-2)Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-R2 (B type 2) (R2, biotin) と VLPs との結合を Biacore および ELISA にて検出した。VLPs は上記(1)と同じ 13 遺伝子型 16 株を用いた。その結果、16 株中、6 株の糖鎖結合を Biacore にて検出することが出来た。A 抗原に結合した 6 株はいずれも、その結合速度は type 1 より type 2 の方が高く、B 抗原に結合した 2 株もその結合速度は type 1 より type 2 の方が高かった。しかし、解離の速度は type 1 の方が低く、ウイルス-糖鎖複合体の安定性は type 1 の方が高かった。以上の結果より、NoV は、A、B 抗原のタイプ間の違いを認識していることが明らかとなった。タイプ 1 は NoV が感染の標的とする小腸上皮に発現している。血液型抗原が NoV の組織指向性を左右している可能性がある。

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

(１４) 紫外線照射による Noroviruses 不活化の検討-5

昨年までは 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 法で検査したが、紫外線不活化効果が得られたため本年度は別の県において実機に紫外線照射装置を設置して実態調査を行なった。山陰地方の F 県の下水処理施設に装置を設置し昨年と同様紫外線を約 70mJ/cm2 及び 100mJ/cm2 照射前後のサンプルを採水し検査を行なった。昨年迄と同様流入水中の Noroviruses 遺伝子レベルは 200N500copies/L と低レベルであったが、75 ミリジュールの紫外線照射後は全く検出されなかった。我々が推奨している紫外線照射量で Noroviruses 不活化効果が確認できた。

[宇田川悦子]

(１５) High-resolution melting (HRM) analysis を用いたノロウイルス遺伝子検出法の検討

NV の遺伝子型 GI 型 (GI/3, GI/4, GI/8, GI/9) 及び GII 型 (GII/3, GII/4, GII/10) の合計 7 種類のプラスミドを作成し、ﾛｯｼｭの Rt-PCR 装置を用いて定量用コントロール・プラスミド標準品と比較・検討を行った。検査した GI 遺伝子型のプラスミドについて 1×10^{7} copes/tube から 10 copes/tube の範囲内でサイクル数に比例した DNA 量の増幅曲線が得られた。縦軸に PCR サイクル数をとった検量線においても直線性はコントロール･プラスミド標準品の結果と良く一致した。GII 型においても同様の結果が得られた。今後更に患者材料などを用いた検討を行なう予定である。

[宇田川悦子、原　正幸 (北里環境科学センター)]

(１６) 国内で分離されたマウスノロウイルスのゲノム解析

2006 年に日本国内のマウスの糞便から初めて分離されたマウスノロウイルスのゲノム塩基配列を決定した。この株は培養細胞での増殖が可能であることから、ヒトのノロウイルス研究のモデルとして有用である。

[岡智一郎、片山和彦、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)、武田直和]

２．サポウイルス（SaV）に関する研究

(１）散発性胃腸炎糞便中のサポウイルスの解析（熊本）

2002 年 4 月から 2007 年 3 月に熊本県内の２つの小児科に急性胃腸炎の症状で受診した外来患者糞便 417 検体について、nested RT-PCR 法、および real-time RT-PCR 法によるサポウイルスの検出、解析を行い、30 検体(7.2%)でサポウイルス陽性となった。検出されたサポウイルスは Ggenogroup Ⅰが 17 株,II が 10 株,V が 3 株で、ウイルス排泄量は糞便 1g 中 $1.8x10^{5}$～ $4.2x10^{10}$ コピーであった。今回の解析により、この地域におけるサポウイルスの検出率が 2005 年以降漸増傾向にあること､散発事例糞便中ウイルス排泄量は、集団発生事例糞便中のウイルス排泄量と同レベルであることが明らかとなった。

[原田誠也（熊本県保健環境科学研究所)、岡田峰幸（千葉県衛生研究所)、岡智一郎、Hansman S. Grant、片山和彦、武田直和]

（２）サポウイルス集団発生事例の解析（北海道）

2007 年 5 月に北海道の社会福祉施設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 Genogroup II で、ウイルス排泄量は糞便 1g 中 $5.2x10^{6}$～$2.9x10^{9}$ コピーであった。感染パターンから、この事例はヒトーヒト感染である可能性が示唆され、サポウイルスもノロウイルスと同様の伝播経路で感染が拡がると考えられた。

[石田勢津子、吉澄志磨、三好正浩、奥井登代、岡野素彦（北海道立衛生研究所)、岡智一郎、Hansman S. Grant、片山和彦、武田直和]

（３）サポウイルスの培養細胞への結合の解析

サポ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、まず培養細胞へのサポウイルス virus-like particles (VLPs)の結合を蛍光免疫染色法で検出した。サポウイルス VLPs は、ノロウイルス VLPs が結合する分化した Caco2 細胞には、結合しないことが示された。ノロウイルスとサポウイルスでは異なる細胞表面因子が結合に関与している可能性が示唆された。

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

（４）サポウイルス株間の抗原多様性に関する研究

サポウイルスの抗原多様性を検討する目的で、同一 genogroup で異なる genotype に属するサポウイルス株 (Mc10、C12、Syd53、Mc2)の VLPs を哺乳動物細胞で発現させた。さらに Mc10 株、C12 株 VLPs に対する抗体を作成し、ELISA 法によってこれらの２つの株の抗原性が異なることを示した。サポウイルスもノロウイルスと同様、抗原的に多様であることが示された。

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

（５）サポウイルス粒子形成機構の解析

サポウイルスの構造タンパク質は他のカリシウイルス同様、サブゲノムから翻訳されると考えられている。しかしサポウイルスの open reading frame 1 には構造タンパク質が非構造タンパク質とともに in-frame でコードされており、自己プロテアーゼによってサブゲノム由来とほぼ同一サイズの構造タンパク質が生成する。従来、サポウイルスの VLPs 作成はサブゲノム領域を発現させることで行われてきた。今回、partial な ORF1 ポリプロテインを哺乳動物細胞で発現させ、ポリプロテインから切断された構造タンパク質もサブゲノム由来の構造タンパク質と同様に VLPs を形成できることを明らかにした。

[岡智一郎、山本真民、宮下佳奈、Hansman S. Grant、片山和彦、武田直和]

（６）サポウイルスプロテアーゼのトランス切断活性の検討

サポウイルスのプロテアーゼによる open reading frame 1 ポリプロテインの切断は主にシス（分子内）で起こると考えられている。今回、サポウイルスプロテアーゼのトランス（分子間）切断活性について検討した。プロテアーゼ活性を消失させたサポウイルス３株(GI Mc114 株、GII Mc10 株、GV NK24 株)の partial ORF1 ポリプロテイン (ProPol/VP1)を基質に、サポウイルス３株(GI Mc114 株、GII Mc10 株、GV NK24 株)の ORF1 ポリプロテインをプロテアーゼ供給源として作用させ、トランス切断活性を評価したところ、いずれの鋳型、プロテアーゼの組み合わせでも ProPol/VP1 間の切断が認められた。現在、

他の部位についてもトランス切断が起こるか検討を進めている。
[岡智一郎、片山和彦、武田直和]

（７）サポウイルスプロテアーゼの基質との結合モデルの構築

サポウイルスプロテアーゼの基質認識メカニズムを検討するため、統合計算化学システム MOE を用いて SaV プロテアーゼドメインの分子モデルを構築後、ASEDock2005 を用いて ORF1 ポリプロテイン切断部位６箇所それぞれの P4-P4’に対応する８残基とプロテアーゼドメインのドッキングモデルを作成した。この結果、基質認識に重要と考えられるプロテアーゼドメイン内部のアミノ酸残基を同定した。現在、これらのアミノ酸残基に変異を導入し、プロセッシングへの影響を検討している。
[横山　勝、佐藤裕徳、神田忠仁（病原体ゲノム解析センター）、岡智一郎、片山和彦、武田直和]

（８）Human Sapovirus in clams, Japan

Human sapovirus was detected in 4 of 57 clam packages by RT-PCR and sequence analysis. This represents the first finding of sapovirus contamination in food. More importantly, closely matching sequences have been detected in stool specimens from patients with gastroenteritis in Japan, indicating a possible food-to-human transmission link.
[Grant S. Hansman, Tomoichiro Oka, Reiko Okamoto, Tomoko Nishida, Shoichi Toda, Mamoru Noda, Daisuke Sano, You Ueki, Takahiro Imai, Tatsuo Omura, Osamu Nishio, Hirokazu Kimura, and Naokazu Takeda]

（９）Outbreak of gastroenteritis due to Sapovirus

An outbreak of gastroenteritis occurred at a kindergarten in Yokote City, Japan, between February and March 2006. Sapovirus was identified in 19 of 26 stool specimens by RT-PCR. A high viral shedding pattern was found for this strain, which was shown to be antigenically distinct from other genogroups.
[Grant S. Hansman, Hiroyuki Saito, Chihiro Shibata, Shizuko Ishizuka, Mitsuaki Oseto, Tomoichiro Oka, and Naokazu Takeda]

（１０）Recombinant Sapovirus gastroenteritis, Japan

We described two different sapovirus outbreaks of gastroenteritis in Hokkaido, Japan. Sequence analysis showed 9 sequences from the first outbreak (May 2000) had 100% nucleotide identity and likely represented the same sapovirus strain. Seven sequences from the second outbreak (December 2005) had 100% nucleotide identity and likely represented the same sapovirus strain, but were different from the first outbreak sequence. Importanly, these two different sapovirus strains were found to be different recombinant sapoviruses.
[Grant S. Hansman, Setsuko Ishida, Shima Yoshizumi, Masahiro Miyoshi, Tetsuya Ikeda, Tomoichiro Oka, and Naokazu Takeda]

（１１）Antigenic Diversity of Human Sapoviruses

We newly expressed sapovirus GII and GIV VLPs in order to compare the genetic and antigenic relationships among all human sapovirus genogroups. Hyperimmune antisera that were raised against the VLPs reacted strongly against the homologous VLPs. However, several antisera weakly cross-reacted against heterologous VLPs using an antibody ELISA. On the other hand, an antigen ELISA showed that the sapovirus VLPs belonging to all human genogroups were antigenically distinct. These findings provide evidence of a likely correspondence between the sapovirus antigenicity and VP1 genogrouping and genotyping.
[Grant S. Hansman, Tomoichiro Oka, Naomi Sakon, and Naokazu Takeda]

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)プロテアーゼのトランス切断活性

FCV のプロテアーゼは protease-polymerase (ProPol)

として存在する。このうち、プロテアーゼ活性発現に必須な最小領域が前半の 154 アミノ酸であることを明らかにしてきた。今回、FCV プロテアーゼのトランス切断活性を検討し、FCV の ORF1 ポリプロテイン、および構造タンパク質が、ORF1 ポリプロテイン由来のプロテアーゼにより、効率的にトランス切断されること、プロテアーゼ最小領域も同様のトランス切断活性を有することを明らかにした。

[岡智一郎、片山和彦、武田直和]

４．カリシウイルスに関する研究

（1）国内で分離されたラゴウイルスのゲノム解析および、全長クローンの作製

ラゴウイルスはカリシウイルス科に属し、サポウイルスと同様のゲノム構造を有する。今回、2002 年に北海道の動物園で飼育されていたウサギから分離されたウサギ出血病ウイルスのゲノム塩基配列を決定した。さらに、ORF1 ポリプロテインのプロセッシング産物の解析および、プロテアーゼ活性発現に重要なアミノ酸残基を検討する目的で、全長クローンを作製した。現在、プロテアーゼ活性発現に重要なアミノ酸残基の検討を行っている。

[岡智一郎、池田秀利、吉井雅晃、恒光　裕 (動物衛生研究所)、片山和彦、武田直和]

（2）カリシウイルスプロテアーゼの基質認識機構の共通性

カリシウイルスには４つの属（サポウイルス、ノロウイルス、ベジウイルス、ラゴウイルス）に分類される。カリシウイルスの複製、増殖には open reading frame 1 にコードされているウイルス自身のプロテアーゼが必須である。カリシウイルスプロテアーゼはいずれも特定のグルタミン酸もしくはグルタミンの直後を切断するが、これらのプロテアーゼの基質認識機構の共通性については不明な点が多い。今回、プロテアーゼ活性を消失させたサポウイルスの partial ORF1 ポリプロテイン (ProPol/VP1)を基質に、サポウイルス、ノロウイルス、ネコカリシウイルスの ORF1 ポリプロテインをプロテアーゼ供給源として作用させ、トランス切断活性を評価したところ、サポウイルスとネコカリシウイルスのプロテアーゼではサポウイルス ProPol/VP1 間のトランス切断が認められた。一方、ノロウイルスプロテアーゼはこの切断活性を示さなかった。これらの結果から、カリシウイルスプロテアーゼの基質認識機構（切断部位周辺アミノ酸の重要性、基質結合部位）は同一でないことが示された。

[岡智一郎、片山和彦、横山　勝、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析センター)、武田直和]

II．エンテロウイルスに関する研究

１．実験室診断およびレファレンス活動

（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。2007 年度は、エンテロウイルス単味抗血清 60 種類、コクサッキーA 群同定用 CF 腹水 2 セットを配布した。ポリオウイルスの同定および型内株鑑別検査を行政検査として実施した。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 共催)の開催

第 17 回ポリオ実験室診断技術研修会を実施した。研修期間は 2008 年 1 月 15 日～2 月 9 日 、研修参加者は、アルバニア、コートジボワール、エジプト、ガーナ、モンゴル、パキスタン、ナイジェリアから各 1 名の計 7 名の他、個別研修として中華人民共和国からの参加者 2 名の計 9 名であった。WHO ポリオ実験室ネットワークにおける国家ポリオ実験室に必要とされる、急性弛緩性麻痺サーベイランスにより得られた糞便検体からのポリオウイルス分離・同定に必要な技術習得のための講義及び実習を実施した。また、ポリオ根絶の現状と問題点を中心とした講義および討議を行った。本年度は、とくに、WHO ポリオ実験室ネットワークで現在導入がすすめられている、ポリオ実験室診断の迅速化について、WHO 専門家を交えた情報交換および討議を実施した。

（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 200 検体およびラオス 60 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、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。2007 年に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、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の解析結果から確認した。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）WHO Enterovirus Collaborating Center として、西太平洋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関する研究を行った。

エ）JICA エチオピア国ポリオ対策プロジェクトのフォローアップ調査のため、2007 年 5 月 14 日－5 月 25 日にかけて、エチオピア国立保健栄養研究所等を訪問し、ポリオ実験室の現状および問題点について評価を行ない、JICA への報告を行った。[清水博之]

オ）2007 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関する情報交換を行った。[清水博之]

カ）2006 年 12 月より開始した JICA 中国予防可能な疾患(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]

キ)中国 VPDs プロジェクトの後方支援として、中国 CDC、新疆 CDC より各 1 名、3 ヶ月間の研修を行った。[吉田弘、有田峰太郎、西村順裕、清水博之]

２．西太平洋地域の 2007 年のポリオウイルス分離状況

2007 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 260 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、2007 年以降 VDPV は分離されておらず、VDVD 伝播終息が確認された。ベトナム、オーストラリア等で 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関わる研究

（１）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、ポリオフリーの地域においても、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ことが示された。

[西村順裕、清水博之、脇田隆字、Bruce Thorley (VIDRL)]

（２）オーストラリアで分離されたポリオウイルスの病原性解析

オーストラリアで、AFP 患者等から分離されたポリオウイルスについて、TgPVR21 マウスを用いた神経病原性解析試験を実施した。ポリオウイルス分離株は、TgPVR21 マウス(1 群 6 匹)に脳内接種し、弛緩性麻痺等、神経症状の発現および致死的症状についての観察を、接種後 14 日間行った。各群投与群について、麻痺等の神経症状および死亡したマウスの匹数を確認し、PD_{50} 値を算出した。その結果、2002 年に分離された 3 型ワクチン関連ポリオウイルス株および 2007 年に分離された 1 型ポリオウイルス野生株は、対照としたポリオウイルス野生株と同等の高い神経病原性を示すことが明らかとなった。他の 2 株の 3 型ポリオウイルスは、ワクチン株と比較すると高い

が、野生株と比較すると低い、中程度の病原性を有していた。
[西村順裕、清水博之、Bruce Thorley (VIDRL)]

（３）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。ポリオ根絶後、Sabin 株 IPV 導入の必要性が指摘されており、経鼻接種は、新たな IPV 接種法としての可能性が期待できる。
[永田典代、長谷川秀樹、佐多徹太郎（感染病理部)、清水博之]

（４）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]

（５）中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。山東省ＣＤＣ、広東省ＣＤＣにおいて陰電荷膜を用いた水濃縮システムの導入を図った。２００８年２月よりサンプリングが開始され、ウイルスが分離されているところである。
[吉田　弘、帖佐　徹（国立国際医療センター）]

（６）不活化ウイルスを用いたポリオウイルス核酸検査標準品の評価

ポリオウイルス実験室ネットワークでは、RT-PCR や塩基配列解析試験の精度管理・品質管理のために、標準ウイルスや合成 RNA 断片等が用いられているが、海外への病原体送付の規制の厳格化にともない、長期間安定な非感染性核酸標準品が必要とされている。ポリオウイルスワクチン株(Sabin Ⅰ, Ⅱ および Ⅲ 株)を材料として、不活化ポリオウイルス NATatrol 標準品を作成して、ウイルス不活化の validation を行った。今後、各種条件での安定性等についての評価を実施する。
[清水博之]

４．エンテロウイルスおよびパレコ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。国内参照品の安定性を評価し、−80℃では少なくとも一年間は免疫原性が安定に保たれていることを確認した。また、低温凍結で長期にわたり性状が極めて安定である弱毒生ポリオ株が免疫原性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、小西恭子、岡　智一郎、染谷雄一、宇田川悦子、片山和彦、グラント・ハンスマン、武田直和、脇田隆字、須崎百合子、網　康至（動物管理室）]

2. エンテロウイルスおよびパレコウイルスに関する研究

（１）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、下島昌幸（東大医科研)、脇田隆字、清水博之]

（２）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)及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。3 種類の抗 EV71 化合物の標的部位について、薬剤耐性ウイルスを用いて解析し、作用部位を特定した。

[有田峰太郎、脇田隆字、清水博之]

（３）GW5074 の抗エンテロウイルス活性に関する解析

ウイルス疑似粒子を用いたスクリーニングにより、ポリオウイルス (PV)およびエンテロウイルス 71（EV71）の感染を阻害する化合物の探索を行い、Raf-1 阻害剤として知られる GW5074 を同定した。GW5074 の RD 細胞における PV および EV71 に対する IC_{50} は 2.7 uM および 2.0 uM であり、他の細胞株（HEp-2c およびマウス L20B 細胞）における PV に対する IC_{50} の値も同程度であった。GW5074 の存在下で PV および EV71 の経代を続けた結果、12 回の経代で GW5074 に対して耐性を示す変異株は分離されなかった。よって、GW5074 は宿主細胞もしくはウイルスタンパクの中で極めて保存された部位をターゲットとして、PV および EV71 の複製を阻害していることが示唆された。今後、GW5074 のウイルス複製阻害効果についてさらに解析を進める予定である。

[有田峰太郎、脇田隆字、清水博之]

（４）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。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。変異株の組織特異性は、ヒトおよびサルと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]

（５）CODEHOP 法による、糞便検体からのエンテロウイルス高感度検出の検討

近年、Nix らにより、エンテロウイルスの VP1 コード領域のゲノムを高感度に増幅する方法(VP1 CODEHOP PCR)が発表された。この方法を用いると、ウイルスを培養細胞で増やすことなく、便乳剤から直接の PCR により、VP1 遺伝子の増幅、シークエンス、ゲノタイピングができると思われる。そこで、便乳剤からの VP1 CODEHOP PCR がどの程度有効であるのか、基礎データの蓄積を試みた。その結果、細胞培養で頻繁に分離されるエンテロウイルスのみならず、コクサッキーウイルス A1 型、コクサッキーウイルス A19 型などの、細胞培養では増殖しないと報告されているエンテロウイルス群も多数検出された。このように、VP1 CODEHOP PCR は、培養細胞で増えないエンテロウイルスの検出および同定にも役立つことが確認できた。今後さらに検体数を増やし、未知のエンテロウイルスの検出・同定や疾病との関わりを調査していく予定である。

[西村順裕、Rifqiyah Nur Umami (LIPI)、Andi Utama(LIPI)、清水博之]

（６）インドネシアに伝播しているエンテロウイルス検出および同定法の研究

熱帯地方で伝播している腸管ウイルス病原体サーベイランスシステムの構築のため、エンテロウイルス病原体サーベイランス手法についての基礎的検討を実施した。糞便検体から、直接エンテロウイルス遺伝子を高感度に検出・同定する VP1 CODEHOP PCR により、インドネシア国内由来 82 検体の解析を行った。82 検体のうち 28 検体からエンテロウイルス遺伝子の検出・同定が可能であった (検出率 35%)。塩基配列および相同性解析によるエンテロウイルス同定の結果、ポリオウイルス 1 型 2 株を含む 14 種類の血清型のエンテロウイルスおよびライノウイルスが検出された。CODEHOP PCR によるエンテロウイルス同定は、腸管感染症の病原体サーベイランス手法として有用であり、ウイルス分離同定の設備が整備されていない研究室にも比較的容易に導入可能であった。また、インドネシアでは、多様な血清型・遺伝子型のエンテロウイルスが伝播していることが明らかとなった。

[Rifqiyah Nur Umami, Andi Utama (LIPI)、西村順裕、清水博之]

（７）上気道炎患者由来検体からの高感度エンテロウイルス検出法に関する検討

エンテロウイルスの検出・同定手法として、組織培養による分離・同定が行われてきた。しかし、検査に長時間を要し、さらに、培養細胞で分離困難なウイルスが存在するなどの問題点がある。培養細胞で分離困難なウイルス、特にコクサッキーウイルス A に属するウイルスは、乳呑みマウスを用いて分離同定が行われてきたが、培養細胞を用いた方法よりさらに煩雑である。臨床検体からの CODEHOP-PCR 法を用いたエンテロウイルス高感度検出法の比較検討を行うため、培養細胞を用いて上気道炎患者検体からのウイルス分離・同定を行った。上気道炎と診断された患者 157 名うち、49 名（31%）からエンテロウイルスが分離された。分離された 49 株のうち、48 ウイルスは HEV B に分類され、HEV A に属するウイルス 1 株は CV-A3 株であった。

[吾郷昌信（長崎県環境保健研究センター)、西村順裕、清水博之]

（８）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。ベトナム全土において、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、ベトナムの EV71 分離株の多くは 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。

[Nguyan Thi Hien Thanh (NIHE), Nguyen Thi Thanh Thao, Phan Van Tu (Pasteur Institute)、西村順裕、清水博之]

（９）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 人子供の子供からもエンテロウイルス 71 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]

（１０）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。パレコウイルス(HPeV)各血清型の伝播状況を把握するため、年齢別健康人血清を用いて HPeV1～3 型の抗体保有状況を解析した。HPeV1 型

の抗体保有率は平均 93%で、HPeV3 型は 72%であった。HPeV1 型と HPeV3 型は国内に広く蔓延している可能性があり、乳幼児期に不顕性感染していることも示唆された。HPeV2 型の抗体保有率は平均 21%と低く、6 歳から 15 歳までの抗体保有率は 36.5%で乳幼児期の不顕性感染が推測されるが、15 歳から 50 歳未満の抗体保有率は 10%と低く、HPeV2 伝播は少なくなってきているものと考えられた。

[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

野生株ポリオウイルス実験室封じ込め活動は、世界的基準に基づいた病原体管理体制の日本国内での構築および病原体管理体制の外部評価システム確立のためのモデルとして重要である。2000～2007年にかけて実施された複数の野生株ポリオウイルス保有施設調査手法についての質的評価を行い、各調査結果の確認、照合、統合作業を実施し、最終的な保有施設リストをデータベース化した。これまでに実施された複数のポリオウイルス保有施設調査の評価・再集計により作成された野生株ポリオウイルス保有施設リストに基づいて、野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階調査報告書(ドラフト)を作成し、2007年12月に開催されたWHO西太平洋地域ポリオ根絶認定委員会に提出した。今後、WHO西太平洋地域事務局、地域ポリオ根絶認定委員会、専門家委員会等により、報告書の外部評価が行われる予定である。

[清水博之、宮村達男]

（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。1990～2006 年に公表された、ポリオウイルス関連原著論文により抽出した 121 施設のうち、電話聞き取り調査およびアンケート調査によって、回答者 107 名のうち、計 16 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。回答 62 施設中 17 施設が、過去、他のルートによるポリオウイルス保有調査を受けた経験がないと回答し、19 施設は過去の調査について不明と回答したことから、今回の捕捉調査は、保有施設調査の精度向上に寄与すると考えられた。半数の研究施設 (8/16 施設) が、今後適切な要請があれば、野生株ポリオウイルスを廃棄する予定があると回答した。不要なポリオウイルス感染性材料の適切な方法による廃棄は、今後の封じ込め対策にとって重要な課題となる。

[清水博之、宮村達男、小松俊彦、ルナール純子、斎藤真紀 (バイオメディカルサイエンス研究会)]

（３）野生株ポリオウイルス実験室封じ込め活動に関する WHO との協議

2007 年 9 月、WHO 西太平洋地域の野生株ポリオウイルス実験室封じ込め活動の担当者と、今後の野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階調査に関する方針についての打合せを実施した。我が国の野生株ポリオウイルス実験室封じ込め活動の現状に対する WHO 専門家による主要な勧告は以下の通りである。1)日本での、これまでの調査活動・調査結果を活用することにより、早急に第一段階調査を完了させる必要がある。2)WHO ガイドラインに基づいて、これまでの各種調査結果を評価し行動計画を策定する。3)各種調査結果の質的評価により、外部評価に相応しい調査精度を保証する。

[清水博之、宮村達男]

６． その他

（１）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 6 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。輸送中のサンプルの保管状況などが影響してウイルス粒子が壊れ観察が出来なくなる事が毎年起こっており今後の課題として大きく取り上げられた。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、Lars Muller (Robert Koch-Institut)]

（２）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-3（最終年度）

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。最終年の本年度は、インフルエンザウイルス、Vaccinia Virus、SARS コロナウイルス、ヘルペスウイルスの 6 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ホルマリンで不活化を行い、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４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。種々の問題点が明らかとなり今後の行政対応指針の資料となった。
[宇田川悦子、小倉　肇（岡山県環境保健センター）]

（３）電顕観察用染色液の検討

日立ハイテクノロジーズとの共同研究で、従来使用している酢酸ウラン染色液の代用となりうる染色液の検討を行なった。酢酸ウランは放射能管理規定で厳しく管理されている染色液で通常の検査法としては一般の検査機関等での使用が困難となってきている。このため、同じような染色効果を期待して白金ブルーの検討を行なった。白金ブルーは病理組織の染色液として近年その使用が多用されて来ているので我々も検討を試みたが、残念ながら従来の酢酸ウラン染色やリンタングステン染色法と比較してウイルス粒子の検出効率が悪く実用に耐えられない事が判明した。今後更に別の染色液を検討することとする。
[宇田川悦子]

（４）HCV NS5A 蛋白質と Amphiphysin II の相互作用

HCV の NS5A 蛋白質は細胞内で小胞状膜構造を形成し、その膜上に局在する。Amphiphysin II は脂質二重膜の湾曲度センサーとして機能する蛋白質で、エンンドサイトーシスでの小胞形成に関与する。両蛋白質は、NS5A のプロリンが豊富な領域と Amphiphysin 2 の SH3 ドメインで相互作用することが報告されている。この相互作用の生物学的意義について解析を行っている。
[西村順裕、岡本　徹、森石恆司、松浦善治（阪大微研）]

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（継続）

日本で認可されている A 型肝炎ワクチンが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。ボランティア数 22 名（男性 13 名、女性 9 名、年齢 23-56 歳、平均 41.9 歳）について初回と半年後の２回接種を行い、抗体陽転率及び抗体価を測定した。抗体陽転率は 100%、抗体価の平均値は 1866mIU/ml であった。これは通常の３回接種で得られる陽転率、抗体価と同等であり、国産の A 型肝炎ワクチンも外国の A 型肝炎ワクチン同様、２回接種で十分な抗体誘導能を示すことが明らかになった。
[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 ELISA キットとリアルタイム PCR の比較

当室で作製した in-house ELISA キットを用いて臨床検体中の抗 HAVIgM 抗体を測定した。使用した血清 19 検体は同時期に糞便検体も採取されており、リアルタイム PCR によって糞便中の HAV genome のコピー数が明らかになっている。IgM 抗体陽性の血清検体は糞便中の HAV genome が陽性であった。抗体量とコピー数は相関しなかった。これは、HAV が糞便中に排出される時期と抗体が上昇する時期が一致しないためと考えられる。
[清原知子、佐藤知子、米山徹夫]

（３）臨床検体を使った HAV の RT-LAMP 法の評価

LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification)法は迅速、廉価で、特別な器械がなくてもアッセイが可能な

ことから、フィールドでの使用が拡大しつつある。臨床検体を使い我々が先に確立したHAVのRT-LAMP法の評価を行った。 臨床検体(糞便36, 血清16)を使い、市販のHAVの定量キット（LightCyclerを使用したRT-PCR法）と成績を比較した。その結果、HAVのRT-LAMP法は市販のRT-PCR法とほぼ同等の検出感度であったが、定量性に問題があることが示された。
[米山徹夫、下池貴志、清原知子、戸塚敦子、佐藤知子、嶋崎典子（バイオセーフティ管理室）]

（４）A型肝炎ウイルス(HAV)産生能の安定したGL37細胞の確立

GL37細胞はHAV増殖に適したAGMK由来株化細胞であるが、細胞継代歴が20数代を超えるとHAV産生速度が低下し、定量結果が一定せず研究にさしつかえる現状であった。この不安定性が細胞培養液中の牛胎児血清ロット差や非動化処理などによるかどうか検討したが、結果が一定せず関係は認められなかった。継代初期に凍結保存した細胞をリカバー時に8分割して別々に継代保存した。1系列のみ継代40代まで安定してHAVフォーカスが検出され、今後の研究材料として適することが確かめられた。
[戸塚敦子、清原知子、米山徹夫]

（５）検定試薬の変更（継続）

A型肝炎ワクチン3ロット、B型肝炎ワクチン６ロットについて現行の標識抗体と新しい標識抗体（BIOSOURCE AMI4404）を用いてELISAを行い、OD値、力価について相関を検討した。全ロットに於いてOD値の相関係数は0.9以上を示し、力価もお互いに95%信頼限界内であった。この結果を踏まえて今年度中に検定に使用する標識抗体をBIOSOURCE AMI4404に変更する。
[清原知子、佐藤知子、戸塚敦子、米山徹夫]

２．B型肝炎ウイルス（HBV）に関する研究

（１）HBVと糖鎖の相互作用の解析

HBV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。HBVゲノム遺伝子型Aクローン1.24ゲノムコピー長（4.0 kb）を組み込んだプラスミドを、ヒト肝癌細胞株Huh-7へトランスフェクションすることにより、HBVを持続産生する細胞株を作製した。培養上清を硫安沈殿により濃縮した後、ショ糖密度勾配遠心を行い、得られたHBs抗原分画を用いて、糖鎖アレイ及び糖鎖固定化金ナノ粒子により結合糖鎖を解析している。
[松田麻未、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２）B型劇症肝炎患者のウイルス遺伝子解析

一般に、HBV遺伝子型Aの感染例では、肝炎の重症化は稀であると考えられている。慈恵医大病院において遺伝子型AのB型肝炎で劇症様重症肝炎の経過を示し、抗ウイルス薬非感受性の症例を認めたので、HBVゲノムの遺伝子解析を行っている。
[相崎英樹、斉藤勝也（慈恵医大）、松浦知和（慈恵医大）、鈴木哲朗、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によるコア蛋白質量が調節され、HCV粒子産生を制御する分子機構を詳細に検討している。
[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。
[大崎一直、勝二郁夫、村上恭子、下地　徹]

（４）HCV core 蛋白と E6AP 結合に対する RNA の影響

HCV コア蛋白はヌクレオカプシド蛋白でウイルスゲノム RNA と結合する。E6AP と HCV コア蛋白の相互作用に対する RNA の影響を解析した。
[大崎一直、勝二郁夫、村上恭子、脇田隆字]

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

Heterogeneous huclear ribonucleoprotein H1(hnRNP H1), hnRNP H2 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、村上恭子、勝二郁夫、大崎一直、高宮智史、市村　徹（防衛大学校)、奈須純一、下地　徹、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 RNA recognition motif (RRM)のひとつが関与していることが示された。
[阿部克俊、村上恭子、勝二郁夫、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、村上恭子、勝二郁夫、高宮智史、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字]

（８）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、高宮智史、小池和彦（東大感染症内科)、脇田隆字]

（９）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。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、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、木村敬郎、高宮智史、大崎一直、鈴木哲朗、脇田隆字]

（１２）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、用いた血球系細胞では HCV RNA 複製に必要な宿主因子で欠けているものがあることが示唆された。
[村上恭子、勝二郁夫、脇田隆字]

（１３）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、大崎一直、勝二郁夫、脇田隆字]

（１４）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]

（１５）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。また、inhibitor を用いた実験で、感染性粒子の産生量が inhibitor 存在下で減少し、inhibitor を除去すると回復することを確認した。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、木村敬郎、大崎一直、脇田隆字]

（１６）HCV 粒子形成に関与する新規宿主因子の検索

HCV Con-1 からなる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]

（１７）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（感染症情報センター）、多屋馨子（感染症情報センター）、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、脇田隆字]

（１８）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、木村敬郎、大崎一直、高宮智史]

（１９）HCV 粒子形成に関与する新規宿主因子の検索

HCV Con-1 からなる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。この FABP のノックダウンにより培養上清の感染価が約 2 倍に増加した。また、レプリコンを用いた実験から、RNA 複製への影響はほとんどないことを確認した。

[村上恭子、吉崎佐矢香、松田麻未、勝二郁夫、木村敬郎、鈴木哲朗、宮村達男、脇田隆字]

（２０）HCV 粒子脂質成分のウイルス感染における役割

HCV 感染細胞の培養上清から粗精製した HCV 粒子に含まれる脂質を生化学的に解析した結果、HCV 粒子は細胞膜分画に比べコレステロールに富むことが示された。また、HCV 粒子をコレステロール除去剤あるいはスフィンゴミエリン分解酵素で処理することにより感染性、特に細胞内への侵入効率が顕著に低下することから、HCV 粒子表面上のコレステロール、スフィンゴ脂質が感染初期過程に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、井上　寧、谷　英樹（大阪大微研）、松浦善治（大阪大微研）、斎藤恭子（細胞化学部）、深澤征義（細胞化学部）、花田賢太郎（細胞化学部）、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２１）HCV 感染における細胞表面脂質の役割

種々のエンベロープウイルスで、標的細胞への結合あるいは融合過程において細胞膜の脂質成分が重要な役割を果たしていることが知られているが、HCV の感染過程における細胞膜脂質の役割についての詳細な報告はない。そこで、HCV 感染における標的細胞表面の脂質の役割を調べている。あらかじめ細胞表面上のコレステロールを除去あるいはスフィンゴ脂質を加水分解しておいた細胞では HCV 感染性は有意に低下した。感染過程における糖脂質の関与についても解析中である。

[相崎英樹、 原　弘道、森川賢一、深澤征義（細胞化学部)、花田賢太郎（細胞化学部)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２２）コレステロール合成阻害剤による HCV 産生阻害効果の解析

これまで我々は、HCV の生活環の粒子形成、感染、複製などにおいて脂質が重要な役割を果たしていることを示してきた。そこで、HCV 持続感染細胞に各種コレステロール合成阻害剤を添加したところ、血清非存在下において濃度依存的なウイルス産生阻害効果が認められた。これらの薬剤は既に高脂血症治療薬として臨床で使用されているものであり、またウイルス酵素活性等に対する直接的な阻害作用を持たないため耐性ウイルスが出現しにくい可能性がある。既存の抗 HCV 薬との併用により治療効果の向上が期待できる。

[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２３）HCV、日本脳炎ウイルス（JEV)、水泡性口内炎ウイルス（VSV）におけるウイルス粒子成熟過程の比較解析

エンベロープウイルス粒子は小胞体、ゴルジ体、細胞膜などの生体膜を被り出芽してくるものと考えられが、HCV 粒子の出芽、成熟過程の分子機構は解明されていない。そこで、HCV 粒子と共存する宿主膜蛋白について、近縁ウイルスまた生活環のよく知られているウイルス（JEV、VSV）との比較解析を行った。HCV は、近縁の JEV よりむしろ VSV に類似した、生体膜由来蛋白を含有していた。

[相崎英樹、原　弘道、森川賢一、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２４）蛋白輸送阻害剤を用いた HCV 粒子成熟化のメカニズム解析

HCV 成熟過程の分子機構を明らかにするため、各細胞内輸送経路に対する種々の阻害剤を HCV 感染細胞に添加し、ウイルス粒子形成、細胞外への分泌に及ぼす影響を解析している。これまでのところ、Nocodazole、Nordihydroguaiaretic acid 、 Carbonyl cyanide 3-chlorophenylthydrazone などによって感染性ウイルスの産生低下が認められた。現在、阻害剤を処理した感染細胞を各膜分画に分離し、それぞれに存在する HCV 粒子の性状と感染性の解析を行っている。

[相崎英樹、原　弘道、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２５）HCV NS3 ヘリカーゼ領域のウイルス複製、ウイルス分泌における役割

HCV の NS3 ヘリカーゼ領域は、ウイルスゲノム複製およびウイルス粒子の分泌に重要である。NS3 ヘリカーゼ領域内のどの部分がこれらの役割を担っているのかを調べるために、JFH-1 株と J6CF 株間の様々なキメラウイルスを作製し HCV RNA 複製、粒子産生を比較した。その結果、JFH-1 株の NS3 ヘリカーゼ領域の N 末端側の領域が効率の良い RNA 複製に重要であり、また、J6CF 株の NS3 ヘリカーゼ領域の N 末端側の領域は効率の良いウイルス粒子の分泌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、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２６）HCV 粒子形成に関わる NS5A 領域の解析

RNA 複製に影響を与えずに HCV 粒子の形成を制御する NS5A の C 末端領域を同定した。この領域のセリンクラスターを変異させたところ、RNA 複製は変化せずに basal phosphorylation の低下、感染性 HCV 粒子の形成障害が認められた。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]

（２７)HCV 粒子形成における NS5A/コア蛋白間相互作用の役割

NS5A とコア蛋白の相互作用を免疫沈降法で明らかに

した。また、NS5A/コア蛋白間相互作用と HCV 粒子形成との間に正の相関性を見出した。免疫細胞染色及び細胞分画解析においても NS5A とコア蛋白の共局在が認められた。以上より、NS5A とコア蛋白の相互作用が粒子形成過程において重要であることが示された。
[政木隆博、鈴木亮介、村上恭子、相崎英樹、石井孝司、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２８）キャプシド形成における NS5A/コア蛋白間相互作用の役割

免疫沈降 RT-PCR 法により NS5A とコア蛋白の相互作用が HCV RNA とコア蛋白の結合に重要であることを見出した。変異体 NS5A の導入により NS5A とコア蛋白の相互作用を障害すると、HCV RNA とコア蛋白の結合が消失した。以上より、新生された HCV RNA と NS5A 複合体へコア蛋白が会合することがキャプシド形成の引き金になる可能性が考えられた。
[政木隆博、鈴木亮介、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（２９）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

HCV コア蛋白のセルフアセンブリー、RNA パッケージングには３ヶ所の塩基性アミノ酸クラスター (aa 6-14, 39-44, 59-72) が重要であり、感染性ウイルス産生系の解析から、aa 39-44(CL2)または aa 59-72(CL3)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示された。CL2 または CL3 の変異がコア蛋白と E1、NS5A との相互作用に及ぼす影響を解析中である。
[松田麻未、鈴木亮介、松浦善治（大阪大微研)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３０）HCV エンベロープ蛋白質 E1、E2 の結晶化

HCV E1、E2 の結晶化を目指し、N 末端に分泌配列を付加し、更に膜領域を欠失させた分泌型 E1、E2 の発現系を構築した。E1、E2 発現ベクターを 293 細胞に遺伝子導入し一過性発現を解析したところ、E1 は発現量が低かったため、現在、持続発現系の作製を行っている。E2 は高発現し、培養上清中への分泌が認められた。予備的な E2 精製実験を行ったところ高純度(90%以上)の E2 を得た。大量発現、精製、更に結晶化を行う予定である。
[渡邉則幸、村山麻子、赤澤大輔、朝長充則、伊達朋子、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３１）HCV 粒子侵入過程における E1、E2 糖鎖修飾の役割

レトロウイルスのエンベロープ蛋白質を HCV E1、E2 に置き換えた pseudo-particle を作製して、エンベロープの糖鎖が HCV の侵入過程においてにどのように影響するかを解析する。293 細胞、及び 293GnTI(-)細胞（主に高マンノース型の糖鎖修飾が行われる）を用いて、異なる糖鎖修飾を受けたエンベロープを含む pseudo-particle を作製した。現在、それぞれの細胞株から放出された pseudo-particle 量の測定系を構築している。
[渡邉則幸、村山麻子、赤澤大輔、朝長充則、伊達朋子、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３２）HCV エンベロープ蛋白と糖鎖の相互作用の解析

HCV 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、抗 FLAG 抗体カラムによって E1、E2 をアフィニティ精製した。糖脂質を中心とした 24 種類の糖鎖からなる糖鎖アレイを利用して精製 E2 と糖鎖との相互作用を解析したがこれまでのところ特異的な結合は観察されていない。
[松田麻未、石井孝司、堀内美樹博、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３３）HCV 生活環における小胞体関連蛋白分解（ERAD）の役割

分泌蛋白や膜蛋白など糖蛋白の多くは、付加されたマンノースのトリミングがシグナルとなりプロテアソーム系で選択的な分解を受ける。種々の糖鎖修飾阻害剤を用いた解析から、マンノシダーゼ活性へ介入することによりHCV産生レベルが変動することを見出しており、HCV粒子産生過程にERAD経路が関与する可能性を考えた。更にsiRNA解析から、ERAD関連分子のうちEDEM familyがHCV産生調節に関わることが示唆された。
[Saeed Mohsan、政木隆博、鈴木哲朗、渡邉治雄、脇田隆字]

（３４）HCV 遺伝子型に特徴的な RNA 複製メカニズムの解析

HCV 遺伝子型 1b では、脂質ラフトが存在する生体膜上で複製複合体が形成され、ウイルス RNA 複製が行われていることを報告している。一方、遺伝子型 2a（JFH-1）では、脂質ラフト形成を阻害するスフィンゴ脂質合成阻害剤によって RNA 複製の低下は認められなかった。RNA 複製におけるスフィンゴ脂質要求性が HCV 遺伝子型間あるいは株間で異なる可能性を考え、遺伝子型 1b 及び 2a 由来 HCV レプリコンの比較解析を進めている。

[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（細胞化学部)、深澤征義（細胞化学部)、花田賢太郎（細胞化学部)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（３５）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群を選択し、siRNA による loss-of-function screening を行った。Hsc70, cathepsin D, creatine kinase B (CKB)等に対する siRNA において、サブゲノムレプリコンの RNA 複製が 50%以下まで低下した。これらのうち CKB および TRiC/CCT に注目して 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]

（３６）分子シャペロン CCT/TRiC による HCV RNA 複製調節機構

HCV 複製複合体分画に含まれる宿主因子として 8 種類のサブユニットからなる分子シャペロン CCT/TRiC の subunit 2, 3, 5 が同定され、さらにレプリコン細胞における高複製期と低複製期の比較解析から、HCV ゲノム複製機構に関与する宿主蛋白として CCT subunit 5 が同定された。強制発現、ノックダウン解析から CCT/TRiC が HCV RNA 複製を正に調節すること、免疫沈降-ウエスタンブロット解析から、NS5B 蛋白は aa 71-591 領域を介して CCT/TRiC と相互作用することが見出された。更に、Cell Free 複製系において HCV 複製能が抗 TRiC 抗体によって阻害されることが示された。CCT/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]

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

HCV 複製複合体を構成する宿主因子として、細胞内の ATP 輸送、ATP/ADP 濃度調節に働く CKB を同定した。遺伝子型 1b 及び 2a 由来の HCV レプリコン細胞において、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 CKB が HCV RNA 複製調節に関与することが明らかとなった。さらに、セミインタクト細胞を用いた HCV replicase アッセイ系において、CKB 添加により HCV 複製が亢進されることを見出した。

[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]

（３８）CKB と HCV 非構造蛋白との相互作用

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た免疫沈降／ウエスタンブロット解析により、CKB は NS4A 蛋白と相互作用することが見出された。この相互作用に関わる CKB、NS4A 領域を同定した。また、NS4A 結合部位の欠損により CKB の複製への影響が低下することから、CKB-NS4A 相互作用が HCV RNA 複製に重要であることが示された。

[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]

（３９）CKB が HCV NS3 酵素活性へ及ぼす影響

NS4A は NS3 と結合し、NS3 酵素活性の補因子として働く。そこで、CKB が NS4A との結合を介して NS3 のプロテアーゼまたはヘリカーゼの活性に影響を及ぼすかどうかを検討した。精製 NS3-4A, CKB を用いたアッセイ系によ

る解析で、CKB は NS3 セリンプロテアーゼ活性に影響しない反面、NS3 ヘリカーゼ活性を亢進させた。CKB は、NS3 ヘリカーゼ活性を高めることにより HCV 複製調節に働く可能性が示された。
[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]

（４０）HCV RNA 複製における protein phosphatase 2Cε (PP2Cε)の役割

HCV のゲノム複製、粒子産生が NS5A のリン酸化によって制御される可能性が考えられる。PP2Cεが HCV RNA 複製に及ぼす影響を HCV JFH-1 株(遺伝子型 2a)の subgenomic reporter replicon を用いて解析した。PP2Cεの過剰発現により HCV RNA 複製が約 1/2 に低下した（48 時間後)。今後は PP2Cεの過剰発現、knock down が NS5A のリン酸化、HCV 粒子産生に与える影響を解析する予定である。
[政木隆博、花田賢太郎（細胞化学部)、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４１）感染性ウイルス粒子を分泌する HCV 全長遺伝子レプリコン細胞の樹立

HCV JFH-1 株の全長遺伝子の上流にネオマイシン耐性遺伝子を挿入することにより全長 HCV 遺伝子を持つレプリコンを樹立した。レプリコン遺伝子を Huh7 細胞に導入し、G418 による薬剤選択培養を行うことにより、レプリコン複製細胞を樹立した。この細胞では 230 日の長期培養でも全長遺伝子の維持が可能であり、その培養上清を naïve な Huh7 細胞へ添加することにより、本細胞株から感染性 HCV が産生されることが示された。
[伊達朋子、宮本道子（東京都医学研究機構)、加藤孝宣（東芝病院)、森川賢一、村山麻子、赤澤大輔、田邊純一（東レ医薬研)、曽根三郎（東レ医薬研)、溝上雅史（名古屋市立大)、脇田隆字]

（４２）ヒト肝由来培養細胞における感染性 HCV 粒子の作製

Huh7 以外の培養細胞での感染性 HCV の作製を試み、HepG2 および IMY-N9 細胞に JFH-1 全長レプリコン RNA を導入したレプリコン細胞を作製した。これら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た。培養上清をショ糖密度勾配で分画したところ、Huh7 由来の粒子性状と異なるプロファイルを示した。異なる培養細胞で作製された HCV 粒子は、異なる性状を有する可能性がある。
[赤澤大輔、伊達朋子、森川賢一、村山麻子、尾見法昭、高橋　仁、白倉雅之、中村紀子（東レ医薬研)、望月英典（東レ医薬研)、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４３）ヒト肝外および非ヒト由来培養細胞における感染性 HCV 粒子の作製

ワクチン開発に有利と考えられる、ヒト肝外および非ヒト由来の培養細胞での感染性 HCV の作製を試みている。J6/JFH1 キメラ全長レプリコン RNA を導入したレプリコン細胞を作製し、その培養上清に感染性 HCV が分泌されるか否かを調べたところ、HeLa（ヒト子宮頸癌）および NIH3T3（マウス胎児皮膚）細胞で全長レプリコン細胞が樹立された。しかしながら、その培養上清の naïve Huh7 細胞に対しての感染性は確認できていない。今後、他の培養細胞株を用いて検討を行う。
[赤澤大輔、尾見法昭、高橋　仁、中村紀子(東レ医薬研)、望月英典(東レ医薬研)、伊達朋子、森川賢一、村山麻子、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４４）Pol I システムを用いた感染性 HCV 粒子の作製と HCV 粒子持続産生細胞株の樹立

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た。また、このプラスミドにゼオシン耐性遺伝子を導入し HCV 粒子持続産生細胞株を樹立した。この細胞株は抗 HCV 効果を有する薬剤のスクリーニングに有用であった。
[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]

（４５)HCV 遺伝子型 1b の構造蛋白を持つキメラウイルスの作製

HCV JFH-1 ゲノムの構造蛋白質領域を遺伝子型 1b TH 株に置き換えたキメラウイルス遺伝子を構築し、Huh7 細胞に導入して感染性 HCV を作製した。感染複製細胞の継

代培養を続け、HCV 産生レベルが上昇した時点の遺伝子解析を行ったところアミノ酸置換変異が認められた。この変異を野生型キメラ遺伝子に導入して、ウイルス複製、分泌、感染力価を測定した。この変異は野生型キメラウイルスと比較してウイルス分泌を上昇させる適応変異であり、感染力価には影響を及ぼさなかった。
[赤澤大輔、白倉雅之、尾見法昭、高橋　仁、中村紀子（東レ医薬研）、望月英典（東レ医薬研）、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４６）HCV の遺伝子型 2b/2a 間でのキメラウイルスの長期培養の解析

HCV の遺伝子型 2b/2a 間で作製したキメラ遺伝子を培養細胞に導入し、長期培養した結果、ある時点でウイルスの分泌量、培養上清の感染性ともに、急激に上昇した。また、ウイルス感染の広がるスピードも培養開始直後と比べると急激に早くなっていた。長期培養により導入されたウイルスゲノムの変異を調べた結果、同時に行った 4 系列の培養細胞から様々な変異が見つかったが、1 カ所だけ、共通した変異が存在した。
[村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４７）HCV の遺伝子型 2b/2a キメラウイルスの長期培養により導入された適合変異の解析

HCV の遺伝子型 2b/2a 間で作製したキメラ遺伝子を培養細胞に導入し、4 系列の細胞を長期培養した結果、コア蛋白質コード領域に１カ所の共通した変異が存在した。この変異を導入したウイルスゲノム RNA を作製し、培養細胞に導入したところ、変異がある場合は、感染性ウイルス粒子の培養上清中への分泌効率が上昇していた。しかし、ウイルスゲノムの複製能に変化はなかった。
[村山麻子、伊達朋子、赤澤大輔、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４８）HCV レプリコン保持細胞での HCV 構造領域の発現とウイルス様粒子（HCV-LP）形成

HCV RNA レプリコンを持つ Huh7 細胞に HCV の構造蛋白領域を発現させることで、レプリコンを粒子中に保持する HCV-LP が形成されるかを検討した。JFH-1 株のサブゲノムレプリコン細胞に JFH-1 の構造領域を発現するプラスミドを導入し、薬剤選択により恒常的に構造蛋白を発現する細胞株を樹立した。培養上清をショ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、この画分を電顕観察したところ HCV 粒子とほぼ同じ直径 50nm 程度の粒子が多数観察された。
[石井孝司、張　斌、李　津、鈴木亮介、鈴木哲朗、脇田隆字]

（４９）HCV-LP の感染性の検討

前項のように作製した HCV-LP が感染性を有する場合、感染後、細胞中にレプリコン RNA が導入され、レプリコン上の薬剤耐性遺伝子が細胞中で発現するため、感染細胞は薬剤耐性を獲得する。ショ糖密度勾配で得られた HCV-LP 画分を naive な Huh7 細胞に感染させ、G418 存在下で３週間培養したところ、薬剤耐性コロニーが多数得られ、HCV-LP に感染性があることが証明された。また、感染後の細胞を抗 NS5A 抗体で染色したところ陽性細胞が多数見られ、この結果からも HCV-LP の感染性が証明された。今後は他の genotype のクローンでも同様に感染性の HCV-LP が形成されるかどうかを検討する。
[石井孝司、村上恭子、Su-Su Hmwe、鈴木亮介、鈴木哲朗、脇田隆字]

（５０）培養細胞で作製した感染性 HCV 粒子の構造解析

HCV 粒子の形態解析は、ウイルス産生効率の低さなどのため、必ずしも十分に進んでいない。今回、低濃度の NP-40 で HCV 粒子サンプルを前処理した後、電子顕微鏡解析したところ、従来法に比べ、HCV 粒子と共在する分泌蛋白質、脂質等の夾雑物を除去できることが見出された。HCV 粒子構造の詳細な解析が可能となった。
[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（感染病理部）、佐多徹太郎（感染病理部）、脇田隆字]

（５１）患者血清中の HCV 粒子の性状解析

HCV 感染患者血清中の HCV 粒子を、ショ糖密度勾配超遠心法によって分画し、HCV RNA、コア蛋白量をそれぞれ RT-PCR 法、ELISA 法にて測定した。患者血清中には様々な比重の HCV が存在する事が示された。また血清中の HCV

RNA とコア蛋白の密度分布が必ずしも一致しない患者が存在することが明らかとなった。
[森川賢一、伊達朋子、赤澤大輔、村山麻子、脇田隆字]

（５２）患者血清中の HCV 粒子の感染性の検討

HCV 感染患者血清中の HCV 粒子を蔗糖密度勾配超遠心で分画し、比重 1.16g/ml 付近の分画と比重 1.06g/ml 付近の分画に存在するウイルスに分離した。異なった比重のウイルスをそれぞれ人肝細胞キメラマウスへ接種し感染性が異なるかを検討中である。
[森川賢一、伊達朋子、赤澤大輔、村山麻子、脇田隆字、今村道夫（広島大)、茶山一彰（広島大）]

（５３）JFH-1 患者血清感染チンパンジーおよびヒト肝臓キメラマウスで増殖した HCV の遺伝子解析

培養細胞で効率よく増殖可能な JFH-1 株を分離した患者血清をチンパンジー およびヒト肝細胞キメラマウスに感染させた。チンパンジーでは一過性に感染が成立した。また、ヒト肝細胞キメラマウスでは持続的に感染が成立した。チ ンパンジーおよびマウス血清からウイルスゲノムを分離してその遺伝子配列を解析し、同定したアミノ酸変異の感染増殖に与える影響を検討している。
[Saeed Mohsan、伊達朋子、加藤孝宣（東芝病院)、Liang T Jake（米国 NIH)、田中靖人（名市大)、溝上雅史（名市大）]

（５４）HCV J6/JFH1 株によるワクチン開発

Huh-7 細胞にて産生した HCVJ6/JFH1 株を精製しマウスへ腹腔内投与することにより、HCV E1、E2 に対する抗体誘導が認められた。この免疫マウスの血清が HCV 感染阻害能を有することを、Huh-7 細胞への HCV 感染評価系によって明らかにした。ワクチン開発へ向け、ウイルス粒子の大量産生、精製法の最適化を検討中である。
[尾見法昭、赤澤大輔、高橋　仁、白倉雅之、森川賢一、中村紀子（東レ医薬研)、望月英典（東レ医薬研)、鈴木哲朗、石井孝司、脇田隆字]

（５５）JFH1 株 HCV 免疫マウスによるモノクローナル抗体の作製

Huh-7 細胞にて産生した JFH1 株 HCV を精製した。5 週齢雌・BALB/c マウスに精製 HCV を FCA と懸濁したもの、2,4,6 週後に同量の HCV を FIA と懸濁したものを腹腔内へ投与した。6 ヶ月後に同量の HCV を追加免疫したマウスを用いてモノクローナル抗体を作製した。得られたモノクローナル抗体のうち HCV エンベロープ蛋白質を認識する抗体により、JFH1 株及び他のキメラ HCV の Huh-7 細胞への感染を抑制できることを見出した。
[尾見法昭、森川賢一、赤澤大輔、高橋　仁、鈴木哲朗、石井孝司、脇田隆字]

（５６）エピトープタグを付加した組換え HCV 粒子高産生系の構築

前年度報告により、HCV 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 粒子の作製を試みる過程で、HCV 粒子産生を増強していると期待される適応変異（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）の存在が確認された。この変異を導入したエピトープタグ付加 J6/JFH-1 遺伝子を作製し、細胞内に導入したところ、変異を導入していないものに比べ、HCV 粒子産生および感染力価が増強していることが示された。
[高橋　仁、尾見法昭、赤澤大輔、中村紀子（東レ医薬研)、望月英典（東レ医薬研)、鈴木哲朗、脇田隆字]

（５７）エピトープタグを付加した組換え HCV 粒子の精製

HCV 粒子を高産生に維持する適応変異を導入したエピトープタグ付加 J6/JFH-1 遺伝子を用いて、HCV 粒子の精製を試みた。上記 HCV 粒子含有培養上清にα-FLAG(M2) アガロースを添加し、アフィニティ精製を行った。3×FLAG ペプチドを用いて HCV 粒子を溶出後、精製 HCV 粒子の超遠心濃縮を行った。この精製濃縮 HCV 粒子の回収効率および感染性を検討したところ、約 10%の HCV 粒子が回収され、この HCV 粒子は高い感染力価を有することが示された。
[高橋　仁、尾見法昭、赤澤大輔、中村紀子（東レ医薬研)、望月英典（東レ医薬研)、鈴木哲朗、脇田隆字]

（５８）精製組換え HCV 粒子の性状解析

アフィニティ精製した HCV 粒子の純度を調べるため、

SDS-PAGE を行い、銀染色を行った。その結果、精製サンプルではほとんど夾雑蛋白質は確認されず、高純度の HCV 粒子が精製されたことが示された。この精製 HCV をネガティブ染色後、透過型電子顕微鏡観察を行ったところ、直径 50 nm 程度の粒子構造が観察され夾雑物がほとんど存在しないことが示された。さらに、精製粒子にアソシエートする細胞蛋白質を質量分析法により解析したところ、Fatty acid synthase と Fibrinogen が同定された。

[高橋　仁、尾見法昭、赤澤大輔、松田麻未、中村紀子（東レ医薬研)、望月英典（東レ医薬研)、田中恵子（感染病理部)、佐多徹太郎（感染病理部)、鈴木哲朗、脇田隆字]

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

これまで全ての非構造蛋白（NS2-5B）を発現する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、トランスジェニックマウスの表現型の変化を観察中である。一方、臨床学的知見から、コア蛋白の aa 70、91 がインターフェロン療法の治療効果に影響することが報告されており、これらのアミノ酸を変異させたコア蛋白発現トランスジェニックマウスの作製も行っている。

[相崎英樹、小池和彦（東京大)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６０）HCV 感染に伴う経時的な遺伝子発現の解析

HCV JFH-1 感染細胞の遺伝子発現変化を cDNA マイクロアレイ法で経時的に解析し HCV 感染によって有意に発現変動の見られる宿主細胞遺伝子群を同定した。特に発現変化の顕著であったCD19についてHCV感染に与える影響を調べるため、HCV 持続感染細胞において siRNA で CD19 の発現を抑制したところ HCV の産生量が低下した。CD19 の HCV 増殖における役割について解析している。

[相崎英樹、各務伸一（愛知医大)、脇田隆字]

（６１）コア蛋白発現細胞のミトコンドリア蛋白のプロテオーム解析

ミトコンドリア蛋白のプロテオーム解析から、chaperone として働き細胞増殖調節にも関与する prohibitin の蛋白レベルが、HCV コア蛋白の発現によって亢進すること、コア蛋白は prohibitin の N 末端領域と結合し prohibitin の安定化に寄与する可能性が示された。コア蛋白、prohibitin の細胞内局在を調べたところ、両蛋白の一部はミトコンドリアで共局在することが示された。

[相崎英樹、堤　武也（東京大)、小池和彦（東京大)、宮村達男、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６２）C 型肝炎治療薬リバビリンに対する抵抗性 HCV の解析

HCV JFH-1 レプリコン細胞へのリバビリン長期添加により、リバビリン抵抗性の遺伝子型 2a HCV を見出した。この抵抗性 HCV が有する遺伝子変異のうち NS5B 領域 aa 2471 のチロシンからヒスチジンへの変異が HCV JFH-1 株のリバビリン抵抗性獲得に寄与する可能性が示された。aa 2471 は遺伝子型特異的な残基を有しており、2a 型ではチロシンが 1a/1b 型ではヒスチジンがよく保存されている。一般に、リバビリンは HCV 2a 型より１型に対して治療効果が低いとされているが、aa 2471 残基の違いに起因しているのかもしれない。

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

（６３）HCV 持続感染細胞系を用いた抗 HCV 薬耐性ウイルスの解析

様々な作用機序を有する抗 HCV 化合物を HCV JFH-1 持続感染細胞に長期間添加することによって出現する薬剤耐性ウイルスの解析を行っている。NS3 プロテアーゼ阻害剤 BILN2061(100 nM)によって感染細胞中の HCV RNA レベルは 1/100 以下まで低下するが、添加開始１ヶ月後からウイルス産生の上昇が認められ３ヶ月後では非処理細胞と同等のウイルス産生レベルまで回復した。この細胞中の HCV 遺伝子を解析したところ、NS3 領域に２ヶ所、NS5B に１ヶ所アミノ酸変異が認められた。

[鈴木哲朗、Su-Su Hmwe、松田麻未、脇田隆字]

（６４）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

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（KAN システム）を利用して、HCV RNA 結合ペプチドを大腸菌内でスクリーニングした。その結果、HCV の 3’UTR ステムループ構造に強く結合するペプチドが３種類見出された。そこで、HCV レプリコン RNA にこれらのペプチドを添加し RNA-ペプチド複合体を形成させ肝細胞中に導入し、ペプチドのウイルス複製阻害効果を評価した。その結果、同ペプチドはウイルス複製を抑制しなかった。現在、HCV のループ・ループ相互作用を阻害することによりウイルスの複製を抑制できるかを検討中である。

[塩沢綾子、相崎英樹、鎌田麻利江、石井孝司、原田和雄（東京学芸大)、鈴木哲朗、脇田隆字]

（６５）HCV J6/JFH-1 株感染増殖系に対する低分子阻害剤のスクリーニング評価系構築

Huh-7.5.1 細胞に HCV J6/JFH-1 株を感染させ、培養上清中に放出された HCV コア蛋白量を測定する方法により、阻害剤の評価が可能な安定したアッセイ系を構築した。この評価系を用い、低分子阻害剤のスクリーニングを実施予定である。

[朝長充則、伊達朋子、赤澤大輔、村山麻子、渡邉則幸、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

種々の HCV 遺伝子型（1a，1b，2a，2b，3a）由来コア抗原を現行の診断キット（EIA、蛍光 EIA）で測定したところ、蛍光 EIA 法において遺伝子型 2a (JFH-1)コア抗原の検出感度が他に比べ顕著に低いことが見出された。診断キットに使われた抗体のエピトープ配列から検出感度に影響しうるアミノ酸残基を推定し、それらを各々導入したコア蛋白変異体を作製し解析した結果、遺伝子型間（クローン間）の検出感度の差異に関与するアミノ酸残基が同定された。

[Saeed Mohsan、鈴木亮介、相崎英樹、水落利明（血液・安全性研究部)、鈴木哲朗、脇田隆字、渡邉治雄]

（６７）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目標とし、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行っている。通常、サルへの GBV-B 感染においては、二ヶ月程度のウイルス血症に伴う急性肝炎を呈した後寛解し、ウイルスは排除されると考えられている。しかしながら急性感染期後の個体を２年以上に渡って長期観察し潜伏感染の有無を検討したところ、９頭中７頭から間欠的に血中ウイルス RNA が検出された。GBV-B は HCV と同様にサル個体において急性期以降も検出限界以下のレベルで長期潜伏感染し、何らかの原因で間欠的にウイルス増殖が再活性化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、岩崎優紀（霊長類センター)、飯島沙幸（霊長類センター)、木村展之（霊長類センター)、明里宏文（霊長類センター)、森　健一（先端生命科学研)、槙　昇（先端生命科学研）]

（６８）肝炎情報の収集とデータベース構築及び情報発信

我が国における肝炎ウイルス感染の予防、肝炎ウイルスキャリア対策、肝癌死亡の減少に貢献することを目的として、肝炎診療をめぐる国内、海外の情報等の収集とデータベース構築、およびインターネット等による情報の提供をめざし、ホームページを立ち上げた。また、マスコミや医療機関に配られる雑誌で最近の肝炎をめぐる社会情勢を報告し、海外の雑誌に C 型肝炎の基礎的な情報を発表した。

[相崎英樹、田中純子（広島大)、吉澤浩司（広島大)、脇田隆字]

（６９）HCV IRES は PKR の自己リン酸化を誘導するが、それによる翻訳は eIF2 のリン酸化耐性である

HCV IRES は PKR の自己リン酸化を誘導した。In vitro 翻訳系で HCV IRES により PKR は自己リン酸化され cap 依存的翻訳は抑制された。しかし HCV IRES 依存的翻訳は抑制されなかった。このときリン酸化された PKR の量依存的に eIF2α のリン酸化が増加することを明らかにした。HCV IRES 依存的翻訳は翻訳開始宿主因子 eIF2 が不要な新たな翻訳開始機構が示唆される。

[下池貴志、Mckenna SA、Lindhout DA、Puglisi JD（スタンフォード大）]

４．E 型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究

（１）環境水からの E 型肝炎ウイルス(HEV)遺伝子の検出

ブタは 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、養豚場の周辺にある河川水からの HEV RNA 検出を試みた。日本中部地域にある河川水を採取し、濃縮した後、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。同じ河の３つの異なる場所から採取した河川水から HEV RNA が検出された。塩基配列を解析した結果、河川水から分離した HEV RNA の配列はその付近にある養豚場のブタから分離した株の配列と類似しているが、完全一致ではない。この結果は河川水の HEV の汚染はどこの養豚場から由来したかを同定できなかったが、下水の処理不十分な養豚下水が汚染源となる可能性を示唆した。

[李　天成、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（２）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、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、ウイルス抗原もウイルス RNA も検出されず、HEV が TSN KO マウスに感染して増殖することが認められなかった。

[李　天成、武田直和、宮村達男、葛西正孝（免疫部）]

（３）C57BL/6 マウスにおける E 型肝炎ウイルス(HEV)の感受性

多種の野生動物が抗 HEV 抗体を有すると報告されながらその特異性の証明が困難である。本実験では G1, G3, G4 HEV をそれぞれ C57BL/6 マウスに接種し、経時的に採血、採便を行い ELISA 法、RT-PCR を用いラマウスの血液、糞便中からウイルス抗原およびウイルス RNA の検出を行い、ウイルスの増殖の有無によって HEV に対する感受性を検討した。その結果、ウイルス抗原もウイルス RNA も検出されず、接種した HEV がマウス体内で増殖していないことが明らかになった。つまり、マウスは HEV に対する感受性がないことが示唆された。

[李　天成、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（４）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。現在、キメラマウスの体内で増幅された HEV の感染性をカニクイザルを用いて検討している。

[李　天成、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（５）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。PLC/PRF/5 細胞で増殖されたウイルスをカニクイザルに静脈接種し、ウイルスがサル体内で増幅することが確認された。現在、PLC/PRF/5 に感染したウイルス株の性状および感染力の変化の有無を解析している。

[李　天成、宮村達男、脇田隆字、武田直和]

（６）HEV のレプリコン構築と肝癌由来培養細胞での複製

ヒト肝癌由来培養細胞で増殖することが見出された HEV クローンの全長 cDNA を構築し、その構造蛋白領域をネオマイシン耐性遺伝子に置換したサブジェノミックレプリコンを作成した。この cDNA をテンプレートとして RNA を合成し、肝癌由来培養細胞株にエレクトロポレーションにより導入し、ネオマイシン存在下で３週間培養したところ薬剤耐性細胞のコロニーが多数生じた。この結果より、全長 cDNA の非構造領域は正常に機能していると考えられる。このレプリコン細胞株を用いて HEV の複製機構の解析を進める。

[石井孝司、李　天成、吉崎佐矢香、脇田隆字、武田直和]

（７）HEV 非構造蛋白のプロセシングの解析

HEV の非構造蛋白をコードする ORF1 のプロセシング解析を行うため、in vitro translation 法により ORF1 の全長蛋白および C 末側を欠損させた変異体蛋白の発現を試みた。全長蛋白と様々な分子量の蛋白の発現が検出されたので、Western blot 法や免疫沈降法により領域の同定を試みたが、現在まで一部しか同定できていない。さらに、2 価イオンの添加や、プロテアーゼの活性中心と予想される部位への変異導入によるプロテアーゼ不活性化を試みたが、発現やプロセシングに変化は見られなかった。現在、培養細胞での増殖が確認されたクローンを用いて同様の手法による解析を行っている。

[吉崎佐矢香、石井孝司、李　天成、武田直和、鈴木哲朗、脇田隆字]

（８）HEV 非構造蛋白の大腸菌による発現

Genotype3 の非構造蛋白に対する抗体作成のため、大腸菌を用いて抗原タンパクの発現を試みた。T7 プロモーターの下流に ORF1 の各領域（5 種類）をサブクローニングして、His タグとの fusion 蛋白として発現させた。プロテアーゼ、ヘリケース、ポリメラーゼ領域の発現が確認できた。そのうち可溶化条件の決定したヘリケース領域は蛋白の大量発現、精製を行い、ウサギに免疫し抗血清を得た。現在、他の領域の発現検討および抗血清の精製の検討を行っている。

[吉崎佐矢香、石井孝司、李　天成、武田直和、鈴木哲朗、脇田隆字]

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。E6AP の強制発現により PRDX1 発現量が低下することを明らかにした。現在、PRDX1 と E6AP の結合様式に関する詳細な検討を行っている。

[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。また、AnnexinA1 内の E6AP 結合部位について同定を行った。

[下地　徹、村上恭子、勝二郁夫、松田麻未]

V．その他の研究

（１）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、培養上清および感染細胞から目的蛋白を精製し、電子顕微鏡で粒子の形成を観察した。その結果、N末端に下記の6つのPCV2構造蛋白領域を連結した組換えバキュロウイルスで感染したTn5昆虫細胞及びその培養上清から直径23-24nmの粒子が多数観察された。キメラ粒子の抗原性と免疫原性の解析が進行中である。
[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]

（２）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、ウエスタンブロット法、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。さらに、このVLPsをウサギとモルモットに免疫し、高価な免疫血清を獲得した。免疫血清を用いてウイルス抗原検出方法を樹立した。
[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]

（３)日本におけるイノシシが保有するPCV2の遺伝子特徴調査

組換えバキュロウイルス発現系で作製した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結果、日本に生息している野生イノシシにおける抗PCV2抗体保有率が50%であることが明らかになった。さらに一部の検体からPCR法を用いてPCV2遺伝子も検出された。これまで日本のブタから分離されるPCV2全長配列が少なく、イノシシから分離されたPCV2の全長配列がまだない。これらの陽性サンプルの全長遺伝子を増幅し、その配列を解析している。
[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]

（４）デングウイルス１型の感染性クローンの樹立とNS1変異体の機能解析

ブラジルで1990年に流行したデングウイルス１型(BR-90)の感染性クローンをBacterial artificial chromosomeプラスミドを利用して樹立した。さらにこのクローンを用いて、NS1温度感受性変異体の解析を行い、この変異がゲノムの複製に影響する事を明らかにした。
[鈴木亮介、Peter W. Mason（テキサス大）]

（５）ウエストナイルウイルスにおける複製効率の良い変異型Cyclization sequence（CS）の同定とその応用

フラビウイルスにはウイルスゲノムの両末端に高度に保存されたCSを有し、この配列がウイルスゲノムの複製に重要である事がわかっている。この領域に網羅的に変異を導入し、野生型の複製効率を維持した変異CS配列を同定した。この変異型CSを片側の末端のみに導入するとウイルスの複製が認められない事から、野生型との組み替えウイルスの増殖は抑制される事が示唆された。安全性の高いワクチンの開発に繋がる可能性が考えられる。
[鈴木亮介、Peter W. Mason（テキサス大）]

（６）キメラシュードフラビウイルスを用いたデングウイルス２型ワクチンの開発

Capsid遺伝子の大部分を欠損したウエストナイルウイルスを用い、デングウイルス２型のprMおよびE遺伝子を持つキメラシュードウイルスを作製した。これを継代し、複製効率が向上する変異を獲得した後、Capsid蛋白発現細胞を用いて大量のシュードウイルスを調製した。ワクチンの効果を評価するため、インターフェロンレセプターKOマウスを用いた動物実験が進行中である。
[鈴木亮介、Peter W. Mason（テキサス大）]

（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 培養系において、立体的なスフェロイド構造を形成し極性を再構築することが確認されている。そこで TGP 培養系における細胞接着因子の発現変化を調べた。接着結合および密着結合を担う E-cadherin、occludin は単層培養に比べ、蛋白レベルで発現の亢進が確認されたが、ギャップ結合を形成する connexin32 は変化が見られなかった。さらに E-cadheirn は単層培養系では細胞接着面と一部細胞質にも局在するが、TGP 培養系ではより細胞接着面に集積しており、さらに 4-5 個の細胞に囲まれた細胞間部位に高い頻度で観察された。

[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チトクローム P450 の発現と機能解析

TGPにおいて三次元培養されたHuh7細胞を用いて、肝臓の代表的な分化機能である薬物代謝について単層培養と比較解析を行った。薬物代謝酵素 P450のうち、最も重要なCYP3A4は、TGP培養系において活性の亢進と遺伝子発現の亢進が認められた。またCYP3A4の遺伝子発現を調節する転写因子PXRの遺伝子発現の亢進も認められた。さらに、CYP3A4のプロモーター領域に存在し遺伝子発現調節に重要なE6配列を用いたゲルシフトアッセイから、TGP培養系ではプロモーター遺伝子への転写因子結合が亢進していることが示唆された。

[吉崎佐矢香、村上恭子、相崎英樹、石井孝司、鈴木哲朗、脇田隆字]

（９）TGP 三次元培養における Insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP3)の発現と機能解析

TGP三次元培養系と単層培養系では細胞遺伝子発現にどのような違いがあるかを明らかにするためマイクロアレイ解析を行った。その結果、三次元培養に伴い細胞増殖制御、細胞分化調節、細胞内輸送、脂質代謝に関連する遺伝子群の発現変動が認められた。その中でIGFBP3の発現上昇は特に顕著であり、IGFBP3を強制発現させたHepG2 細胞では増殖効率の低下が認められたことから、肝癌細胞の三次元培養化に伴うIGFBP3の発現上昇が細胞増殖度低下に寄与している可能性が示唆された。

[葛岡健太郎、相崎英樹、吉崎佐矢香、長尾　桓（東京医大）、鈴木哲朗、脇田隆字]

＜別＞　検査業務

第１室：

行政検査

E 型肝炎確認検査　　2 件、2 検体

検定業務

経口生ポリオワクチン　　小分製品　1 件

経口生ポリオワクチン　　バルク　　1 件

第２室：

行政検査

平成 19 年度は 10 件(計 30 検体)の行政検査依頼があり、ウイルス分離同定、PCR-RFLP あるいは塩基配列解析等による型内株鑑別試験等を実施した。型内鑑別あるいは塩基配列解析を行ったポリオウイルスは、すべてワクチン株と同定された。

第３室、第４室：

依頼試験

C 型肝炎ウイルス体外診断薬　2 件

第５室：

検定業務

乾燥組織培養不活化 A 型肝炎ワクチン　2 件

組換え沈降Ｂ型肝炎ワクチン（酵母由来）　4 件

沈降Ｂ型肝炎ワクチン（huGK-14 細胞由来）　6 件

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Aizaki H, Suzuki T: RNA replication of hepatitis C virus. *In*: Structure-based Study of Viral Replication. pp.151-173, 2007.

2) Aizaki H, Morikawa K, Fukasawa M, Hara H, Inoue Y, Tani H, Saito K, Nishijima M, Hanada K, Matsuura Y, Lai MM, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: A Critical Role of Virion-Associated Cholesterol and Sphingolipid in Hepatitis C Virus Infection. J Virol (in press).

3) Akazawa D, Date T, Morikawa K, Murayama A, Miyamoto M, Kaga M, Barth H, Baumert TF, Dubuisson J, Wakita T: CD81 expression is important for the permissiveness of Huh7 cell clones for heterogeneous hepatitis C virus infection. J Virol 81: 5036-5045, 2007.

4) Arita M, Nagata N, Iwata N, Ami Y, Suzaki Y, Mizuta K, Iwasaki T, Sata T, Wakita T, 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.

5) Arita M, Ami Y, Wakita T, Shimizu H: Cooperative effect of the attenuation determinants derived from poliovirus Sabin 1 strain is essential for attenuation of enterovirus 71 in the NOD/SCID mouse infection model. J Virol 82: 1787-1797, 2008.

6) Arita M, Wakita T, Shimizu H: Characterization of pharmacologically active compounds that inhibit poliovirus and enterovirus 71 infection. J Gen Virol (in press).

7) Ariumi Y, Kuroki M, Abe K, Dansako H, Ikeda M, Wakita T, Kato N: DDX3 DEAD-box RNA helicase is required for hepatitis C virus RNA replication. J Virol 81: 13922-13926, 2007.

8) Bingjun T, Yoshida H, Yan W, Lin L, Tsuji T, Shimizu H, Miyamura T: Molecular typing and epidemiology of non-polio enteroviruses isolated from Yunnan Province, the People's Republic of China. J Med Virol 80: 670-679, 2008.

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

10) Delgrange D, Pillez A, Castelain S, Cocquerel L, Rouillé Y, Dubuisson J, Wakita T, Duverlie G, Wychowski C: Robust production of infectious viral particles in Huh-7 cells by introducing mutations in hepatitis C virus structural proteins. J Gen Virol 88: 2495-2503, 2007.

11) Fujimoto T, Shinohara M, Ito M, Okafuji T, Nishio O, Yoshida H, Shimizu H, Chikahira M, Phan GT, 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 53: 605-609, 2007.

12) Guix S, Asanaka M, Katayama K, Crawford SE, Neill FH, Atmar RL, Estes MK. J Virol 81: 12238-12248, 2007.

13) Hamaguchi T, Fujisawa H, Sakai K, Okino S, Kurosaki N, Nishimura Y, Shimizu H, Yamada M: Acute encephalitis in an adult due to intrafamilial transmission of enterovirus 71. Emerg Infect Dis 14: 828-830, 2008.

14) Hansman GS, OKA T, Li T-C, Nishio O, Noda M, Takeda N: Detection of Human Enteric Viruses in Japanese Clams. J Food Prot (in press).

15) Hansman GS: Insights into the Caliciviridae family. Structure-based Study of Viral Replication. Editors: Cheng RH and Miyamura T. World Scientific Publishing. pp381-399. ISBN: 981270406X

16) Hansman GS, Oka T, Sakon N, Takeda N: Antigenic diversity of human sapoviruses. Emerg Infect Dis

13: 1519-1525, 2007.

17) Hiraga N, Imamura M, Tsuge M, Noguchi C, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Abe H, Maekawa T, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Sakai A, Sakai Y, Honda M, Kaneko S, Wakita T, Chayama K: Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon. FEBS Lett 581: 1983-1987, 2007.

18) Inoue Y, Murakami K, Hmwe SS, Aizaki H, Suzuki T: Transcriptomic comparison of human hepatoma Huh-7 cell clones with different hepatitis C virus replication efficiencies. Jpn J Infect Dis 60: 173-178, 2007.

19) Iritani N, Seto T, Hattori H, Natori K, Takeda N, Kubo H, Yamano T, Ayata M, Ogura H, Seto Y: Humoral Immune Responses Against Norovirus Infections of Children. J Med Virol 79: 1187-1193, 2007.

20) Iritani N, Kaida A, Kubo H, Abe N, Murakami T, Vennema H, Koopmans M, Takeda N, Ogura H, Seto Y: An atypical epidemic of GII.2 genotype noroviruses during the spring period of 2004 in Osaka City, Japan. J Clin Microbiol (in press).

21) 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, Akari H: GBV-B as a pleiotropic virus: distribution of GBV-B in extrahepatic tissues in vivo. Microbes Infect 9: 515-21, 2007.

22) Ishii K, Murakami K, Hmwe SS, Bin Z, Li J, Shirakura M, Morikawa K, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Trans-encapsidation of hepatitis C virus subgenomic replicon RNA with viral structure proteins. Biochem Biophys Res Commun (in press).

23) Iwai M, Takizawa T, Nakayama T, Matsuura K, Yoshida H, Hasegawa S, Obara M, Horimoto E, Kurata T, 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 40: 247-253, 2008.

24) Kim CS, Jung JH, Wakita T, Yoon SK, Jang SK: Monitoring the antiviral effect of alpha interferon on individual cells. J Virol 81: 8814-8820, 2007.

25) Kobune F, Ami Y, Katayama M, Takahashi M, Tuul R, Korukluoglu G, Kiyohara T, Miura R, Sato H, Yoneda M, Kai C: A novel monolayer cell line derived from human umbilical cord blood cells shows high sensitivity to measles virus. J Gen Virol 88: 1565-1567, 2007.

26) Li TC, Scotti PD, Miyamura T, Takeda N: Latent infection of a new alphanodavirus in an insect cell line. J Virol 81: 10890-10896, 2007.

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

28) Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, Watashi K, Hishiki T, Zayas M, Bartenschlager R, Wakita T, Hijikata M, Shimotohno K: The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. Nat Cell Biol 9: 1089-1097, 2007.

29) 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, Nishimura H, Rapid genome sequencing of RNA viruses. Emerg Infect Dis 13: 322-324, 2007.

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

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

32)Murakami K, Inoue Y, Hmwe SS, Omata K, Hongo T, Ishii K, Yoshizaki S, Aizaki H, Matsuura T, Shoji I, Miyamura T, Suzuki T: Dynamic behavior of hepatitis C virus quasispecies in a long-term culture of the three-dimensional radial-flow bioreactor system. J Virol Methods 148: 174-181, 2008.

33)Murakami K, Kimura T, Osaki M, Ishii K, Miyamura T, Suzuki T, Wakita T, Shoji I: Virological characterization of the HCV JFH-1 strain in lymphocytic cell lines. J Gen Virol (in press).

34)Murayama A, Date T, Morikawa K, Akazawa D, Miyamoto M, Kaga M, Ishii K, Suzuki T, Kato T, Mizokami M, Wakita T: The NS3 helicase and NS5B-to-3'X regions are important for efficient hepatitis C virus strain JFH-1 replication in Huh7 cells. J Virol 81: 8030-8040, 2007.

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

36)Oka T, Yamamoto M, Yokoyama M, Ogawa S, Hansman GS, Katayama K, Miyashita K, Takagi H, Tohya Y, Sato H, Takeda N. Highly conserved configuration of catalytic amino acid residues among calicivirus-encoded proteases. J Virol 81: 6798-6806, 2007.

37)Okamoto T, Omori H, Kaname Y, Abe T, Nishimura Y, Suzuki T, Miyamura T, Yoshimori T, Moriishi K, Matsuura Y: A Single Amino Acid Mutation in Hepatitis C Virus NS5A Disrupting FKBP8 Interaction Impairs Viral Replication. J Virol 82: 3480-3489, 2008.

38)Omata K, Suzuki R, Masaki T, Miyamura T, Satoh T, Suzuki T: Identification and characterization of the human inhibitor of caspase-activated DNase gene promoter. Apoptosis (in press).

39)Ozawa K, Oka T, Takeda N, Hansman GS. Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan. J Clin Microbiol 45: 3996-4005, 2007.

40)Sekine-Osajima Y, Sakamoto N, Mishima K, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Kanai T, Tsuchiya K, Wakita T, Enomoto N, Watanabe M: Development of plaque assays for hepatitis C virus-JFH1 strain and isolation of mutants with enhanced cytopathogenicity and replication capacity. Virology 371: 71-85, 2008.

41)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, Shoji I: E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein. J Virol 81:1174-1185, 2007.

42)Suzuki R, de Borba L, Duarte dos Santos CN, Mason PW: Construction of an infectious cDNA clone for a Brazilian prototype strain of dengue virus type 1: Characterization of a temperature-sensitive mutation in NS1. Virol 362: 374-383, 2007.

43)Suzuki T, Ishii K, Aizaki H, and Wakita T: Hepatitis C viral life cycle. Adv Drug Deliv Rev. 59: 1200-1212, 2007.

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

45)Taguwa S, Okamoto T, Abe T, Mori Y, Suzuki T, Moriishi K, Matsuura Y: Human Butyrate-Induced Transcript 1 Interacts with Hepatitis C Virus NS5A and Regulates Viral Replication. J Virol 82: 2631-2641, 2008.

46)Takao S, Wakatsuki K, Yoshida H, Shimizu H,

Wakita T: Neutralization Assays for Echovirus 18 Isolates in 2006. Jpn J Infect Dis 60: 65-66, 2007.

47)Tano Y, Shimizu H, Martin J, Nishimura Y, Simizu B, Miyamura T: Antigenic characterization of a formalin-inactivated poliovirus vaccine derived from live-attenuated Sabin strains. Vaccine 25: 7041-7046, 2007.

48)Tasaka M, Sakamoto N, Itakura Y, Nakagawa M, Itsui Y, Sekine-Osajima Y, Nishimura-Sakurai Y, Chen CH, Yoneyama M, Fujita T, Wakita T, Maekawa S, Enomoto N, Watanabe M: Hepatitis C virus non-structural proteins responsible for suppression of the RIG-I/Cardif-induced interferon response. J Gen Virol 88: 3323-3333, 2007.

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

50)Wakita T: HCV research and anti-HCV drug discovery: toward the next generation. Adv Drug Deliv Rev 59: 1196-1199, 2007.

51)Wang C-Y, Miyazaki N, Yamashita T, Higashiura A, Nakagawa A, Li T-C, Takeda N, Xing L, Hjalmarsson E, Friberg C, Liou D-M, Sung Y-J, Tsukihara T, Matsuura Y, Miyamura T, Cheng RH: Crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of recombinant hepatitis E virus-like particle. Acta Cryst (in press).

52)Wu F-T, Oka T, Takeda N, Katayama K, Hansman GS, Muo C-H, Liang S-Y, Hung C-H, Jiang D-S, Chang JH, Yang J-Y, Wu H-S, Yang C-F: A sapovirus outbreak of gastroenteritis, Taiwan. Emerg Infect Dis (in press).

53)Yamamoto H, Li TC, koshimoto C, Ito K, Kita M, Miyashita N, Arikawa J, Yagami K, Asano M, Tezuka H, Suzuki N, Kurosawa T, Shibahara T, Furuya M, Mohri S, Sato H, Ohsawa K, Ibuki K, Takeda N: Serological Evidence for Hepatitis E Virus Infection in Laboratory Monkeys and Pigs in Animal Facilities in Japan. Exp Animals (in press).

54)Yokota T, Iijima S, Kubodera T, Ishii K, Katakai Y, Ageyama N, Chen Y, Lee J-J, Nishina K, Maki N, Mizusawa H, Akari H: Efficient regulation of viral replication by siRNA in a non-human primate surrogate model for hepatitis C. Biochem Biophys Res Commun 361: 294-300, 2007.

55)Zeisel MB, Koutsoudakis G, Schnober EK, Haberstroh A, Blum HE, Cosset FL, Wakita T, Jaeck D, Doffoel M, Royer C, Soulier E, Schvoerer E, Schuster C, Stoll-Keller F, Bartenschlager R, Pietschmann T, Barth H, Baumert TF: Scavenger receptor class B type I is a key host factor for hepatitis C virus infection required for an entry step closely linked to CD81. Hepatology 46: 1722-1731, 2007.

56)Report on phase I wild poliovirus laboratory containment activities, Japan: Draft WHO Report, 2007.

57)Country progress report on maintaining polio-free status, Japan, 2006-2008: Draft WHO Report, 2007.

2. 和文発表

1) 相崎英樹, 鈴木哲朗, 多田有希, 岡部信彦, 脇田隆字: C型肝炎に関する最近の情報. 結核予防会機関誌「複十字」 21-23, 2008.

2) 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.

3) 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19年度厚生生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, 平成19年3月.

4) 片山和彦.「ノロウイルス複製系における最近の知

見」, IASR Vol.28 p 293-294：2007.
5) 片山和彦　養護教諭のなんでも質問箱　ノロウイルスについて　「心と体の健康」株式会社　健学社, Vol.11 No.117, 86-88, 2007.
6) 金守　良, 井本　勉, 婦木秀一, 金　啓二, 谷口美幸, 長野基子, 堀田　博, 勝二郁夫, 神原芳浩, 前川陽子, 工藤正俊, 林　祥剛: 1b 型高ウイルス量高齢者 C 型慢性肝炎に対する PEG IFNα-2b/リバビリン治療（併用療法）の検討, 肝臓 49: 145-152, 2008.
7) 嶋崎典子, 岡田義昭, 米山徹夫: 医薬品からの感染が危惧されるウイルス疾患と安全対策. 月刊薬事 49: 566-568, 2007.
8) 清水博之: エンテロウイルス感染症. 感染症 37: 117-126, 2007.
9) 清水博之: 手足口病. 日本臨床 65: 339-342, 2007.
10) 清水博之: ポリオの疫学. Journal of Clinical Rehabilitation 16: 114-120, 2007.
11) 清水博之: 急性灰白髄炎, 綜合臨床 57: 335-336, 2008.
12) 清水博之: ポリオワクチン接種後のワクチン関連麻痺. 日本医事新報 4376: 114, 2008.
13) 白土（堀越）東子： ノロウイルスと血液型抗原. 食品衛生研究 57: 27-34, 2007.
14) 白土東子, 武田直和: ノロウイルスと血液型抗原. ウイルス 57: 181-190, 2007.
15) 宗村徹也, 藤本嗣人, 近平雅嗣, 木村博一, 西尾治, 吉田　弘, 岡部信彦, 辻　勉: エンテロウイルス遺伝子診断法における市販 RNA 抽出キット選択の影響. 感染症学雑誌 82: 55-57, 2008.
16) 染谷雄一：ノロウイルスによる感染性胃腸炎. Medico 38:301-305, 2007.
17) 高山直秀, 崎山　弘, 清水博之, 宮村達男, 加藤達夫, 梅本　哲: 麻疹ワクチン, 風疹ワクチン, ポリオ生ワクチン全国累計接種率. 2006 年度調査結果. 小児科臨床 60: 41-48, 2007.
18) 武田直和: ウイルス性経口感染症について　－E 型肝炎とノロウイルス胃腸炎－　獣医公衆衛生研究, 全国公衆衛生獣医師協議会 10: 4-7, 2007.
19) 武田直和: 食品媒介ウイルス感染症. 日本食品微生物学会雑誌 25: 1－6, 2008.
20) 田中智之, 武田直和: ノロウイルスの現状と院内感染対策. 感染症 37: 94-104, 2007.
21) 田中智之, 武田直和: 食中毒各論「ノロウイルス」食中毒予防必携（第 2 版）日本食品衛生協会 p212-221, 2007.
22) 田中智之, 三好龍也, 内野清子, 武田直和: 調理従事者を介して起こるノロウイルス感染症. 食と健康 10: 6-14,2007.
23) 田中智之, 三好龍也, 内野清子, 武田直和: 院内発生時における感染拡大防止対策－ノロウイルス薬事. じほう社 49: 1647-1652, 2007.
24) 田中智之, 加藤大介, 鎌田公仁夫, 三好龍也, 内野清子, 吉田永祥, 田尻　仁, 奥田真珠美, 中山佳子, 平山吉朗, 北元憲利, 武田直和: ノロウイルス迅速抗原検査. 検査と技術, 医学書院 235-239, 2008.
25) 本村和嗣, 岡智一郎, 中村浩美, 守　宏美, Hansman Grant, 横山　勝, 片山和彦, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳　「2006 秋冬期シーズンに流行したノロウイルス GII/4 株のゲノム解析」病原体微生物情報 (IASR) 10 月号 p3-p4, 2007.
26) 本村和嗣, 岡智一郎, 佐藤裕徳「2006 年に我が国に流行したノロウイルス GII/4 株のゲノム解析」食品衛生研究 11 月号 日本食品衛生協会 p19-26, 2007.
27) 米山徹夫: 乾燥組織培養不活化 A 型肝炎ワクチン, 沈降 B 型肝炎ワクチン. 生物学的製剤基準解説 じほう社, 2007.

II. 学 会 発 表

I. 国際学会

1) Wakita T: HCV replication Update. 17th Asian Pacific Associationfor the study of the Liver (APASL) Conference. Kyoto, Japan, 2007.3.27.
2) Li TC: Hepatitis E virus. Training on Practical Technologies for Control of Health Emergency, Hangzhou, China, 2007.4.16-22.
3) Takeda N: Norovirus. ibid.
4) Someya Y, Takeda N, Wakita T: Glutamate 54 of Norovirus 3C-like Protease. The 8th

International Symposium on Positive-Strand RNA Viruses, Washington DC, USA, 2007.5.26-30.

5) Li TC, Scotti PD, Miyamura T, Takeda N: Latent infection of a new alphanodavirus in an insect cell line. ibid.

6) Oka T, Hansman G, Ishida S, Saito H, Shima, Yoshizumi, Miyoshi M, Ikeda T, Shibata C, Ishizuka S, Takeda N: Viral loads of sapovirus. ibid.

7) Ishii K, Zhang B, Li J, Shirakura M, Morikawa K, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Trans-encapsidation of HCV subgenomic replicon RNA with viral structure proteins. ibid.

8) Suzuki R, Fayzulin R, Mason PW: Identification of mutated cyclization sequences that permit efficient replication of West Nile virus genomes. ASV 26th annul meeting. Corvallis Oregon, USA 2007.7.

9) Shimizu H: Emergence and transmission of vaccine-derived polioviruses. Genetic Recombination and Prevalence of HEV-C- Emerging Infectious Disease Workshop, Taipei, 2007.8.

10) Wakita T, Aizaki H: Critical roles of virion-associated cholesterol and sphingolipids in the viral infectivity. The 7th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, Hyogo, 2007.9.1-5.

11) Murakami K, Shoji I, Hamamoto I, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T: Virological characterization of HCV JFH-1 stain in B-lymphocytes. 14th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Glasgow, UK 2007.9. 9-13.

12) Fischer R, Gorke S, Lan L, Rau SJ, Wakita T, Blum HE, Zeisel MB, Baumert TF: Hepatitis C virus replication sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis. ibid.

13) Mateu G, Donis RO, Bukh J, Wakita T, Grakoui A: Intragenotypic chimeric hepatitis C viruses produce high levels of infectious particles but cause increased cell death. ibid.

14) D Sir, W-l Chen, T Wakita, T.S. B Yen and J.-H. J Ou: Induction of autophagy by hepatitis C virus VIA endoplasmic reticulum stress. ibid.

15) Podevin P, Lagaye S, Carpentier A, Aoudjehane L, Carrière M, Zaïdi S, Dreux M, Scatton O, Wakita T, Cosset F-L, Conti F, Calmus Y, Rosenberg AR: Production of infectious hepatitis C virus in primary culture of human adult hepatocytes. ibid.

16) Kato T, Choi Y, Elmowalid G, Sapp R, Furusaka A, Wakita T, Krawczynski K, Liang J: The hepatitis C virus JFH-1 is associated with attenuated infection and low virulence in chimpanzee. ibid.

17) Machida K, Huang J, Wang C-H, Liu H, Kondo Y, Sung V, Wakita T, Lai M: Preferential lymphotropism vs. hepatotropism of different HCV isolates established through infectious full-length viral RNA studies. ibid.

18) Ariumi Y, Kuroki M, Abe K, Dansako H, Ikeda M, Wakita T, Trono D, Kato N: DNA damage sensors, ATM and Chk2, are required for hepatitis C virus RNA replication. ibid.

19) Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Mishima K, Nakagawa M, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Yamamoto M, Onui Y, Sudo G, Itsui Y, Wakita T, Watanabe M : Development of plaque-forming assays for hepatitis C virus and isolation of mutants with enhanced cytopathogenicity and replication capacity. ibid.

20) Zeisel MB, Koutsoudakis G, Schnober EK, Haberstroh A, Blum HE, Cosset FL, Wakita T, Jaeck D, Doffoel M, Royer C, Soulier E, Schvoerer E, Schuster C, Stoll-Keller F, Bartenschlager R, Pietschmann T, Barth H, Baumert TF: Scavenger receptor BI is required for an entry step closely linked to CD81. ibid.

21) Delgrange D, Pillez A, Castelain S, Cocquerel L, Rouille Y, Dubuisson J, WakitaT, Duverlie G, Wychowski C: Robust production of infectious

viral particles in Huh-7 cells by introducing mutations in HCV structural proteins. ibid.

22) Aizaki H, Fukasawa M, Morikawa K, Hara H, Tani H, Hanada K, Matsuura Y, Lai MMC, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Critical roles of virion-associated cholesterol and sphingolipids in the viral infectivity. ibid.

23) Masaki T, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Analysis of NS5A region for hepatitis C virus particle production. ibid.

24) Murayama A, Date T, Morikawa K, Akazawa D, Ishii K, Wakita T: The important regions for RNA replication and infectious virus particle formation of JFH-1. ibid.

25) Akari H, Ishii K, Iwasaki Y, Iijima S, Maki N, Mori K, Katakai Y, Kimura N, Yoshizaki S, Ageyama N, Yokota T, Suzuki T, Miyamura T: Development of chronic GBV-B infection in marmosets with smoldering plasma viremia. ibid.

26) Takahashi H, Akazawa D, Omi N, Nakamura N, Mochizuki H, Suzuki T, Wakita T: An adaptive mutation in E2 glycoprotein allows an efficient production of HCV particles with the epitope-tagged envelope. ibid.

27) Akazawa D, Takahashi H, Omi N, Date T, Morikawa K, Murayama A, Nakamura N, Mochizuki H, Wakita T: Characterization of infectious HCV particles produced from various liver-derived cell lines. ibid.

28) Fukasawa M, Nitahara-Kasahara Y, Shinkai-Ouchi F, Sato S, Suzuki T, Murakami K, Wakita T, Hanada K, Miyamura T, Nishijima M: Cellular vimentin content affects the protein level of hepatitis C virus core protein and the activity of hepatitis C virus production in cultured cells. ibid.

29) Mori Y, Okamoto K, Okamoto T, Komoda Y, Okochi M, Takeda M, Suzuki T, Moriishi K, Matsuura Y: Intramembrane processing by SPP regulates membrane localization of HCV core protein and viral propagation. ibid.

30) Isogai M, Uenishi R, Hase S, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y: Identification of new class of HCV inhibitors targeted to the entry or late stages in HCV replication cycle using newly developed JFH-1-based infectivity/replication assay. ibid.

31) Shimoike T, McKenna SA, Lindhou, DA, Wakita T, Puglisi DJ: HCV IRES is a potent activator of PKR but resistant to eIF2 phosphorylation. ibid.

32) Oka T, Arita-Nishida T, Noda M, Sano D, Ueki Y, Imai T, Omura T, Nishio O, Kimura H, Takeda N, Hansman G: Detection of human sapovirus from clams in brackish water. 14th International Symposium on Health-Related Water Microbiology. Tokyo, Japan, 2007.9.9-15.

33) Iwasaki T, Seto S, Arita M, Tajiri-Utagawa E : Innactivation effect of ultraviolet radiation on noroviruses (NV). ibid.

34) Wakita T: HCV replication in vitro and in vivo, 3rd Pasteur-Areva Course on Blood-Borne Viruses: Hepatitis C Virus, Shanghai, China, 2007.10. 15-18.

35) Shirato H, Takeda N: Interaction between norovirus and histo-blood group antigens. The 2nd Thailand-Japan Joint Forum on Infectious Diseases. Bangkok, Thailand, 2007.10.

36) Aizaki H, Fukasawa M, Morikawa K, Hara H, Tani H, Hanada K, Matsuura Y, Lai MMC, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: The cholesterol and sphingolipids of hepatitis C virus particles play critical roles in the viral infectivity. The 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, USA 2007.11.2-6.

37) Podevin P, Lagaye S, Carpentier A, Aoudjehane L, Carrière M, Zaïdi S, Meritet JF, Dreux M, Scatton O, Wakita T, Cosset F-L, Conti F, Rosenberg AR, Calmus Y: Production of infectious hepatitis C virus in primary culture of human adult hepatocytes. ibid.

38) Shoji I, Murakami K, Fukuda K, Osaki M, Suzuki

T, Miyamura T, and Wakita T: Molecular determinants of E6AP-dependent degradation of hepatitis C virus core protein. ibid.

39)Masaki T, Wakita T, Suzuki T: Analysis of NS5A region important for hepatitis C virus particle production. ibid.

40)Someya Y, Takeda N, Wakita T: Ultimate mutational analysis of norovirus 3C-like protease. The 3rd International Calicivirus Conference, Cancun, Mexico, 2007.11.10-13.

41)Hansman G, Oka T, Takeda N: Antigenic diversity of human sapoviruses. ibid.

42)Tanaka T, Motomura K, Yokoyama M, Kanda T, Sato H, Oka T, Hansman G, Naokazu Takeda, Norovirus Surveillance Group of Japan. ibid.

43)Oka T, Yokoyama M, Yamamoto M, Miyashita K, Hansman G, Katayama K, Takagi H, Tohya H, Sato H, Takeda N: Structural and functional analysis of the calicivirus-encoded 3C-like proteases. ibid.

44)Katayama K, Sharp T, Ling W, Guix S, Estes MK: A reverse genetics system for human norovirus that produces infectious reporter RNA. ibid.

45)Seto Y, Iritani N, Seto T, Hattori H, Natori K, Takeda N, Kubo H, Yamano T, Ayata M, Ogura H: Humoral immune responses against norovirus infections of infants. ibid.

46)Ozawa K, Oka T, Takeda N, Hansman G: Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food-handlers in Japan. ibid.

47)Guix S, Asanaka M, Katayama K, Crawforf SE, Neill FH, Atmar RL, Estes MK: Norwalk virus RNA is infectious in mammalian cells. ibid.

48)Miyamura T, Li TC, Takeda N: Hepatitis E virus. The 18th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Seoul, Korea, 2008.3.23-26.

2．国内学会

1) 脇田隆字：Ｃ型肝炎のウイルス培養系の開発とその応用．第43回肝形態科学研究会，東京，2007.5.30.

2) 今村道雄，平賀伸彦，木村俊之，畠山剛，柘植雅貴，野口千笑，高橋祥一，本多政夫，金子周一，脇田隆字，茶山一彰：培養細胞および動物モデルを用いた肝炎ウイルスのインターフェロン感受性の検討．第43回日本肝臓学会総会，東京，2007.5.31-6.1.

3) 相崎英樹，原　弘道，森川賢一，宮村達男，脇田隆字，鈴木哲朗：脂質のＣ型肝炎ウイルス感染，粒子形成における役割．同上．

4) 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）粒子のワクチン開発への応用．同上．

5) 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 polymeraseIシステムを用いた感染性 C 型肝炎ウイルス粒子の作成と抗ウイルス薬の薬効評価への応用．同上．

6) 松浦善治，森石恆司，森屋恭爾，村田茂穂，田中啓二，鈴木哲朗，宮村達男，小池和彦．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PA28・の役割．同上．

7) 堤　武也，松田麻未，森屋恭爾，三好秀征，藤江肇，四柳　宏，新谷良澄，小池和彦，鈴木哲朗，宮村達男．Ｃ型肝炎ウイルスコア蛋白発現細胞におけるミトコンドリア蛋白のプロテオミクス解析．同上．

8) 筬島裕子，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：plque-forming assay を用いた細胞障害性HCV の選択と機能解析．同上．

9) 平賀伸彦，今村道雄，木村俊之，柘植雅貴，野口千笑，高橋祥一，本多政夫，金子周一，脇田隆字，茶山一彰：リバースジェネティクスにより作製したHCV 感染マウスを用いた genotype 別のインターフェロン感受性の検討．同上．

10)森川賢一：The roles of CD81 and glycosaminoglycans in the adsorption uptake of infectious HCV particles．第 20 回肝臓フォーラム(東部)．東京，2007.6.

11)武田直和：ノロウイルスの大流行：特徴と原因．第

48 回日本臨床ウイルス学会，富山，2007.6.2-3.
12)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．同上．
13)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．
14)若月紀代子，川本大輔，香月隆延，渡邉香奈子，吉田　弘: 福岡市における Human Parechovirus 4 の分離．同上．
15)脇田隆字: in vivoとin vitroにおけるHCV複製．第4回ウイルス学キャンプin 湯河原，湯河原，2007.6.6-7.
16)脇田隆字: C型肝炎ウイルスの基礎研究．第3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，2007.6.29.
17)脇田隆字: C 型肝炎ウイルスの感染および複製増殖機構．第 31 回阿蘇シンポジウム「ウイルスと戦う」，熊本，2007.7.27-28.
18)脇田隆字: C型肝炎ウイルスの感染増殖機構．The 6th Hepatitis Expert Meeting，軽井沢，2007.8.25.
19)脇田隆字: Ｃ型肝炎ウイルスの複製および増殖機構．第27回名古屋肝炎セミナー，第116回名古屋肝疾患研究会，名古屋，2007.9.21.
20)武田直和: 食品媒介ウイルス．第 28 回日本食品微生物学会学術総会，東京，2007.9.27.
21)小倉　肇，藤井理津志，大瀬戸光明，西村公志，左近直美，宇田川悦子，後藤俊幸，Gelderblom H: 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．第 23 回中国四国ウイルス研究会，松山，2007.10.
22)Masaki T, Suzuki R, Matsuda M, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Production of infectious hepatitis C virus by using RNA polymerase I-mediated transcription. 第 66 回日本癌学会学術総会，横浜 2007.10.3-5.
23)脇田隆字: Infection and replication of hepatitis C virus. アジア太平洋消化器病週間 Asian Pacific Digestive Week 2007サテライトシンポジウム，神戸，2007.10.17.
24)染谷雄一: 第 8 回プラス鎖 RNA ウイルス国際シンポジウムの報告．ウイルス性下痢症研究会第 19 回学術集会，札幌，2007.10.20.
25)片山和彦: ノロウイルスの新知見．同上．
26)染谷雄一，武田直和，脇田隆字: ノロウイルス 3C 様プロテアーゼを構成するアミノ酸残基の役割．第 55 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2007.10.21-23.
27)本村和嗣，岡智一郎，中村浩美，守　宏美，Hansman G，横山　勝，片山和彦，神田忠仁，武田直和，佐藤裕徳: 2006-2007 年の間に流行したノロウイルスウイルスゲノム解析．同上．
28)小澤一弘，Hansman G，岡智一郎，片山和彦，武田直和: 調理従事者から検出されたノロウイルスの遺伝子解析．同上．
29)原田誠也，岡田峰幸，岡智一郎，Hansman G，武田直和: サポウイルスによる乳幼児散発性胃腸炎の分子疫学解析 -熊本県-．同上．
30)石田勢津子，吉澄志磨，三好正浩，奥井登代，岡野素彦，Hansman G，岡智一郎，武田直和: サポウイルスによる胃腸炎集団発生事例-北海道-．同上．
31)斎藤博之，Hansman G，岡智一郎，武田直和: 保育園で流行したサポウイルスの解析．同上．
32)Hansman G, Oka T, Takeda N: Antigenic diversity of human sapoviruses．同上．
33)宮下佳奈，岡智一郎，Hansman G，山本真民，片山和彦，小川智子，脇田隆字，武田直和: 哺乳動物細胞を用いたサポウイルス様粒子の発現．同上．
34)山本真民，岡智一郎，Hansman G，宮下佳奈，片山和彦，小川智子，脇田隆字，武田直和: サポウイルス粒子形成機構の解析．同上．
35)岡智一郎，横山　勝，宮下佳奈，山本真民，Hansman G，片山和彦，小川智子，脇田隆字，佐藤裕徳，武田直和: カリシウイルスプロテアーゼの基質認識機構の共通性．同上．
36)横山　勝，岡智一郎，山本真民，宮下佳奈，Hansman G，片山和彦，小川智子，神田忠仁，佐藤裕徳，武田直和: サポウイルスプロテアーゼ/ORF1 ポリプロテイン複合体の構造解析．同上．
37)片山和彦，Sharp T，Ling W，Guix S ，Estes M K: Complete reverse genetics system of the human

norovirus. 同上.

38)山下哲生, 森　嘉生, 森石恆司, 李　天成, 宮村達男, 武田直和, 月原冨武, 吉村政人, 松浦善治: E型肝炎ウイルス様粒子の結晶化と X 線結晶構造解析. 同上.

39)李　天成, 宮村達男, 脇田隆字, 武田直和: シジミからのE型肝炎ウイルス遺伝子の検出. 同上.

40)李　天成, 宮村達男, 脇田隆字, 武田直和: キメラマウスにおけるE型肝炎ウイルスの複製. 同上.

41)劉　蘭軍, 恒光　裕, 李　天成, 宮村達男, 脇田隆字, 武田直和: バキュロウイルスを用いたブタサーコウイルス組換え粒子の産生とその応用. 同上.

42)北元憲利, 三好龍也, 内野清子, Grant S. Hansman, 武田直和, 田中智之: サポウイルスに対する単クローン抗体の樹立とその交叉性. 同上.

43)有海康雄, 黒木美沙緒, 阿部健一, 團迫浩方, 池田正徳, 脇田隆字, トロノ・ディディエ, 加藤宣之: DNA損傷センサーATMとChk2はHCVのRNA複製に必要な宿主因子である. 同上.

44)有海康雄, 黒木美沙緒, 阿部健一, 團迫浩方, 池田正徳, 脇田隆字, 加藤宣之: HCVのRNA複製に必要な宿主因子DDX3 DEAD box RNAヘリカーゼ. 同上.

45)加藤孝宣, 脇田隆字, HCV JFH-1株の in vivo での病原性の検討. 同上.

46)海老原敬, 松本美佐子, 脇田隆字, 瀬谷　司: HCV感染アポトーシス細胞を介した樹状細胞の成熟化. 同上.

47)武部　豊, 上西理恵, 納富香子, 長谷彩希, 鈴木哲朗, 脇田隆字: 感染性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による新規標的を持つ HCV 阻害剤の同定とその解析. 同上.

48)江角眞理子, 石橋真理子, 清水洋子, 森田奈央子, 山口裕美, 高山由理子, 野本聡美, 脇田隆字, 清水一史: L-SIGN 陽性細胞の C 型肝炎ウイルス感染感受性解析. 同上.

49)有田峰太郎, 脇田隆字, 清水博之: エンテロウイルス疑似粒子を用いた抗エンテロウイルス薬の探索・評価. 同上.

50)山下康子, 清水博之, 小池　智: エンテロウイルス71感受性マウスL929細胞の樹立. 同上.

51)水谷哲也, 西村秀一, 酒井宏治, 前田　建, 清水博之, 遠藤大二, 福士秀悦, 西條政幸, 緒方もも子, 倉根一郎, 森川茂: 新興ウイルス感染症の網羅的検出方法の確立と応用. 同上.

52)町田早苗, 西村順裕, 名和　優, 伊藤　雅, 清水博之: Human parechovirus (HPeV)抗体保有状況の解析. 同上.

53)清原知子, 米山徹夫, 戸塚敦子, 脇田隆字: A型肝炎ワクチンの接種回数と抗体価の基礎的検討. 同上.

54)嶋崎典子, 清原知子, 戸塚敦子, 梅森清子, 岡田義昭, 米山徹夫: 加熱および加圧によるA型肝炎ウイルスの不活化 -株間の差異の検討-. 同上.

55)村上恭子, 勝二郁夫, 木村敬郎, 鈴木哲朗, 宮村達男, 脇田隆字: 血球系細胞における HCV JFH-1株の感染および複製の検討. 同上.

56)阿部克俊, 村上恭子, 市村徹, 高宮智史, 大崎一直, 鈴木哲朗, 宮村達男, 小池和彦, 脇田隆字, 勝二郁夫: HCV コア蛋白と結合する新規宿主因子hnRNPH1/H2の同定と相互作用解析. 同上.

57)下池貴志, Mckenna SA, Lindhout DA, 脇田隆字, Puglisi DJ: HCV IRESはPKRを活性化するが, それによる翻訳はeIF2のリン酸化耐性である. 同上.

58)相崎英樹, 原弘道, 森川賢一, 井上　寧, 谷　英樹, 松浦善治, 斎藤恭子, 深澤征義, 花田賢太郎, マイケル・ライ, 宮村達男, 脇田隆字, 鈴木哲朗: C型肝炎ウイルス脂質成分の感染における役割. 同上.

59)尾見法昭, 赤澤大輔, 高橋　仁, 森川賢一, 伊達朋子, 石井孝司, 鈴木哲朗, 脇田隆字: 細胞培養系により産生された C 型肝炎ウイルスの免疫原性に関する検討. 同上.

60)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: HCV JFH-1株の複製および感染性ウイルス粒子形成に重要な領域の解析. 同上.

61)石井孝司, 横田恭子, 長谷川秀樹, 永田典代, 森川茂, 福士秀悦, 水谷哲也, 鈴木哲朗, 田代真人, 田口文広: 高度弱毒化ワクチニアウイルス株DIsの組換えSARSワクチンとしての検討. 同上.

62)岩崎優紀, 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, 鈴木哲朗, 神奈木真理, 宮村達男, 明里宏文：C 型肝炎サロゲート霊長類モデル：GBV-B は新世界ザルに潜伏感染する. 同上.

63)伊達朋子, 村山麻子, 赤澤大輔, 森川賢一, 石井孝司, 野本明男, 鈴木哲朗, 脇田隆字: 遺伝子型 2a/2b 間でのキメラウイルスの作製および性状解析. 同上.

64)赤澤大輔, 伊達朋子, 森川賢一, 村山麻子, 尾見法昭, 高橋　仁, 白倉雅之, 鈴木哲朗, 脇田隆字: 肝細胞株における感染性 HCV 粒子の作製と性状解析. 同上.

65)高橋　仁, 尾見法昭, 赤澤大輔, 白倉雅之, 鈴木哲朗, 脇田隆字: エピトープタグを付加した組換え HCV 粒子の作製と性状解析. 同上.

66)森　嘉生, 岡本貴世子, 岡本　徹, 菰田泰正, 鈴木哲朗, 森石恆司, 松浦善治: C 型肝炎ウイルスコア蛋白質のシグナルペプチドペプチダーゼによるプロセシングの生物学的意義. 同上.

67)上西理恵, 納富香子, 長谷彩香, 鈴木哲朗, 脇田隆字, 武部　豊: 新規阻害剤探索のための HCV 感染増殖アッセイ系の樹立とその評価. 同上.

68)脇田隆字: 基礎研究に基づくC型肝炎ウイルスの新規治療とワクチン開発. 第10回熊本ウイルス感染症研究会, 熊本, 2007.10.26.

69)清水博之, 牛島廣治: デオキシノジリマイシン誘導体の抗 HIV 作用. お茶の水女子大学糖鎖科学研究教育センターシンポジウム「糖鎖の機能解明と医療への応用」, 東京, 2007.11.

70)脇田隆字: C型肝炎ウイルスの基礎研究. 第22回臨床肝臓カンファレンス, 東京, 2007.11.10.

71)脇田隆字: C型肝炎ウイルス基礎研究の進歩. 第167回高知肝疾患症例検討会, 高知, 2007.11.20.

72)武田直和：ノロウイルスの検出技術動向. 生物化学的測定研究会, 第 12 回学術シンポジウム, 東京, 2007.12.1.

73)脇田隆字: C型肝炎ウイルスに対するワクチン開発. 第 11 回日本ワクチン学会学術集会, 横浜, 2007.12.8-9.

74)永田典代, 清水博之, 阿部　忍, 長谷川秀樹, 佐多徹太郎, 倉田　毅: Sabin 株由来不活化ポリオワクチンの経粘膜ワクチンへの応用の可能性. 同上.

75)清原知子, 佐藤知子, 米山徹夫, 戸塚敦子, 脇田隆字: A 型肝炎ワクチンの 2 回接種による抗体価の推移. 同上.

76)尾見法昭, 脇田隆字: 細胞培養系により産生された C 型肝炎ウイルス（HCV）のワクチンとしての可能性検討. 同上.

77)石井孝司, 横田恭子, 長谷川秀樹, 永田典代, 森川茂, 福士秀悦, 水谷哲也, 鈴木哲朗, 田代真人, 田口文広: 高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討. 同上.

78)岡智一郎, 山本真民, 宮下佳奈, ハンスマン・グラント, 片山和彦, 脇田隆字, 武田直和: ネコカリシウイルスプロテアーゼのトランス切断活性の検討. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会, 横浜, 2007.12.11-15.

79)片山和彦, ギックス・スザーナ, シャープ・タイラー, リン・ウェイ, クロフォード・スー（ベイラー医大）, 岡智一郎, ハンスマン・グラント, エステス・メアリー: 高効率なノロウイルスリバースジェネティックスシステム. 同上.

80)亀岡洋祐, 長田直樹, 田沼玲子, 平田　誠, 高橋一朗, 笠間　毅, 鈴木哲朗, 猪原登志子, 武曾恵理, 楠田　潤, 橋本雄之, 鈴木和男. 同上.

81)石橋真理子, 清水洋子, 山口裕美, 高山由理子, 野本聡美, 脇田隆字, 清水一史, 江角眞理子: C 型肝炎ウイルス感染における肝臓類洞内皮 C 型レクチン（L-SIGN）の役割. 同上.

82)Munakata T, Wakita T, Nomoto A: Toll-like ewcwptor 3 is a downstream target of Rb/E2F pathway activated by hepatitis C virus. 同上.

83)下池貴志, 染谷雄一, 武田直和, 脇田隆字: ノロウイルスの翻訳開始機構. 同上.

84)脇田隆字: C型肝炎ウイルスの複製および粒子形成. 学術講演会 第10回リサーチフォーラム「ウイルスとヒト」, 東京, 2007.12.22.

85)宇田川悦子: ウイルス感染症学. 綾瀬市, 神奈川県, 2008.1.

86)武田直和: 組換えウイルス様粒子を用いたワクチン開発．日本発のワクチン開発をめざしてⅡ-ワクチン開発の研究・評価に関するフォーラム-, 東京, 2008.1.21.

87)北島正章, 松原康一, 遠矢幸伸, 原本英司, 宇田川悦子, 片山浩之, 大垣眞一郎: 上水道の塩素消毒におけるマウスノロウイルスの感染力価および遺伝子数の消長．水環境学会年会, 名古屋市, 2008.3.

88)宇田川悦子: 自然災害による被害と感染症．新潟県臨床検査技師会研修会, 新潟, 2008.3.

89)武田直和: 人獣共通感染症としてのE型肝炎．東京大学食の安全研究センター, 国際シンポジウム「食の安全と感染症疫学」, 東京, 2008.3.14.

90)染谷雄一, 武田直和, 脇田隆字: ノロウイルス 3C 様プロテアーゼの網羅的変異導入解析．日本薬学会第 128 年会, 横浜, 2008.3.26-28.

91)岡智一郎, 片山和彦, 宮下佳奈, 山本真民, Hansman G, 脇田隆字, 武田直和: サポウイルスプロテアーゼのトランス切断活性．同上.

92)片山和彦: ノロウイルスの感染及び複製の分子機構．平成 20 年農芸化学会大会シンポジウム, 粘膜上皮とウイルス感染: 認識と応答の分子機構と感染予防戦略．名古屋市, 2008.3.26-29.

93)松田　幹, 村上耕介, 鈴木さやか, ハンスマン・グラント, 岡智一郎, 片山和彦: 腸上皮細胞へのノロウイルス・ウイルス様粒子の結合と阻害物質の検索．同上.

III．その他

1) Shirato-Horikoshi H: Histo-blood group antigens and norovirus. Glycoforum. http://www.glycoforum.gr.jp/

2) 白土（堀越）東子：ノロウイルスと血液型抗原．グライコフォーラム http://www.glycoforum.gr.jp/

3) 片山和彦 ノロウイルスの遺伝子型 IASR, http://idsc.nih.go.jp/pathogen/refer/noro-kaisetu1.html

3. ウイルス第三部

部長 田代 眞人

概 要

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

人事異動では、平成19年7月1日付けで岸田典子（第1室研究員)、原田勇一（第1室研究員)、9月1日付けで白倉雅之（第1室研究員）が、12月17日付けで岡本貴世子（第2室研究員）が採用となり、5月10日付けで大槻紀之(第2室研究員)が検定検査品質保証室に併任となった。一方、平成19年4月30日付で二宮愛（第1室研究員)、12月11日付で今井正樹（第1室主任研究官)、平成20年3月31日付けで沼崎啓(第3室室長)が退職した。

当部は、インフルエンザ、風疹、麻疹、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SARSコロナウイルスの性状および病原性発現機構、治療方法の開発等を進めた。センダイウイルスについてリバース・ジェネティクスを用いた研究を進め、P/V/C蛋白の病原性発現への意義付けと、様々なウイルス分離用のインターフェロン抵抗性細胞株の開発を進めた。

国際協力では、WHOインフルエンザ協力センターとして世界各国から送付された分離ウイルスの解析及び候補ワクチンの効果予測を行い、WHOインフルエンザワクチン推奨株を決定した。H5N1型の流行に対しては、WHO H5N1レファレ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. 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。2007/2008シーズンは流行の始まりが例年より1ヶ月以上早かったものの、ウイ

ルス分離数から見た流行規模は例年より小さかった。A/H1、A/H3、B 型の分離比はそれぞれ 87%、8%、5%であった。A/H1 分離株の多くはワクチン株 A/Solomon Islands/3/2006 の抗原類似株であったが、抗原性の異なる株も 1 割以上を占めた。それら変異株は A/Brisbane/59/2007 と類似の抗原性を示した。HA 遺伝子の系統樹解析では、全ての分離株は A/Solomon Islands/3/2006 とは区別される一群を形成した。A/H3 分離株の 95%はワクチン株 A/広島/52/2005 とは明らかに抗原性が異なり、それらは A/Uruguay/716/2007 や A/Lyon/1331/2006 等の A/Brisbane/10/2007 類似株で作製したフェレット抗血清によく反応した。系統樹解析でも A/広島/52/2005 とは明らかに区別される A/Brisbane/10/2007 類似株からなる一群を形成した。一方、B 型ウイルスでは前シーズンに流行した Victoria 系統株は B 型全体の約 3 割にとどまり、山形系統株が大半を占めた。Victoria 系統分離株は抗原的にも遺伝子的にもワクチン株 B/Malaysia/2506/2004 と類似であったが、山形系統分離株は前山形系統ワクチン株 B/上海/361/2002（2005/06 シーズン用）とは異なり B/Florida/4/2006 に類似であった。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、感染研ホームページで一般にも還元された。［小渕正次、高井弘美、氏家誠、望月菊、島袋梢、板村繁之、影山努、白倉雅之、原田勇一、岸田典子、河野直子、小田切孝人、田代眞人］

2. インフルエンザワクチンの臨床評価研究

ワクチン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った。その成績は WHO インフルエンザ協力センター間で交換され、2 月と 9 月に開催された WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議に活用された。［小渕正次、高井弘美、望月菊、島袋梢、影山努、河野直子、齋藤玲子*、鈴木宏*、柏木征三郎**、小田切孝人、田代眞人：*新潟大学医学部公衆衛生学、**福岡県赤十字血液センター］

3. 2007/08 シーズンヒトインフルエンザウイルス流行株の遺伝子解析

インフルエンザウイルスの HA 及び NA 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。そこで、全国の地方衛生研究所および独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）との協力のもとに、2007/08 シーズンの HA 及び NA 遺伝子についての系統樹解析を行った。A/H1N1 亜型の HA 遺伝子は A/Brisbane/59/2007 に代表される D35N、K140E、K145R、R188K、E273K のアミノ酸置換を持つ一群(サブクレード 2B)と、K140E、R188M、E273K の置換を持つ一群(サブクレード 2C)に大別され、昨季ワクチン株の A/ Solomon Islands/3/2006/ の属すサブクレード 2A(K73R)と異なる一群を形成した。A/H3N2 亜型の HA 遺伝子の大半は A/Brisbane/10/2007 及び A/Uruguay/716/2007 に代表される G50E、K140I のアミノ酸置換を持つ一群(ブリスベン 10 系統)に属した。B 型の山形系統では、B/Florida/4/2006 に代表される V251M の置換を持つ一群を形成し、一方、ビクトリア系統では B/Malaysia/2506/2004 に代表される K48N、K80R、K129N の置換を持つ一群を形成した。NA 遺伝子の系統樹も HA 遺伝子の系統樹と同様であった。［氏家誠、小渕正次、影山努、望月菊、島袋梢、田代眞人、堀川博司*、加藤裕美子*、細山哲*、原田健史*、矢代勲*、山田隆一*、藤田信之*、小田切孝人: *独立行政法人製品評価技術基盤機構］

4. インフルエンザウイルス NA 阻害剤（NAI）感受性試験の構築

我が国でインフルエンザ治療薬のノイラミニダーゼ阻害薬が認可されて以来、国内のオセルタミビルの使用量は全世界の生産量の 70%を超えるようになり、耐性株の出現が懸念されている。現在、我が国の NAI 耐性株サーベイランスは NA 遺伝子解析から既知の耐性マーカーを検出することで実施されているが、この方法では未知の耐性マーカーをもつ耐性株が出現した際に見逃してしまうという大きな問題点があった。このため、NA 遺伝子解析と並行して NAI 存在下でウイルスの NA 活性を測定する薬剤感受性試験の構築が必要となった。そこで、NA-star (Aplied Biosystem 社)を酵素基質として用いた

化学発光法による薬剤感受性試験の確立を試みた。測定法の妥当性を評価するため代表的な耐性マーカーH275Y(H1N1)、H155Y(H1N1)、E119V(H3N2)、R292K(H3N2)、R152K(B)を持つ耐性株を用いて 50%NA 活性阻害濃度（IC_{50} 値）を測定した。その結果、全ての耐性株で明らかな IC_{50} 値の増加が認められ、構築した薬剤感受性試験は既知の耐性株を容易に検出する事が可能である事がわかった。この系を用いて、今シーズンの分離株（解析数：A/H1N1 亜型＝140 株、A/H3N2 亜型＝31 株、B 型=6 株）の IC_{50} 値を測定したところ、H275Y の耐性マーカーを持つ A /H1N1 耐性株 22 株について明確な IC_{50} 値の上昇が認められた。［氏家誠、小渕正次、島袋梢、田代眞人、小田切孝人］

5. H275Y 耐性マーカーを持つ A/H1N1 インフルエンザオセルタミビル耐性株サーベイランス

2007 年 11 月以降から EU 諸国を中心に A/H1N1 インフルエンザウイルスの NA 蛋白質に H275Y 耐性マーカーを持つオセルタミビル耐性株が高頻度に分離され、ノルウエーの 67%を筆頭に EU 諸国全体で 20%以上を占めるようになった。複数の国にまたがって、これほど高頻度にオセルタミビル耐性株が分離された例はこれまでになく、オセルタミビル耐性株の世界的な流行が懸念されている。このため WHO グローバルインフルエンザサーベイランスネットワークでは、世界的な耐性株サーベイランスの強化のため、各国における耐性株出現頻度を週単位で報告するように要請している。このような背景から、我が国でも全国地方衛生研究所および NITE と協力して、2008 年分離株を中心に H275Y 耐性マーカーを持つ A/H1N1 インフルエンザオセルタミビル耐性株の緊急サーベイランスを実施した。この結果、NA 遺伝子解析および NAI 薬剤感受性試験により、総解析数 1360 株中 22 株の耐性株が同定され、国内の耐性株の発生頻度は 1.6%であった（2008 年 4 月まで)。これらの発生頻度は欧米や香港などの諸外国に比べて著しく低く、わが国がオセルタミビル最使用国であるにもかかわらず、耐性株の発生状況は今の所通年の状態を維持していることが分かった。また、国内で同定された耐性株は次季ワクチン株である A/Brisbane/59/2007 に抗原的に類似しており、これらの耐性株に対しては次季ワクチンの効果が期待できる事が分かった。さらにこれらの耐性株はオセルタミビルに対しては耐性を示すがザナミビルに対しては感受性であるため、ザナミビルによる治療が有効であることが分かった。［氏家誠、小渕正次、島袋梢、望月菊、田代眞人、堀川博司*、加藤裕美子*、細山哲*、原田健史*、矢代勲*、山田隆一*、藤田信之*、小田切孝人： *独立行政法人製品評価技術基盤機構］

6. 2006/07 シーズンのインフルエンザウイルスの遺伝子解析による薬剤耐性株の検出

現在、インフルエンザの治療薬として NA 阻害薬及び M2 蛋白質阻害薬が認可されているが、インフルエンザウイルスの NA 及び M2 蛋白質の特定部位にアミノ酸置換が起こるとこれらの薬剤に対して耐性となる。そのため、市中流行株の遺伝子解析による薬剤耐性マーカーの検出は薬剤耐性株の出現動向の把握のために重要である。そこで、NITE との共同事業により、2006/07 シーズン（2006 年 10 月～2007 年 9 月）に分離されたインフルエンザウイルスの NA 遺伝子、M 遺伝子について遺伝子解析を行い耐性株の検出を行った。この結果、M2 蛋白質阻害薬の塩酸アマンタジンに対する耐性株の発生頻度は A /H1N1 亜型で約 58% (49/76：耐性株検出数/総解析数)、A/H3N2 亜型で約 83% (168/201)であり、昨シーズン(A /H1N1=約 26%、A/H3N2 亜型=約 84%)に比べ特に A/H1N1 亜型で耐性株の流行が広がっている事が明らかになった。一方、NA 阻害薬のオセルタミビルに対する耐性株の出現頻度は、A /H1N1 亜型で 0% (0/98)、A/H3N2 亜型で 0% (0/251)、B 型で 0%(0/143)であり、2006/07 シーズンにはオセルタミビル耐性株の流行が殆どなかった事が示唆された。［氏家誠、小渕正次、影山努、望月菊、島袋梢、田代眞人、堀川博司*、加藤裕美子*、細山哲*、原田健史*、矢代勲*、山田隆一*、藤田信之*、小田切孝人: *独立行政法人製品評価技術基盤機構］

7. 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677検体を発育鶏卵またはMDCK細胞に接種したところ、8 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。[影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、千々和勝己*、島津幸枝**、山岡政興***、中村雅子****、石崎徹*****、田代眞人、小田切孝人：*福岡県保健環境研究所、**広島県立総合技術研究所保健環境センター、***兵庫県立健康環境科学研究センター、****福井県衛生環境研究センター、*****京都保健環境研究所]

8. 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分類されている。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 clade 2 サブ clade 1(clade 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 clade 2.2、主に中国南部で流行している clade 2.3 である。現在市販されているH5-LAMP検査キットはclade 2.2および2.3に対する反応性が低い事が明らかとなっている。そこで最近の流行株を捉えられるようプライマーの修正変更を行い、各 clade に対する反応性を調べた。その結果、改良した H5-LAMP 検査キットは、clade 2.3 に対してのみ反応性が低く、全ての clade を高感度に検出するためには、さらなる改良が必要であることが分かった。[影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、田代眞人、小田切孝人]

9. 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

ヒトに接種できるインフルエンザ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 A/H5 亜型以外で新型インフルエンザとして出現の可能性がある A/H6、A/H7 および A/H9 亜型株のリアソータントウイルスワクチン株が作製できるか検討した。その結果、LLC-MK2 細胞を用いた RG 法によりこれら亜型のリアソータントウイルスワクチン株の作製にも利用できる事が分かった。[影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、田代眞人、小田切孝人]

10. 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

A/H5 亜型の高病原性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おり、国の新型インフルエンザ対策の一環としてプレパンデミックワクチンの備蓄が進められ、昨年度は、WHO が推奨する NIBRG-14 および Indonesia-5 の 2 株のプレパンデミックワクチンを備蓄した。ワクチン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。本年度は、WHO が推奨する Qinghai-1A、Mongolia-244 および Anhui-01 の 3 株をワクチン候補株として確保した。我々は、これらの A/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、Anhui-01、Qinghai-1A、Mongolia-244 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。[影山努、今井正樹、岸田典子、小田切孝人、田代眞人]

11. 分離した高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルスの性状解析

2007 年にラオスの国立疫学研究所から送付された A/H5N1 インフルエンザ疑いの 16 検体から、MDCK 細胞および孵化鶏卵を用いてウイルス分離を行い 3 株の A/H5N1 ウイルスを分離した。また、2007 年にミャンマーの国立衛生研究所から送付された A/H5N1 インフルエンザ疑いの 25 検体から、MDCK 細胞および孵化鶏卵を用いてウイルス分離を行い 1 株の A/H5N1 ウイルスを分離した。これら分離株について、抗原解析および遺伝子解析を行ったところ、いずれも抗原性は WHO が推奨するプロトタイプワクチン株(A/Anhui/1/2005)と

類似していることがわかった。このことから、2007 年にラオスおよびインドネシアで流行した A/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。[影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、小田切孝人、田代眞人]

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抗原性の流行ウイルスが認められ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 株について昨年度中和抗体価を測定したが、本年度はさらに別の抗原性を有するワクチン候補株 1 株と強毒株 2 株について中和抗体価を測定した。抗原性の異なるワクチン候補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極めて低い交差反応性を示した。強毒株 2 株についてもそれに由来するワクチン株と比較した場合、より低い反応性を示した。[板村繁之、河野直子、原田勇一、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

昨年度より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てきたが、本年度も引き続いて調査を実施した。それらの情報を基に、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実施した。[板村繁之、原田勇一、今井正樹、影山努、白倉雅之、岸田典子、篠原克明*、網康至**、小田切孝人、田代眞人：*バイオセーフティ管理室、**動物管理室]

Ⅱ. 風疹ウイルスに関する研究

1. 風疹抗体測定のための国内標準血清、国内パネル血清の作製と評価(継続)

標準血清、パネル血清は診断キットや検査会社の試験精度管理のために重要である。インフォームドコンセントを得て収集した血清の抗体価を HI 法、 EIA 法、中和法で測定し、抗体価 の相関性を検討したところ、HI 抗体価と EIA 法による抗体価は比較的良く相関し、相互での変換が可能であると考えられた。中和抗体価と HI 抗体価、あるいは EIA 抗体価間にも強くはないが、ある程度の相関性は観察された。今後、検査会社、あるいはキット製造社と協同で再度、血清力価を評価し、標準血清、パネル血清を整備していく予定である。[駒瀬勝啓、岡本貴世子、大槻紀之、海野幸子、堀内善信*、門澤和恵：＊細菌第二部]

2. 風疹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、TO-336 株、松葉株、TCRB 株とその親株（TCRB 株の親株を除く）の全ゲノムの塩基配列をダイレクトシークエンス法で決定した。ゲノム全長は、TO-336 株では 9762 塩基、松葉株、TCRB 株は非翻訳配列に 1 塩基の欠損があり 9761 塩基であった。松葉株と昨年度報告したワクチン株高橋株の配列は非常に相同性が高く、両者間で異なる塩基数は、TO-336 株とその親株、松浦株とその親株間より少なかった。系統樹解析の結果、松葉株と高橋株は clade 1a の Cendehill type に、TO-336、松浦株は clade 1a の RA27 type、TCRB 株は clade 1B に分類された。これらの情報はワクチンの品質管理や風疹ウイルスワクチン株の性状解析にも有用である。[大槻紀之、阿保均、門沢和恵、駒瀬勝啓]

3. 日本における風疹ウイルスの経年的変遷

1960 年代後半から 2007 年までに分離された風疹ウイルスの E1 領域、あるいは構造蛋白質（C, E1, E2）領域の塩基配列を決定し、過去に報告されていた遺伝子の情報も加えて系統樹解析を行い、現在にいたるまでの日本で流行した風疹ウイルスの経年的変異を解析した。1960 年代後半の clade 1a, 1B に所属するワクチン株の親株以降、 clade 1D, 1C, 1j 等の様々な genotype のウイルスが数年毎に日本で流行していることが明らかになった。また、過去に報告のない genotype を形成する年代も観察された。風疹ウイルスの genotype 解析は WHO が次期の目標としている風疹・先天性風疹症候群(CRS)の排除計画にも重要であり今後も継続していく。[大槻紀之、阿保均、

門沢和恵、駒瀬勝啓]

4. 風疹ウイルス高橋ワクチン株の reverse genetic（RG）法の確立と温度感受性に関与する遺伝子の同定

昨年度塩基配列を決定した風疹ワクチン株、高橋株のゲノムを基盤にした風疹ウイルスのリバースジェネティクス(RG)法を確立した。これによってワクチン株を不安定なウイルスとしてではなく、より安定な DNA としても管理できる可能性を示した。また、同時期に流行した風疹ウイルスゲノムとの比較から、風疹ワクチン株が持つ特徴である温度感受性に関与する領域を推測し、RG 法により様々なキメラウイルスを作製し、同定した。これらの技術、知見はワクチン品質管理に重要であるだけでなく、ウイルスの病原性発現機構の解析にも有用である。[駒瀬勝啓、坂田真史*、中山哲夫*：*北里大学]

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

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 細胞継代にともなう 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。培養条件の簡略化、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*、菅井敏行、關文緒、沼崎啓：*慈恵会医科大学]

2. 牛由来成分を使用しない新たなワクチン製造の開発に関する研究

現在わが国で市販されている弱毒生麻疹ワクチンはニワトリ胚培養細胞で増殖したウイルスで製造されている。現状の製造過程ではウシ血清やトリプシン等の動物由来成分が用いられているが、より安全なワクチンを製造するためには、動物由来成分を排除した製造方法を検討する必要がある。無血清培地では通常のウシ胎仔血清添加の条件下よりも著しい付着細胞数の減少が認められ、ウイルス力価も 1.0 log 程度の低下が認められた。新たなウイルス培養法の確立が必要と考えられた。[齋藤義弘*、堤裕幸**、沼崎啓：*慈恵会医科大学、**札幌医科大学]

3. 麻疹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

有効で安全な麻疹ワクチンを製造するためには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基で本システムを導入するためには、製造承認株から 4 代継代以内で十分な量のマスターシード、ワーキングシードを設定し、最大でも継代 5 代以内でワクチンを製造する事が要求される。我が国の麻しんワクチン製造所、3 社では上記の制限下でシードロットシステムの設定が可能であるとしている。製造承認株と 5 代継代後の株間での性状の同一性を検討する必要があると考えられた。[關文緒、菅井敏行、齋藤義弘*、沼崎啓：*慈恵会医科大学]

4. 麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C 株をベクターとして用いた新規ワクチンの開発に関する研究

麻疹ワクチン株 AIK-C 株のゲノムに、ヒト RS ウイルスの G 蛋白質遺伝子あるいは F 蛋白質遺伝子を組み込んだゲノムを作製し、RG 法を利用してリコンビナントウイルスを回収した。得られたリコンビナントウイルスは、細胞内で RSV-G、F 蛋白質を発現し、10^4 $TCID_{50}$/ml 程度の増殖能をしめしていた。また、 リコンビナントウイルスは AIK-C 株の弱毒のマーカーである温度感受性の形質を維持しており、RS ウイルスに対する新規ワクチンとしての可能性が考えられた。[駒瀬勝啓、藤野元子*、中山哲夫*：*北里大学]

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 5 例について調査をおこなった。1 例目はワクチン接種 19 日後に髄膜炎を発症したケース。2 例目はワクチン接種 22 日後に、3 例目はワクチン接種 24 日後に髄膜炎を発症したケースである。4 例目と 5 例目は、どちらもワクチン接種 30 日後に髄膜炎を発症したケースである。いずれのケースも接種したおたふくかぜワクチン株と同じウイルスが髄液から分離され、ワクチンによる副反応である可能性が高いと判断した。[加藤篤、木所稔、渡辺香奈子*、寺杣文男**、細身卓司***、山下照夫****、田代眞人：*新潟県保険環境化学研究所、**和歌

山県環境衛生センター、***高知県衛生研究所、****愛知県衛生研究所］

2. ムンプスウイルスリバースジェネティクス法の確立

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。昨年度構築したミニレプリコンの条件を基礎に、リバースジェネティクス法による cDNA からの感染性ウイルスの回収を試みた。その結果, 全長ｃDNA をトランスフェクト後１週間ほどで Y213 株由来 cDNA pMuV-Y213 およびキメラｃDNA pMuV-BS5 を導入した細胞にムンプスウイルス特有の CPE が出現し、感染性ウイルスが回収された。現在、回収できたウイルスの生物学的性状を in vitro と in vivo で評価中である。［木所稔、加藤篤、齋加志津子*、田代眞人：*千葉県衛生研究所］

3. おたふくかぜ生ワクチンの牛由来成分を使用しない培養方法に関する研究

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。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ホシノ株、ミヤハラ株のゲノム全体に拡げ、ゲノム比較塩基配列決定(CGS)法を用いて無血清培地での継代に於ける安定性を評価することを試みた。15,384 塩基のムンプスウイルスゲノム中、ホシノ株で 13 箇所、ミヤハラ株では 7 箇所あり、そのうちのそれぞれ 9 箇所と 3 箇所がアミノ酸変異を伴うものであった。継代によるゲノムの安定性が株により異なることが確認された。［木所稔、加藤篤、久保田耐、田代眞人］

4. マーモセット脳内接種試験によるムンプスウイルス神経病原性の評価

我々はマーモセットの脳内接種試験によってワクチン株の病原性の違いをするため20頭のマーモセットに国内外のおたふくかぜワクチン 5 株(Jeryl Lynn 株、星野株、鳥居株、宮原株、占部株（統一株 MMR 用）)と野外株 2 株(02-49 株と大館株)を接種し、通常のウイルス学的検索と病理学的検索に加え、MRI による観察を行った。ウイルス学的検索として、リアルタイム PCR によるウイルスゲノムの定量を行った。MRI では、病原性との明確な関連性は認められなかった。リアルタイム PCR の結果ではほぼ全ての個体で中枢神経系の全領域と髄液からウイルスゲノムが検出されたが、中枢神経系のウイルス量の傾向としては 02-49 株＞大館株、国産ワクチン株＞Jeryl Lynn 株となった。大館株ではリンパ組織におけるウイルス量が高いのが特徴であった．病理学的検索の結果では大館、02-49、占部、星野、宮原、鳥居の順に病原性が強いことが示され、ヒトにおける病原性により忠実な結果が得られた。［木所稔、加藤篤、久保田耐、齋加志津子*、網康至**、須崎百合子**、永田典代***、田代眞人：*千葉県衛生研究所、**動物管理室、***感染病理部］

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. 呼吸器細菌感染マウスを用いて分離した高病原性 SARS コロナウイルス(SARS-CoV)に関する研究

弱毒呼吸器細菌パスツレラ菌 (pp)感染マウスでは、SARS-CoV 親株 Fr-1 は重症肺炎誘導能を欠くが、マウス肺で Fr-1 を 10 継代した株（Fr-mo）はその能力を持つ。pp 感染マウスでの Fr-1 株の増殖は、pp 非感染と比べ約 100 倍高い。そこで、pp 感染マウスでの継代の方がより速やかに病原性株が出現するのではないかと考え、pp 感染マウスで Fr-1 を継代した。その結果、継代３代で、高病原性株(Fr-pp)が分離された。Fr-pp の S 蛋白は Fr-1, Fr-mo とは異なり、患者から分離された当初の Frankfurt 株と同一であった。本株は３継代で出現することから、マウスへの馴化ではなく、分与された Fr-1 株に混入していて、pp 感染の肺での増殖能が Fr-1 より高いため、分離された可能性が高い。pp 感染マウスへの Fr-pp の感染は致死的な重症肺炎を引き起こしたが、Fr-mo と同様、本株のみの単独感染では、重症肺炎を誘導することはできなかった。本株がヒトに病原性を示した株と遺伝子レベルでの類似性が高く、重症肺炎誘導能があるので、マウス以外の動物への病原性について検討したい。［田口文広、川瀬みゆき、白戸憲也、渡辺理恵、網康至*：*動物管理室］

2. SARS コロナウイルス（SARS-CoV）の細胞内感染経路の解明

SARS-CoV の感染には、細胞のプロテアーゼであるカテプシンが利用されると考えられている。ウイルスは、まず細胞表面のレセプターに接着し、エンドサイトーシスによりエンドソームに取り込まれる。カテプシンはエンドソーム内でウイルス表面のスパイク（S）蛋白質を切断し、構造変化を誘導することにより、ウイルス膜とエンドソーム膜の融合を引き起こすと考えられている。しかし最近の我々の研究は、カテプシンによる S 蛋白質の切断は、膜融合を誘導する「最終的な引金」では無いことを示唆している。エンドソーム内に未知の因子があり、これが S 蛋白質を活性化する可能性がある。我々は S 蛋白質の活性化条件を詳細に調べることにより、「最終的な引金」を明らかにしたいと考えている。［松山州徳、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（SARS-CoV）同様トリプシン処理により細胞融合を引き起こすことから、細胞内侵入も SARS-CoV 同様の機構であることが示唆された。229E 感染はエンドゾーム（ES）内の酸性化阻害剤の bafilomycin により抑制され、システインプロテアーゼ阻害剤により抑制されることから、その細胞内侵入機構は SARS-CoV と同様で、受容体に結合後、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。そこで、SARS-CoV 感染でも大きな役割を果たしている ES 内プロテアーゼのカテプシンについて検討した。siRNA を用いたカテプシン発現の抑制実験から、少なくともカテプシン L は 229E の細胞侵入に関与することが示唆された。［川瀬みゆき、白戸憲也、松山州徳、田口文広］

4. Respiratory syncytial virus (RSV) 感染における肥満細胞の脱顆粒の検討

重症ケースの RSV 感染症の病態悪化には Th2 免疫応答レベルの上昇が関連することが報告されており、アレルギー性疾患の病態と類似している。肥満細胞は全身組織の血管付近に広く分布しており、肥満細胞から放出される好塩基性顆粒はアレルギー性疾患でケミカルメディエーターとして働いている。肥満細胞の感染症における貢献度は不明であり、RSV 感染症でもその機能は良くわかっていない。そこで RSV 感染における肥満細胞の脱顆粒の検討を行った。培養系の肥満細胞 HMC-1 に RSV を直接接種した場合は脱顆粒が認められなかったが、RSV 感染 A549 細胞と HMC-1 を共培養したところ、RSV 感染後 3、4 日目に、HMC-1 の有意な脱顆粒が見られた。しかし RSV 感染後の A549 培養上清で HMC-1 を培養しても脱顆粒が見られないことから、HMC-1 の脱顆粒には RSV 感染 A549 細胞において発現しているなんらかの膜型分子やサイトカインの paracrine が関与している可能性が示唆された［白戸憲也、田口文広］

5. Respiratory syncytial virus (RSV)の肥満細胞への感染性の検討

RSVの構造蛋白であるG蛋白はフラクタルカイン(CX_3CL1)と構造が近似しているため、そのレセプターであるCX_3CR1と結合することが報告されている。肥満細胞はCX_3CR1を多量に発現しているため、RSVは肥満細胞へ吸着する可能性が高い。本研究ではこの可能性につて検討した。肥満細胞HMC-1は呼吸器上皮細胞のA549と比較して50倍以上のCX_3CR1 mRNAを発現していたが、RSVの吸着性はA549と同程度であった。RSV接種72時間後のA549培養上清では1×10^5 PFU/ml以上のウイルス力価が検出されたが、HMC-1では検出されず、細胞内のRSV蛋白もフローサイトメトリーにより検出できなかった。HMC-1へのRSV感染を促進するためspinoculationを行ったが、感染性ウイルスは検出できなかった。またHMC-1ではRSVのRNA複製効率が極めて悪いことが明らかとなった。以上のことから、CX_3CR1はRSVの吸着性に影響を与えないこと、さらにHMC-1細胞はRSVの複製に関するなんらかの因子を欠くことが示唆された。［白戸憲也、田口文広］

6. マウスコロナウイルスのスパイク（S）蛋白質の構造変化の検出

マウスコロナウイルス MHV-2 (マウス肝炎ウイルス-2 株)の細胞侵入メカニズムは SARS コロナウイルス（SARS-CoV）と類似点が多い。両ウイルスの S 蛋白質が膜融合活性を発揮するためには、二段階の構造変化を必要とすることが予想されている。二段階とは、1)レセプターに S 蛋白質が結合すると一段階目の構造変化が起こり、2) 続いてプロテアーゼにより S 蛋白質が２つに切断されて二段階目の構造変化が起こる、ことである。この二段階構造変化は細胞への感染実験から予想されたモデルであり、実際の蛋白の変化は未だ検出されて

いない。SARS-CoV は構造変化の検出に必要な抗体等の実験材料が不十分であるため、我々はまず実験材料が豊富で、構造変化に関する解析が進んでいる MHV を用いて、電気泳動法やリポソーム浮遊法で構造変化の検出を試みている。［松山州徳、田口文広］

7. ブタコロナウイルスのマウス馴化及びマウス細胞の受容体に関する研究

ブタコロナウイルス流行性下痢ウイルス(PEDV)はブタの下痢の原因ウイルスである。一般に、コロナウイルスは種特異性が高く、通常固有宿主にしか感染しないが、ニワトリやヒトのコロナウイルスを乳飲みマウス脳内で継代することによりマウスに馴化した株が得られる。本研究では PEDV を乳飲みマウスの脳内継代で、マウスに病原性をもつ馴化ウイルスが獲得できるか、病原性の変化と S 蛋白質に関連があるのか、更にマウス脳内での受容体分子は何か、を知る目的で実験を行った。PEDV の乳飲みマウスの脳での継代により、脳内での増殖が高く、臨床症状を誘導する病原性の高いマウス馴化株が得られた。また、得られた株は Vero 細胞で親株と比べ、強い CPE（細胞融合能）を示した。S 蛋白質を比較したところ、4 個のアミノ酸の変異が見られた。今後、アミノ酸変異が CPE 発現に関与するのか、また、マウス脳内での PEDV の受容体及び感染機構について解析を進めたい。［前嶋円、白戸憲也、平井明香*、松山州徳、網康志*、川瀬みゆき、田口文広：*動物管理室］

8. マウス系統間のマウス肝炎ウイルス感受性差に関する研究

マウス肝炎ウイルス(MHV)感受性 C57BL/6 (B６/R1)は CEACAM1a (R1)を、抵抗性 SJL は CEACAM1b (R2)を MHV 受容体として発現している。R1 は R2 と比べ、10-100 倍受容体活性が高い。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、R1 を R2 で置換した C57BL/6（B6/R2）を作成し、B6/R1、及び SJL マウスと共に 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、B6/R2 マウスは B6/R1 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。また、B6/R2 マウスは、R2 を持つ SJL マウスより高い抵抗性を示した。遺伝子置換 B6/R2 の R2 蛋白質は B6/R1 の R1 蛋白質と SJL の R２蛋白質は同程度の発現が見られたことから、SJL と C57BL/6 の感受性差は、単に R1,R2 の受容体活性で説明できないことが明らかとなった。即ち、この対立遺伝子以外にも MHV 感受性に関与する遺伝子が存在する可能性が示唆された。［平井明香*、網康至*、山田靖子*、田口文広：*動物管理室］

9. マウス脳内における神経親和性 MHV-JHM srr７変異株の感染機構

MHV-JHM cl-2 親株（wt）はMHV 受容体発現細胞に感染し、受容体非発現細へも感染拡大するが、その変異株（srr7）は受容体依存性にのみ感染し、神経病原性は wt と比べ低い。然しながら、srr7 の長期感染では、受容体発現細胞ミクログリアのみならず、非発現細胞ニューロンにも感染が認められ、感染後１週間程でマウスを死亡させる。本研究では、srr7 感染後 6 日目にマウス脳から分離したウイルスの受容体非依存性感染性を検討した。その結果、wt と比べ活性は低いが、受容体非依存性に感染するウイルス株が分離され、マウス脳内での受容体非依存性感染への関与が考えられた。分離株の S 蛋白は親株 srr７と比べ 960 番目アミノ酸がセリンからフェニルアラニンに置換されていた。以上の結果から、srr7S 蛋白質遺伝の変異が、受容体非依存性感染能を獲得した原因である可能性が示唆された。今後、この S 蛋白質変異が受容体非依存性感染の原因なのかを培養細胞での S 蛋白質発現により検討したい。［野村理沙*、渡辺里仁*、田口文広：*創価大学工学部］

10. RSV の分子疫学に関する研究

気管支炎乳幼児患者から分離された RSV のうち，代表的な 17 株の Nucleoprotein(N)遺伝子に関する分子疫学解析を行った。その結果，10 株は SubgroupA，7 株は SubgroupB に分類された。N 遺伝子の Subgroup 間のホモロジーは高く，遺伝学的に近縁な RSV が関与していたことが推定された。N 遺伝子以外の遺伝子について，新たに上記以外の臨床分離株を加えて解析中である［野田雅博、木村博一*、水田克巳**、塚越博之***、斎藤義弘****、菅井和子*****：*感染症情報センター、**山形県衛生研究所、***群馬県衛生環境研究所、斎藤義弘****東京慈恵会医科大学、*****国立病院機構横浜医療センター］

11. RSV のヒト化モノクローナル抗体に対する反応性に関するモニタリング

国内で分離された RSV115 株（Subgroup A：73 株, Subgroup B：42）の抗 RSV ヒト化モノクローナル抗体に対する中和反応性を検討した。その結果, いずれの供試分離株も抗 RSV ヒト化モノクローナル抗体に対して 100×$2^{15\text{-}16}$倍の中和価が得られ, Subgroup 間で差は認めなかった［野田雅博、木村博一*、水田克巳**：*感染症情報センター、**山形県衛生研究所］

12. hMPV の分子疫学に関する研究

東日本地方において分離された hMPV146 株について Fusionprotein(F)遺伝子に関する分子疫学解析を行った。その結果, 2004 年の流行は genotype B2 の単一型, 2005 年は genotype A2, B1 および B2 の複数型, 2006 年および 2007 年はいずれも genotype A2 および B2 の複数型の流行であったことが明らかになった［野田雅博、水田克巳*、木村博一**：*山形県衛生研究所、**感染症情報センター］

13. 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。そこで、その効果をセンダイウイルスの V 蛋白質を持続的に発現する細胞を使って調べたところ、発現細胞では転写因子 IRF-3 の転写促進効果が低下していることが明らかになった。［加藤篤、久保田耐、田代眞人、永井美之*：*理化学研究所］

14. I 型インターフェロン産生制御に関わる翻訳後修飾機構

ムンプスウイルスを含む、マイナス鎖 RNA をゲノムにもつウイルスの感染は、Toll 様受容体ファミリーあるいは、RIG-I/MDA5 などの RNA ヘリカーゼモチーフを持つ分子によって、宿主細胞に認識され、I 型インターフェロンを含む種々のサイトカイン産生を誘導する。このようなサイトカイン産生を制御する宿主転写因子及び情報伝達因子のタンパク質翻訳後修飾系について検討を行った。この結果、ユビキチン様修飾因子 SUMO による修飾が I 型インターフェロン産生制御に関与することが明らかとなった。［久保田耐、加藤篤、田代眞人、久保田眞由美*、佐々木次雄*、張賢聡**、尾里啓子**：*細菌第 2 部、**米国 NIH］

サーベイランス業務

Ⅰ．.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、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、本年も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*、落合雅樹**、堀内善信**、小田切孝人、田代眞人：*血液安全性研究部、**細菌第 2 部]

2. 風疹ワクチン中間段階、3 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン 1 ロット、弱毒乾燥生麻しん風しん混合ワクチン 60 ロットの検定を行った。［大槻紀之、岡本貴世子、駒瀬勝啓］

3. 麻疹ワクチン中間段階、3 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン 5 ロット、弱毒乾燥生麻しん風しん混合ワクチン 60 ロットの検定を行った。［染谷健二、關文緒、菅井敏行］

4. おたふくかぜワクチンの小分け製品 10 ロット並びに同中間段階 1 ロットの検定を行ったところ、規格試験を満たし

ており、また添付された書類の精査結果にも問題が無かったため合格とした。[久保田耐、木所稔、加藤篤]

5. インターフェロン製剤12ロット(α-2b 3ロット、pegα-2b 3ロット、aLys 3ロット、α-con 1ロット、天然型B1ロット、天然型γ1ロット)の収去検査を行った。[白戸憲也、田口文広]

レファレンス業務

1. 動物インフルエンザウイルス系統保存における共同研究

新型インフルエンザウイルスの出現時に、それに抗原性が近似したワクチン製造株を速やかに供給できるように、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した。本年度も地方衛生研究所の協力の下、8株のA型インフルエンザウイルス(H5N2、H6N2)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。[岸田典子、影山努、今井正樹、白倉雅之、小田切孝人、田代眞人]

2. 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、15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、1443検体中3検体からA型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認められなかった。[岸田典子、影山努、今井正樹、白倉雅之、小田切孝人、田代眞人]

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

平成19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/Solomon Islands/3/2006(H1N1)(IVR-145)、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]

4. サーベイランスにおけるウイルス保存輸送液，培養器の評価

病原体サーベイランスを効率的に実施するため，試料の採取保存に用いるためのウイルス保存輸送液およびスワブ採取セット(UTM; Ultra transportation medium &Flocked swab kit, Copan)およびウイルス分離増殖に用いるJM cell culture tube (SRAS Berhad)について活用の可否を検討した。UTMは供試したいずれのウイルス(ヒトヘルペスウイルス，RSV，InfV，アデノウイルスおよびRV)に対しても保存期間中のウイルス感染価低下は0.5 log未満であり，条件別保存可能期間は室温(22℃)では3〜7日間，4℃では6〜7日間を示した。Flocked swabは表面構造が繊毛ブラシ状で被験者挿入時に与える違和感も小さくかつ合成素材であることから遺伝子検査にも適しており病原体サーベイランスへの活用は推奨される。

JM cell culture tubeは閉鎖系の培養器であるためバイオセーフティ等では優れているが，使用培養細胞によっては増殖，維持培養が困難であること，形状が鏡検に不適であること等の理由から活用を積極的に推奨する事由はみいだせなかった。[野田雅博、木村博一*、大内好美**、横井一***、五十嵐郁美****、七種美和子*****、川上千春*****：*感染症情報センター、**滋賀県衛生科学センター、***千葉市環境衛生研究所、****福島県衛生研究所、*****横浜市衛生研究所]

5. ARIウイルス検査に伴う標準品の供給体制を構築するため，RSV，RV，PIV，hMPVのそれぞれの標準株および国内臨床分離株を増殖および遺伝子情報を解析しレファレンス参照株として保存した。あわせてそれぞれのウイルス増殖に適した各種株化細胞を保存した。ウイルス株の血清学的同定に用いる標準抗血清はそれぞれのウイルスが血清学的に多型であること，多くの機関において遺伝子解析が日常的に実施可能で

あることなどから，遺伝子情報のジーンバンクへの登録，プローブの作成等を優先して実施中である。[野田雅博，木村博一*、水田克巳**：*感染症情報センター、**山形県衛生研究所]

6. 病原体検出マニュアルの作成

病原体検出マニュアル「ヒトメタニューモ編」を作成した[野田雅博，木村博一*、水田克巳**、塚越博之***：*感染症情報センター、**山形県衛生研究所、***群馬県衛生環境研究所]

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 年末から東南アジア地域を中心に高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザ(H5N1-HPAI)が再流行し、感染地域はさらに中国、ロシア、中東、アフリカ、ヨーロッパ諸国へと拡がりをみせている。東南アジアなど多くの流行国では、病死した鳥との濃厚接触により感染する例が多く、これまでに 14 カ国で 350 人以上の感染例と 200 人以上の死亡例が確認されており、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より H5 ウイルス感染が疑われる患者検体を受け入れ、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。[影山努、今井正樹、白倉雅之、岸田典子、氏家誠、望月菊、板村繁之、原田勇一、河野直子、小渕正次、高井弘美、島袋梢、小田切孝人、田代眞人]

2. ラオスナショナルインフルエンザセンター（NIC）構築へ向けた国際協力

ラオス国立感染症疫学研究所は WHO から NIC として承認されていない。したがって、インフルエンザ株サーベイランス体制の構築、諸外国のサーベイランス情報など WHO-GISN からの支援を受けられない。そこで、今年度から NIC として承認されるために、国内におけるサーベイランス網の充実、WHO 協力センターとの交流を積極的に進めている。感染研は、H5N1 鳥インフルエンザ診断検査において当該研究所と交流があり、現地スタッフへの研修や技術支援をしてきた。このような経緯から、現地へ赴き、当該研究所の NIC 承認にむけたコンサルテーションおよびインフルエンザウイルス分離施設の構築、培養細胞系の構築などのための助言と技術指導を行った。[小田切孝人]

3. ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)における高危険度病原体の実験室診断能力強化への技術支援

ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)において国際協力機構(JICA)が実施している BSL3 実験室の供与と技術移転のプロジェクトに、平成 19 年 7 月 22 日から 8 月 4 日、平成 20 年 1 月 6 日から 1 月 19 日の二回にわたって参加し、高病原性鳥インフルエンザの実験室診断を安全に信頼性の高いレベルで実施するための技術支援を行った。[板村繁之]

4. 台湾中華民国衛生署薬物食品検験局(BFDA)におけるインフルエンザワクチンの品質管理に関する国際協力

平成 19 年 12 月 2 日から 6 日まで台湾衛生署薬物食品検験局を訪問して、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、インフルエンザワクチンの品質管理に関する問題点や課題などについて討論を行った。[板村繁之、*堀内善信：*細菌第 2 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共同研究への参加

新型インフルエンザワクチンの効果判定のひとつの指標として中和抗体価があるが、その手技は標準化されておらず測定値の一致度についても充分には検証されていない。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中和抗体測定法に関する国際共同研究を実施し、当研究室も手技の国際的な標準化のために参加した。[板村繁之、河野直子、原田勇一、小田切孝人、田代眞人]

6. 鳥インフルエンザウイルスに対する中和抗体測定法の技術研修

インドネシア保健省研究開発センター(NIHRD)から２名の研究者を平成 19 年 8 月 26 日から 9 月 29 日、および平成 20 年 2 月 24 日から 3 月 30 日まで受け入れ、鳥インフルエンザ A/H5N1 ウイルスに対する中和抗体測定法の技術研修を実施し、インドネシアのヒト血清について中和抗体の測定を行った。[板村繁之、河野直子、原田勇一、小田切孝人、田代眞人]

７． 5th Global measles and Rubella Laboratory network meeting に参加し、日本の風疹ウイルスの分子疫学についての発表を行うとともに、開発途上国における診断法、検体輸送法、精度管理等に関して議論した。［駒瀬勝啓］

８． Vero/hSLAM 細胞の分与

WHO の西太平洋地域（WPRO）の 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、求めに応じて国内外の研究施設に分与している。［關文緒、菅井敏行、沼崎啓、田代眞人］

9. WHO 西太平洋地域諸国における麻疹サーベイランスへの協力

WHO、WPRO の RRL として、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、並びに抗麻しん抗体の検出を行っている。［染谷健二、關文緒、菅井敏行、沼崎啓、田代眞人］

研修業務

1. 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、Real-time PCR および LAMP 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。［影山努、今井正樹、氏家誠、田代眞人、小田切孝人］

2. 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」の講義を行った。［駒瀬勝啓］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Ujike, M., Nishikawa, H., Otaka, A., Yamamoto, N., Yamamoto, N., Matsuoka, M., Kodama, E., Fujii, N. and Taguchi, F. :Heptad repeat-derived peptides block the protease-mediated direct entry from cell surface of SARS coronavirus but not entry via endosomal pathway. J.Virol. 82: 588-592 (2008)

2) Imai M., Kawasaki K., and Odagiri T. Cytoplasmic domain of influenza B virus BM2 protein plays critical roles in production of infectious virus. J. Virol.82: 728-739 (2008)

3) Ichinohe T, Nagata N, Strong P, Tamura SI, Takahashi H, Ninomiya A, Imai M, Odagiri T, Tashiro M, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Prophylactic effects of chitin microparticles on highly pathogenic H5N1 influenza virus. J Med Virol. 79: 811-819 (2007)

4) Darmma .B, Klimov. A, Odagiri .T, Burma .A, Tsatsral.S, Naranbold.N, Enkhsaikhan .D, Nymadawa. P. Characteristics of influenza virus epidemic strains in 2005-2006 season in Mongolia. Mongolia J. Infect. Dis. Res. 14: 2-6 (2007)

5) Ichinohe T, Tamura S, Kawaguchi A, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Mitchell WM, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Cross-Protection against H5N1 Influenza Virus Infection Is Afforded by Intranasal Inoculation with Seasonal Trivalent Inactivated Influenza Vaccine. J Infect Dis. 196:1313-1320 (2007)

6) Ichinohe T, Kawaguchi A, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C(12)U, a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. Microbes Infect. 9:1333-1340 (2007)

7) Imai .M, Ninomiya .A, Minekawa .H, Notomi .T, Ishizaki .T, Van Tu .P, Tien. T. K .N, Tashiro.M, and Odagiri .T Rapid diagnosis of H5N1 avian influenza virus infection by newly developed influenza H5 hemagglutinin gene-specific Loop-Mediated Isothermal Amplification method J.Virol. Method 141: 173-180 (2007)

8) Ninomiya, M. Imai, M. Tashiro and T. Odagiri 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)

9) Murayama, R., Harada, Y,. Shibata, T,. Kuroda, K., Hayakawa, S., Shimizu, K., Tanaka, T. :Influenza A virus non-structual protein 1 (NS1) interacts with cellular multifunctional protein nucleolin during infection. Biochem. Biophys. Res. Commun. 362: 880-885 (2007)

10) Nagata, N., Iwata N., Hasegawa, H., Sato,Y., Morikawa, S., Saijo,M., Itamura, S., Saito,T., Ami,Y., Odagiri, T.,Tashiro,M., Sata,T.,: Pathology and virus dispersion in cynomolgus monkeys experimentally infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus via different inoculation routes. Int. J. Exp. Path. 88: 403-414 (2007)

11) Haga T, Murayama N, Shimizu Y, Saito A, Sakamoto T, Morita T, Komase K, Nakayama T, Uchida K, Katayama T, Shinohara A, Koshimoto C, Sato H, Miyata H, Katahira K, Goto Y. Analysis of antibody response by temperature-sensitive measles vaccine strain in the cotton rat model.Comp Immunol Microbiol Infect Dis. Feb 2 (Epub) (2008)

12) Momose F, Kikuchi Y, Komase K, Morikawa Y. Visualization of microtubule-mediated transport of influenza viral progeny ribonucleoprotein. Microbes Infect. 9: 1422-1433 (2007)

13) Fujino M, Yoshida N, Kimura K, Zhou J, Motegi Y, Komase K, Nakayama T.Development of a new neutralization test for measles virus. J Virol Methods. 142: 15-20 (2007)

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

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

16) Goto T, Kimura H, Numazaki K, Akiyama M, Kato M, Noda M, Nozaki Y, Tanaka-Taya K, Taniguchi K, Yamagata T, Nishio O, Oogane T, Momoi MY, Okabe N. A case of menigoenchephalitis associated with human G1P [8] rotavirus infection in a Japanese child. Scand J Infect Dis. J, 39: 1067-1081 (2007)

17) Asanuma H, Numazaki k. Intrauterine dual infection with cytomegalovirus and Chlamydia trachomatis. Eur J Gen Med, 4: 199-200 (2007)

18) Numazaki K. Current concepts of management for congenital cytomegalovirus infection. Trends in Developmental Biology, 2:1-11 (2007)

19) Kato, A., Kiyotani K., Kubota T., Yoshida T., Tashiro M., Nagai Y., Importance of anti-interferon capacity of the Sendai virus C protein for pathogenicity in mice J. Virol. 81:3264-3271 (2007)

20) Kiyotani, K., Sakaguchi T., Kato A., Nagai Y.,Yoshida T., Paramyxovirus Sendai virus V protein counteracts innate virus clearance through IRF-3 activation, but not via interferon, in mice. Virology. 359:82-91 (2007)

21) Tailor P, Tamura T, Kong HJ, Kubota T, Kubota M, Borghi P, Gabriele L, and Ozato K. The feedback phase of type I interferon induction in dendritic cells requires interferon regulatory factor 8. Immunity. 27:228-239 (2007)

22) Ozato K, Tailor P, and Kubota T. The interferon regulatory factor family in host defense: mechanism of action. J Biol Chem. 282:20065-20069 (2007)

23) Kitabatake M, Inoue S, Yasui F, Yokochi S, Arai M, Morita K, Shida H, Kidokoro M, Murai F, Le MQ, Mizuno K, Matsushima K, Kohara M., SARS-CoV spike protein-expressing recombinant vaccinia virus efficiently induces neutralizing antibodies in rabbits pre-immunized with vaccinia virus. Vaccine. 25: 630-637 (2007)

24) Ami Y, Nagata N, Shirato K, Watanabe R, Iwata N, Nakagaki K, Fukushi S, Saijo M, Morikawa S and Taguchi F :Co-infection of respiratory bacterium with SARS coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. Microbiol. Immunol. 52: 118-127 (2008)

25) Watanabe R, Sawiki S, and Taguchi F :Heparan sulfate is a binding molecule but not a receptor for ,CEACAM1-independent infection of murine coronavirus. Virology 366: 16-22 (2007)

26) Fukushi S, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Taguchi F, Yokoyama M, Kurane I and Morikawa M. :Amino acid substitutions in S2 region enhances SARS-CoV infectivity in rat ACE2-expressing cells. J. Virol. 81:10831-10834 (2007)

27) Shirato K, Momotani E, Takata M ,Sekikawa K, and Taniguchi T. :Tumor necrosis factor alpha is not a pathogenic determinant in acute lethal encephalitis induced by a highly neurovirulent strain of mouse hepatitis virus. Arch. Virol. 153:549-553 (2008)

28) Taguchi F. Entry mechanism of murine and SARS coronaviruses; similarity and dissimilarity. In Structure-based Study of Viral Replication. Eds. by Holland Cheng and Tatsuo Miyamura. pp World Scientific Publishing. 77-90 (2008)

29) Shirato K, and Mizutani T. Hayashi T.(ed.). Viral proteins, host cell proteins, and manipulation of the cell cycle by viruses. Progress in Cell Growth Research, Nova Science Publishers, Inc., New York, USA. in press (2008)

30) Goto T, Kimura H, Numazaki K, Akiyama M, Kato M, Noda M, Nozaki Y, Tanaka-Taya K, Taniguchi K, Yamagata T, Oogane M, Okabe N. A case of menigoentchephalitis associated with G1P[8] rotavirus infection in a Japanese infant. Scandinavian J. Infect. Dis. 39: 1067- 1070 (2007)

31) Morita Y, Suzuki T, Shiono M, Shiobara M, Saitoh M, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Ishioka T, Kato M., Kozawa K, Tanaka –Taya K, Yasui Y, Noda M, Okabe N, Kimura H. Phylogenetic analysis of nucleoprotein(N) gene in measles viruses prevalent in Gunma, Japan, in 2007. Jpn. J. Infect. Dis., 60: 402- 404 (2007)

32) Morita Y., Kogyre H., Sandoh M., Kawashima G., Sato Y., Nanba S., Shoda Y., Suzuki T., Shiono M., Kato M., Kozawa K., Noda M., Okabe N., Kimura H.: An imported case of dengue fever virus type 3 infection in gunma, Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 61:90-92（2008）

2. 和文発表

1) 小田切孝人：わが国におけるインフルエンザ対策の現状と問題点 Progress in Medicine 27: 2253-2257.2007

2) 小田切孝人：インフルエンザ流行株の分析とワクチン株の選定 治療学 41：1017-1021.2007

3) 駒瀬勝啓：麻疹と麻疹ウイルス(measles virus). 診療研究、431:10-16. 2007

4) 駒瀬勝啓：風疹ワクチンの効果と再感染、臨床とウイルス、36(1):32-38. 2008

5) 沼崎啓：医薬品各条 乾燥弱毒生麻しんワクチン. 渡辺治雄編.生物学的製剤基準解説 2007 年版.東京,（株）じほう,140-148. 2007,

6) 沼崎啓：医薬品各条 弱毒生麻しんおたふくかぜ風しん混合ワクチン. 渡辺治雄編.生物学的製剤基準解説 2007 年版.東京,（株）じほう 149-151. 2007,

7) 沼崎啓:サイトメガロウイルス. 岡部信彦編. 小児感染症学. 東京, 診断と治療社 373-378. 2007

8) 沼崎啓：麻疹ウイルス株の遺伝子解析. 病原微生物検出情報 28:244-245. 2007

9) 沼崎啓：ＲＳウイルス感染症. 感染と抗菌薬 10:365-369. 2007

10) 狩山雅代、野口秀樹、吉田永祥、内野清子、三好龍也、松尾光子、田中智之、藤井史敏、阪本瑠子、武内一、片桐真二、西垣正憲、沼崎啓：麻しん家族内感染事例とその対応-堺市.病原微生物検出情報 28: 147-149. 2007

11) 加藤篤、清谷克寛 ：センダイウイルス感染と宿主自然免疫 蛋白質核酸酵素 52:1194-1199 2007

12) 加藤篤、清谷克寛：自然免疫とセンダイウイルスアクセサリー蛋白質 臨床とウイルス 35:12-20 2007

13) 木所稔：おたふくかぜの再感染と vaccine failure の基礎 臨床とウイルス 36:39-49 2008

14) 田口文広：重症急性呼吸器症候群（SARS） 分子呼吸器病 第 11 巻 第 1 号 42−47 2007

15) 田口文広:川崎病とウイルス感染 小児科 第 43 巻 第 10 号 1411-1416 2007

16) 木村博一, 石岡大成, 野田雅博, 加藤政彦：喘息と RS ウイルス感染症—ウイルス学的・免疫学的検討—：小児科, 48(13), 1921- 1928 2007

17) 大内好美, 田中千香子, 横井一, 秋山美穂, 木村博一, 野田雅博, 田代眞人：市販ウイルス保存輸送液およびスワブ採取キットの評価, 臨床とウイルス 36(1), 61- 64 2008

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Ujike, M., Nishikawa, H., Otaka, A., Yamamoto, N., Yamamoto, N., Matsuoka, M., Kodama, E., Fujii, N. and Taguchi, F. :Heptad repeat-derived peptides block the protease-mediated direct entry from cell surface of SARS coronavirus but not entry via endosomal pathway The Awaji

International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan. Sep 1-5. 2007

2) Imai, M., Kawasaki, K., and Odagiri, T.: The cytoplasmic domain of influenza B virus BM2 protein plays critical roles for the production of influenza virus. Options for the Control of Influenza VI, Tronto, June, 2007

3) CA Russell, TC Jones, IG Barr, NJ Cox, K Fukuda, V Gregory, I Gust, AW Hampson, AJ Hay, AC Hurt, JC de Jong, AI Klimov, AS Lapedes, YP Lin, A Mosterin, T Odagiri, ADME Osterhaus, GF Rimmelzwaan, MW Shaw, E Skepner, K Stohr, M Tashiro, WQ Zhang, RAM Fouchier, DJ Smith Global patterns in the evolution and epidemiology of influenza A(H3N2) virus from 2002 to 2007. Options for the Control of Influenza VI, Tronto, June, 2007

4) Odagiri, T. : International support for influenza surveillance and control in Lao PDR. NIC review Meeting at Vientiane, Lao PDR. Oct. 2007

5) Odagiri, T. : Update of influenza surveillance information and vaccine strain selection-Northern abd Southern Hemisphere. NIC review Meeting at Vientiane, Lao PDR. Oct. 2007

6) Takeuchi, K., Ninomiya, K., Komase, K., Nakayama, T., and Nagata, K.: Reverse genetics of mumps virus Hoshino vaccine strain Workshop on Replication and Cell Biology of Negative Strand RNA Viruses. Evanston, Illinois, USA. Sep.15-19, 2007

7) Numazaki K. Current strategies of measles elimination in western pacific region. 5th World Congress of the World Society for Pediatric Infectious Diseases, Bangkok, Thailand, Nov. 15-18, 2007

8) Taguchi F : Protease-mediated entry of SARS-CoV from cell surface: implication in pathogenesis. Christophe Merieux Conference: Trends in Virology. Veyrier du Lac, June 24-26, 2007

9) Taguchi F., Nagata N., Iwata N., Ami Y. Severe respiratory disease of mice co-infected with SARS-CoV and respiratory bacterium. 26th ASV annual meeting. Corvallis, Oregon, July 14-18, 2007

2. 国内学会

1) 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：2006/07 シーズンのインフルエンザ流行株と平成 19 年度のワクチン株　第 55 回日本ウイルス学会・総会、札幌、2007 年 10 月

2) 川上千春、小渕正次、七種美和子、野口有三、小田切孝人、田代眞人：インフルエンザ市中流行株における NA 阻害薬耐性 A 型ウイルスの解析　第 55 回日本ウイルス学会・総会、札幌、2007 年 10 月

3) 影山努、今井正樹、二宮愛、氏家誠、田代眞人、小田切孝人：Real-time RT-PCR 法による H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス核酸検出系の構築　第 55 回ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

4) 今井正樹、影山努、氏家誠、納富継宣、峯川晴美、田代眞人、小田切孝人：Lamp (loop-mediated isothermal amplification)法による H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス遺伝子検出系の開発 II 第 55 回ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

5) 田口文広、氏家誠　：SARS コロナウイルス スパイク(S)蛋白の Heptad Repeat(HR)由来 Peptide による細胞表面からのウイルス侵入の抑制 平成１９年度科研費特定領域「感染現象のマトリックス」第４回全体会議、2008 年 1 月

6) 藤井信孝、大石真也、西川祐輝、渡部毅、大野章浩、氏家誠、田口文広、児玉栄一、松岡雅雄：ケミカルバイオロジーを基盤とする新興・再興ウイルス侵入阻害剤の開発研究　第 4 回ケミカルバイオロジーシンポジウム、2008 年 2 月

7) 池野大介、来海和彦、工藤康博、後藤修郎、板村繁之、小田切孝人、田代眞人、城野洋一郎：マウスにおけるプレパンデミックワクチンによるプライミング効果の検討　第 11 回日本ワクチン学会、　横浜、2007 年 12 月

8) 海野幸子、大槻紀之、庵原俊昭、浅野喜造、岡田賢司、田代眞人、駒瀬勝啓: 風疹標準パネル血清候補の評価：中和抗体価に関して、第 48 回日本臨床ウイルス学会、富山、2007 年 6 月

9) 二宮健吾、中山哲夫、駒瀬勝啓、竹内薫、永田恭介：ムンプスウイルス星野株のリバースジェネティックス系構築、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年

10 月

10) 樋口彰、駒瀬勝啓、中山哲夫：SSPE（亜急性硬化性全脳炎）ウイルスの細胞融合能の解析、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

11) 澤田成史、駒瀬勝啓、中山哲夫：RS ウイルスの外殻蛋白を発現するキメラ麻疹ウイルスの作製、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

12) 坂田真史, 駒瀬勝啓, 中山哲夫: 弱毒風疹生ワクチン：KRT 株が示す温度感受性を担うゲノム領域の同定、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

13) 百瀬文隆、菊池雄士、駒瀬勝啓、森川裕子：新規抗インフルエンザウイルス NP モノクローナル抗体による粒状抗原の可視化, 第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

14) 大倉喬、菊池雄士、駒瀬勝啓、百瀬文隆、森川裕子：H5N1 型高病原性トリインフルエンザウイルス HA に結合する中和モノクローナル抗体のエピトープ解析、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

15) 大槻紀之、田代眞人、駒瀬勝啓: 風しんワクチン株の全塩基配列の決定とワクチン品質管理への応用、第 11 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2007 年 12 月

16) 佐藤弘、多屋馨子、駒瀬勝啓、田代眞人、岡部信彦：わが国のおける麻疹及び風疹の対する抗体保有状況(2006 年感染症流行予測調査より)、第 11 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2007 年 12 月

17) 齊藤暁、峯雄太、駒瀬勝啓、中山哲夫、宮田博規、後藤義孝、芳賀猛：コットンラット肺細胞における野生株麻疹ウイルスの馴化、第 145 回日本獣医学会学術集会　神奈川県相模原麻布大学、2008 年 3 月

18) 樋口彰、駒瀬勝啓、中山哲夫：RSV、インフルエンザウイルス抗原を発現する組換え麻疹ワクチン AIK-C 株の樹立　澤田成史、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・ワクチンの有効性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究、東京、2008 年 3 月

19) 坂田真史、駒瀬勝啓、中山哲夫：風疹ワクチン高橋株の p150 タンパクの 1042 位の His が温度感受性を規定する、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・ワクチンの有効性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究、東京、2008 年 3 月

20) 牛島廣治、早川有子、駒瀬勝啓：母乳の風疹ウイルス中和活性能に関する研究、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・ワクチンの有効性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究、東京、2008 年 3 月

21) 加藤篤、清谷克寛、久保田耐、坂口剛正、吉田哲也、田代眞人、宿主細胞の自然免疫反応に対するセンダイウイルス V 蛋白質の影響、第 55 会日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

22) 木須友子、岡本道子、山田堅一郎、堀亨、矢野寿一、渡邊王志、久保田耐、木所稔、近江彰、加藤篤、西村秀一、センダイウイルス C 蛋白遺伝子導入による低インターフェロン感受性―高ウイルス感受性 HEp-2 細胞作出の試み、第 55 会日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月

23) 中垣慶子、野村理沙、渡辺里仁、田口文広：マウス肝炎ウイルス MHV-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 11 回神経ウイルス研究会、草津、2007 年 7 月

24) 野村理沙、渡辺里仁、田口文広：JHMV　srr7 のマウス脳内における感染の広がり 第 11 回神経ウイルス研究会、草津、2007 年 7 月

25) 白戸憲也、川瀬みゆき、田口文広：ヒトコロナウイルス(HCoV)229E のスパイク(S)蛋白をもつ VSV シュードタイプウイルスの作製と HCoV の細胞侵入機構解析 第 55 回日本ウイルス学会総会、札幌、2007 年 10 月

26) 高月英恵、野村理沙、田口文広、渡辺里仁：srr７のマウス脳内における感染の広がり 第 55 回に本ウイルス学会総会、札幌、2007 年 10 月

27) 野村理沙、渡辺里仁、田口文広：マウス脳内における srr７の変異に寄る感染拡大 第 55 回に本ウイルス学会総会、札幌、2007 年 10 月

28) 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲朗 田代眞人、田口文広：高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の組み換え SARS ワクチンとしての検討　第 55 回に本ウイルス学会総会、札幌、2007 年 10 月

ウイルス第三部

4．細 菌 第 一 部

部 長　渡 邉　治 雄

概　要

今年度の目標の一つは、アジアの研究機関とのラボネットワークの構築が挙げられる。厚生労働科学研究費新興・再興研究事業によっても支援され、３年目を迎える節目として、インド国立下痢症研究所(NICED)で米国CDCをはじめとしアジア13カ国の CDC 様研究機関の細菌担当者が集まり,Pulse-Net Asia Pacific の会議を開催した。プロトコールの標準化、および解析結果のデータベース化に関する方向性が確認された。各国から感染研の資金面等への支援に対しての謝辞が述べられ、アジアの中での共同研究の促進、および研究者間の交流促進に寄与できていると確信ができた。参加国による *V.cholerae* を用いての PFGE 法の標準化および精度管理を行ったデータが国際雑誌にまとめられ、publication ができたことも成果を形に残せたということで評価ができる。また、今年から WPRO の要請もあり、ラオスの NCLE(National Center for Laboratory and Epidemiology)の細菌関係部門の実験室診断・研究強化支援を開始した。実験手技の SOP、菌株の stock management,data management、sample collection 等を一から支援しているが、軌道に乗るまでにはしばらく時間がかかるであろう。国際貢献というものは、人的な信頼性が基盤となるところが大きいので、足を地につけながら一歩一歩踏みしめていくしかない。今後も部員の活動に期待したい。

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、厚生労働科学研究費レギュラトリーサイエンス研究費、国際医療協力事業費、文科省科研費，および広域食中毒対策事業費等を得た。

伊豫田淳が「腸管出血性大腸菌の病原性遺伝子の発現調整機構」の研究成果により細菌学会黒屋奨励賞を受賞した。部の人事としては、平成 19 年 11 月１日付で、山本章治が研究職員（任期付き）として採用された。

業　績

調査・研究

Ⅰ．腸管出血性大腸菌（志賀毒素産生性大腸菌）に関する研究

（１）志賀毒素産生性大腸菌の血清型に関する研究

平成 19 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 3,105 株であり、上位を占めた O 血清群は O157（約 77%: H7 または H-），O26（約 14%: H11 または H-），O111（約 3.3%: H-，または H8），O121（約 1.4%: H-または H19），O103（約 1.2%: H2，H11，または H-），O91（約 0.64%: H14，H21 または H-）で、その他の菌株（約 2.2%）は少なくとも 19 の O 血清群、30 の血清型に分類された。[伊豫田淳、高井信子、泉谷秀昌、寺嶋淳、

佐藤人美、陸彦、石原朋子、小泉信夫、森田昌知、渡辺治雄]

（２）腸管出血性大腸菌が保有する病原性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、T3SS を介して宿主細胞へ局在す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 Ler によって正に制御されている。Ler の転写発現は 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 は運動器官であるべん毛の発現を抑制する負の制御因子であると共に、メガプラスミド pO157 にコードされる溶血素、エンテロヘモリシン（Ehx）の発現を正に制御する。

ア．染色体上の任意の部位に発現レポーター遺伝子を迅速に導入する技術の確立

Datsenko と Wanner が開発した遺伝子破壊法を応用し、染色体上の任意の部位にレポーター遺伝子を迅速・簡便に導入する方法を確立した。レポーター遺伝子と薬剤耐性マーカー遺伝子がタンデムに並んだ DNA 断片（両末端に任意の部位との相同配列をもつ)を二段階の PCR 反応を介して増幅し、これを染色体上の任意の部位に導入する。このレポーター遺伝子の発現は非常に安定であり、構築法も従来の方法に比べると極めて迅速かつ簡便である。現在、主要な病原性遺伝子の下流に *lacZ* レポーター遺伝子を導入した株を構築し、それらのレポーター遺伝子の発現に影響を及ぼす新規な因子を探索中である。[山本章治、伊豫田淳、佐藤人美、寺嶋淳、渡辺治雄]

イ．GrlA による *ehx* オペロンの転写活性化

GrlA による Ehx 発現上昇の分子機構を解明する目的で、*ehx* オペロンの先頭の遺伝子 *ehxC* と *lacZ* の転写融合体を上記の方法によって構築し、転写活性を解析した。その結果、GrlA の増加に伴う *ehxC-lacZ* の発現上昇が確認され、GrlA による Ehx の発現制御は転写開始レベルで行われていると結論された。*ehx* オペロンの最下流遺伝子 *ehxD* の転写発現量を RT-PCR によって解析したところ、GrlA によって転写が活性化されており、GrlA の発現上昇に伴って *ehx* オペロン全体の転写発現が活性化されることが判明した。[伊豫田淳、山本章治、齊藤剛仁（感染症情報センター)、佐藤人美、寺嶋淳、渡辺治雄]

ウ．発現制御能欠損 GrlA 変異体の単離と GrlA による病原性遺伝子群の発現制御機構の遺伝学的解析

負の制御因子 GrlR は GrlA に結合してその活性を阻害する。*grlR* 欠損株では GrlA が構成的に発現するため、Ehx の発現上昇に伴って血液寒天平板上で大きな溶血環を形成し、一方、低濃度寒天平板上で非運動性を示す。これら二つの表現型を利用して、GrlA の機能欠損変異株を自然発生的に単離した。その結果、べん毛および Ehx の発現制御能が欠損しているが、LEE の発現制御には影響のない突然変異株が複数単離可能であることが明らかとなった。以上の結果は、GrlA によるべん毛と Ehx 発現制御機構と LEE に対する作用機構が同じではないことを示唆している。[伊豫田淳、佐藤人美、山本章治、寺嶋淳、渡辺治雄]

（２）腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2007 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 2436 株および O26，O111 等を含むその他の血清型 702 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。

2007 年分離の O157 については、*Xba*I 消化により 973 種類の PFGE パターンが観察され、多様なクローンの存在が継続していることが示唆された。一方、多くの都府県（6～22 ヶ所）から分離されたパターンとして、Type No.(TN) a829, a259, b142, b293, b705, c47 の６種類があった。これらの 6 種類のパターンを示す株は、*Bln*I 消化によってもそれぞれ大部分が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、菱谷　愛、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、渡辺治雄]

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

PFGE により TN b142, b293, b705, c47 を示す腸管出血性大腸菌 O157 のうち、*Bln*I パターンが一致している株を Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis(MLVA)法により 9 種類の遺伝子座について調べた。それぞれのパターンを示す株において、すべての遺伝子座でリピート数が一致する株がある一方で、複数の遺伝子座でリピート数が異なる株があったことから、PFGE で同一パターンを示す株のなかでも遺伝学的に異なる株が存在することが示唆された。さらに、22 都府県から 119 株が分離されている TN c47 では、BlnI パターンにおいても全てが同一パターンを示し、83 株は MLVA でもすべての遺伝子座で繰返し数が一致した。また、集団発生由来株で報告されているわずかなリピート数の変異、すなわち、1 遺伝子座について繰返し数が一つ及び 2 つ異なる変異株が 31 株あったことから、TN c47 119 株中 114 株については遺伝子構成が極めて類似し、関連性が高いことが示唆された。[寺嶋　淳、斉藤康憲、菱谷　愛、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、渡辺治雄]

（４）PFGE によるデータベース構築とその解析結果利用のネットワーク化に関する研究

全国の地方衛生研究所等から送付された分離株について、PFGE 解析と解析結果のデータベース構築を継続した。腸管出血性大腸菌 O157 の PFGE パターンのサブタイピングは、PFGE 解析ソフトによるデンドログラムに基づいて行った。菌株送付機関に対する解析結果の返信をメールで行うとともに、解析結果の一部は、ユーザ名とパスワード管理下で感染症研究所のサーバーを利用して「PulseNet 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、今泉綾子、斉藤康憲、菱谷　愛、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡辺治雄]

（５）シガ毒素産生性大腸菌（STEC）における *subA* 遺伝子の分布

2004 年に STEC にて報告された Sub は AB5 毒素ファミリーに属す新規細胞障害性因子である。我が国の STEC 株に本毒素をコードする遺伝子 *subA* がどの程度存在するのか 2005 年までの分離株について検索した。その結果、STEC および EPEC が腸管上皮に接着する際に必要な LEE 領域を持たない STEC 株については、約 4 割程度保有することが判明した。LEE 陽性株については *subA* 遺伝子を持つものはなかった。[泉谷秀昌、伊豫田淳、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、石原朋子、渡辺治雄]

II．サルモネラに関する研究

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

2007 年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 480 株（うち、2007 年分離株は 210 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 2007 年の集団事例 22 件のファージ型（PT）の内訳としては、PT21 が 5 件（23%）、PT6a が 4 件（18%）、PT14b が 3 件（14%）、その他 10 件であった。PT の多様性が進んでいることが窺えた。[泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

（２）*Salmonella* Enteritidis 薬剤感受性試験

上記ファージ型別に供した 2007 年に発生した集団事例のうち 22 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 15 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、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

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

2007 年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株 147 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）。DT104 およびその関連株はこのうち 30 株であった。また、50 株は型別不能（UT）であった。[泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

（４）鶏肉由来 *S.* Infantis 株の解析

2002 年から 2007 年に分離された鶏肉由来の *S.* Infantis 182 株について薬剤感受性試験を行った。セフェム系抗菌薬に耐性を示す株が 19 株同定された。保有していた耐性遺伝子の内訳は、*bla*CMY-2、*bla*CTX-M-14、*bla*CTX-M-2、*bla*CTX-M-3、*bla*TEM-52 および *bla*TEM-52c であった。[泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄、松本裕子（横浜市衛研）、田口真澄（大阪府公衛研）]

（５）サルモネラ血清型別

2007 年に依頼、送付された 16 株について血清型別をおこなった。検出された血清型は、亜種Ⅰの株に関しては、Enteritidis, Poona, Weltevreden, Ⅰ4:i:-, Ⅰ6,8:-:1,5 などであった。亜種ⅢbⅠ、Ⅳ の株もあり、血清型はⅢbⅠ 48:k:z35、Ⅳ 43:z4,z23:-であった。[泉谷秀昌、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

（６）日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌のファージ型別による疫学的解析

2007 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 35 株、パラチフス A 菌 18 株で、チフス菌の分離数が前年にくらべて減少した。ファージ型別試験で主に検出されたファージ型はチフス菌では、E1、M1、E9 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

2007 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、感受性を検討した。使用薬剤は、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 剤であった。感受性試験の結果、チフス菌で約 40.0%、パラチフス A 菌で約 72.2%がニューキノロン低感受性菌であり、さらに 1 株のニューキノロン耐性チフス菌が検出された。一方、第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示すチフス菌・

パラチフス A 菌は検出されなかった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、渡邉治雄]

（8）菌種同定

2007 年に菌種の同定依頼が 4 件あった。それぞれ、*Actinobacillus actinomycetemcomitans*、*Yersinia enterocolitica* 03 群、*Yersinia pseudotuberculosis* 01 群、*Helicobacter trogontum*-like であった。[泉谷秀昌、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

III．ビブリオに関する研究

（1）新興型腸炎ビブリオの O 及び K 抗原合成に関わる遺伝子群の比較解析

腸炎ビブリオ O4:K68 株の O 及び K 抗原合成に関わると推定される遺伝子群の塩基配列を決定したところ、その配列は O3:K6 株のそれと一部を除き全く異なっていた。O4 及び K68 血清群に分類される菌株間ではそれぞれの領域において類似した遺伝子群を保有していたことから、これらの領域が入れ替わることにより、新興型腸炎ビブリオにおける抗原変換が起こっていると考えられた。[大倉正稔（協力研究員）、大澤　朗（神戸大院）、森田昌知、荒川英二、渡邉治雄]

（2）エルトール型コレラ菌のコレラ毒素遺伝子型の推移

生物型特異的コレラ毒素Bサブユニット遺伝子の検出法を用いて、輸入事例のコレラ菌についてコレラ毒素遺伝子型別を実施した。その結果、アジア地域で流行しているコレラ菌は全て古典型コレラ毒素を産生するエルトール型コレラ菌であり、従来の流行株である典型的なエルトール型コレラ菌に完全に取って代わっていることが明らかとなった。[森田昌知、大西 真、荒川英二、泉谷秀昌、渡邉治雄]

（3）平成 19 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 19 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 128 株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus*、*V. vulnificus*、*V. parahaemDlyticus*、*V. furnissii*、*Plesiomonas shigelloides* および *Aeromonas* spp.が含まれ、35.9%(46)は国外（バングラデシュ-29、ベトナム-12、タイ-5）から依頼された。国内株 82 株は 13 株が *V. cholerae* non-01, non-0139 で、*V. vulnificus* が 17 株、*V. parahaemDlyticus* が 3 株、*Aeromonas* spp.が 49 株であった。国内株は 7 株の *Aeromonas* spp が患者由来株であり、飲食店で有症者 6 名、および療養施設の給食による有症者 2 名の食中毒事例によるもの 6 株と敗血症由来の 1 株であった。それ以外の 42 株の *Aeromonas* spp.は上記食中毒関連の推定食材、あるいは調理施設のふき取り、近辺の河川から分離されたものであった。*Aeromonas* spp.は環境中に広く分布している水生細菌であり、井戸水などからも分離される。今回の飲食店での事例は調理施設内で井戸水が一部利用されており、そこからの汚染が強く疑われた。*Aeromonas* spp.による食中毒事例の検出は年間 20 例弱と少なく、いずれも散発事例である。今回のような集団事例としては稀であるが、環境中には常在しているので、水を介した汚染には今後も注意が必要である。[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。*Vibrio* 属菌はその生化学的性状が非常に類似しており、分離、同定に複数の試験が必要であり、そのために検査に時間がかかる。近年の PCR 法の利用により、特異的遺伝子の検出により同定の補助的手法として取り入れられている。しかし、遺伝子レベルにおいても *Vibrio* 属菌はかなり類似性が高いため、これまでの標的配列では偽陽性が出やすく、信頼度の低いものであった。*Vibrio* 属菌に広く分布している *toxR* 遺伝子から *V. parahaemolyticus* に特異的な領域を再検索し、PCR 法への適用を試みた。参照株による試験では、*V. parahaemolyticus* にのみ特異的な増幅が見られ、偽陽性や偽陰性は認められなかった。増幅サイズが小さく、アニーリング温度を高く設定出来るため、これまでの PCR 検出系よりも迅速に検出が可能となった。標準検査法の補助的手法として取り入れる事で、検査時間の短縮が期待出来る。[荒川英二；甲斐明美(東京都健康安全研究センター)、宮原美知子(国立衛研)]

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

赤痢菌の病原性プラスミドのうち細胞侵入に必須の領域のみを保持する変異株を HEp-2 細胞に感染させた結果、感染細胞において DNA damage および細胞破壊の著しい昂進が認められた。赤痢菌感染では、菌の細胞侵入において誘導される DNA damage を抑制することによって、感染細胞の著しい破壊を抑制することが示唆された。また、変異株感染細胞において、核の DNA fragmentation や caspase inhibitor 存在下における細胞破壊の抑制が認められなかったことから、DNA damage の誘導には caspase cascade は関与しないと考えられた。[石原朋子、三浦雅史（協力研究員）、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡辺治雄]

（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。本研究はアクチベータ-である InvE 蛋白が温度と浸透圧によって転写後に発現調節される機構を初めて明らかにした。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、温度や浸透圧依存的に減少することをゲルシフトアッセイとビアコアで証明した。[三戸部治郎、石原朋子、渡辺治雄]

（3）OspE ファミリータンパク質による感染宿主細胞の RhoA シグナル伝達系の制御に関する研究

赤痢菌の OspE2 タンパク質は、感染宿主細胞の伸展形態の維持に働くことで病原性発現に関与しており、そのオーソログが腸管出血性大腸菌 O157 にも存在する（EspO1-1, EspO1-2)。腸管出血性大腸菌 O157 における *espO* の二重欠損株では、赤痢菌の場合と同様に感染細胞における形態変化（cell rounding）を引き起こした。さらに、赤痢菌の感染細胞における局在と同様、EspO1-1 は細胞接着班に局在していた。したがって、腸管出血性大腸菌の EspO は感染細胞内において、OspE2 と類似した役割を担っていることが推察された。*espO* 二重欠損株の感染による cell rounding は、Rock inhibitor 処理によって抑制されることから、感染

細胞の形態維持に RhoA シグナル伝達系が関与していることが示唆された。[三浦雅史、伊豫田　淳、石原朋子、大西　真、泉谷秀昌、寺嶋　淳、渡辺治雄]

（４）赤痢菌の遺伝子型別

渡航者由来 *Shigella sonnei* 株を中心に 263 株の赤痢菌について、パルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別を行った。使用した制限酵素は *Xba*I であった。クラスター解析の結果、南アジア、南米、東南アジアなど地域ごとに大きなクラスターが観察された。[泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、三戸部治郎、石原朋子、渡辺治雄]

Ⅴ．レンサ球菌に関する研究

（１）日本における 2006 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2006 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、2198 株であり、2188 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、T1 (728/2188, 33.3%)、T12 (443/2188, 20.2%)、T4 (274/2188, 12.5%)、T28 (159/2188, 7.3%)、TB3264 (113/2188, 5.2%)であった。T1、T12、T4 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。特に、T1 型は昨年と比較して増加している(2005, 13.3%; 2006, 33.3%)。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%, 2006, 7.3%)。TB3264 型は、昨年と比較して減少した(2005, 6.0%; 2006, 5.2%)。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研)、岡崎則男（神奈川衛研)、奥野ルミ（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)、富永潔(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

2006 年、41 症例報告があり、そのうち 33 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 16 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。T3 分離株 5 例は、*emm* 遺伝子はすべて *emm3* と相同性を示し、M 血清型別でもすべて M3 型であった。T28, TB3264 型は、それぞれ 2 例で分離され、*emm* 遺伝子はそれぞれ *emm28, emm89* と相同性を示し、M 血清型別は型別不能であった。2005 年、T4, T11 が各 1 例で分離され、T4 型は *emm60* (M 型別不能)、T11 型は *emm11* (M 型別不能)であった。T 型別不能株の *emm* 型は、*emm11* (M 型別不能), *emm49* (M49)がそれぞれ 2 株、*emm12* (M 型別不能), *emm87* (M 型別不能)がそれぞれ 1 株であった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研)、岡崎則男（神奈川衛研)、奥野ルミ（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)、富永潔(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 G 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の遺伝子型別

2006 年、劇症型 G 群レンサ球菌感染症は 9 例の報告があった。これら分離株の *emm* 遺伝子型を行った結果、*stg485* が 3 例、*stc36* が 2 例、*stg10, stg2078, stg6792, stc74a* がそれぞれ 1 例であった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研)、岡崎則男（神奈川衛研)、奥野ルミ（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）、富永潔（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）日本における劇症型 C 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の遺伝子型別

2006 年、劇症型 C 群レンサ球菌感染症は 3 例の報告があった。これらの株の *emm* 型は、それぞれ、*stg643* (NIH328), *stc6979* (NIH364), *stc653* (NIH396)であった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、岡崎則男（神奈川衛研）、奥野ルミ（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）、富永潔（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]

（５）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

2006 年、劇症型 B 群レンサ球菌感染症は 1 例の報告があった。この株の血清型は、Ib 型(NIH385)であった。[池辺忠義、常彬、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、岡崎則男（神奈川衛研）、奥野ルミ（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）、富永潔（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]

（６）日本における非 A, B, C, G 群溶血性レンサ球菌による劇症型レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株

2006 年、*S.anginosus*, *S.constellatus* subsp.*constellatus*, *Solobacterium moorei* (NIH379) の混合感染による劇症型レンサ球菌感染症の報告があった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、岡崎則男（神奈川衛研）、奥野ルミ（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）、富永潔（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]

（７）患者から分離されたブタレンサ球菌の解析

2007 年に、日本国内発症の 1 症例から分離されたグラム陽性球菌 2 株について解析を行った。患者は職業上ブタとの接触歴があり、指には皮膚損傷があり、関節炎および敗血症の症状が見られた。この 2 株はそれぞれ血液と関節液より分離された。2 株とも Lancefield 群別では D 群に属し、生化学的性状検査でブタレンサ球菌と同定され、血清型 2 型であった。また、この 2 株はパルスフィールド電気泳動解析で同じパーターンを有し、Multilocus Sequence Typing (MLST) 解析でも同じシークエンスタイプ (ST1) を示した。[常　彬、和田昭仁、渡辺治雄、棚橋定衛（新潟市衛生環境研究所）]

（８）ブタレンサ球菌の宿主細胞への侵入および細胞内での生存に関する研究

ブタレンサ球菌が産生する溶血毒素 (Suilysin) は病原性や宿主細胞への細胞毒性に関与することが報告されている。我々は Suilysin を産生すると産生しない臨床分離株を用いて、Human brain microvascular endothelial cells (HBMEC) およびマウスマクロファージ J774 細胞への侵入率および細胞内での生存力の違いについて調べた。その結果、Suilysin はブタレンサ球菌の HBMEC および J774 細胞への感染力および細胞内生存力などについて関与しないことが明らかになった。[常　彬、渡辺治雄]

Ⅵ．レジオネラに関する研究

（１） *Legionella anisa* の同定法の比較検討

青白自発蛍光を有し、DNA-DNA ハイブリダイゼーション（DDH レジオネラ極東）で *L. anisa* 株と同定された、異なる施設由来の環境分離株 43 株（冷却塔水由来 40 株、湯口水由来 2 株、浴槽水由来 1 株）および基準株 ATCC 35292 を用いた。これらの株について、最近発売された *L. anisa* の特異的同定のためのラテックス粒子凝集試験（スライデックス　レジオネラキット、日本ビオメリュー）と種の同定のための 16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定（約 500 bp）を行った。塩基配列決定により、*L. anisa* は基準株と同じ配列の型とそれから 1 塩基欠失ヘテロ型の 2 型に分類され、環境分離株 43 株中 72.1%が 1 塩基欠失ヘテロ型であった。一方、ラテックス凝集試験では偽陰性の株がみられ、感度は 69%であった。[倉　文明、前川純子；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）、渡辺治雄]

（２）土壌由来のレジオネラ属菌の同定

日本全国の土壌に由来しスキムミルクに凍結保存されていたレジオネラ属菌 87 株について、新たにレジオネラ免疫血清（*L. pneumophila* 血清群 7～15）を用いて検索した。86 株（99%）は *L. pneumophila* であった。血清群 1（40%）、血清群 8（18%）、血清群 3（16%）、血清群 6（10%）の順に多かった。その他、UT、血清群 9～11 がみられた。*L. pneumophila* 血清群 1 は、浴槽水、冷却塔水、土壌のいずれでも最も多くみられている。土壌由来株では、他の環境由来株に比して血清群 8 が多いという特色があった。[倉　文明、前川純子、常　彬、古畑勝則（麻布大学）、渡辺治雄]

（３）クロラミン B によるレジオネラ属菌の消毒

浴槽水におけるレジオネラ属菌の汚染が問題となっているが、高 pH、アンモニア等を含む温泉では遊離残留塩素による消毒が困難であることから、代替消毒法が求められている。そこで、試薬の取り扱いが比較的容易と考えられ室温で安定なクロラミン B を検討した。Page amoeba solution(pH7.7) ではクロラミン B 濃度 1.1mg/L で、*Legionella pneumophila* 血清群 1（長崎 80-045 株）は 6 時間以内に培養法で不検出（4.5-log 不活化）となった。3.5mg/L では 3 時間、5.5mg/L では 30 分以内で不検出となった。一方、ホウ酸緩衝液（pH8.9）の実験条件では消毒効果は低下し、1.1mg/L では 6 時間経過後も 1.9-log の不活化に留まった。3.2mg/L および 5.1mg/L では 30 分で 3-log の不活化が得られ、3 時間後に不検出（4.5-log）となった。以上のことから、高 pH でのクロラミン B による消毒は 3～6mg/L において実用的と考えられた。[倉　文明、渡辺治雄；泉山信司、遠藤卓郎（寄生動物部）]

（４）遺伝子検査法を用いたレジオネラの定量方法

浴槽水等におけるレジオネラ検査において、培養法に替わる迅速検査法が求められている。市販レジオネラ検出用試薬の検出特性と定量試験への利用を検討した。該研究で検討した 2 社の検査キットは、臨床分離株やわが国の環境分離株をほとんど洩れなく検出した。一方、*L. londiniensis* は環境中からしばしば分離されるが、いずれの検査キットでも検出されないことから、遺伝子検査法を選択する場合にはこの点に留意する必要がある。基準菌株として暫定的に採用した *L. pneumophila* 長崎 80-045 株（30°C、4 日間培養）を用いて検量線を作成した。

[倉　文明、前川純子；荒井桂子（横浜市衛研）、緒方喜久代（大分県衛環研センター）、杉山寛治（静岡県環衛科学研）、田栗利紹（長崎県環保研センタ

ー)、中嶋　洋（岡山県環保センター)、磯部順子（富山県衛研)、佐々木美江(宮城県保環センター)、山本純子（タカラバイオ株)、安中敏光（栄研化学株)；泉山信司、遠藤卓郎（寄生動物部）]

（５）遺伝子迅速検査による浴槽水の検査

レジオネラ検査においては、培養法に替わる迅速検査法が求められている。そこで、浴槽水を対象としてGVPC培地を用いた培養法と遺伝子迅速検査法を比較した。浴槽水 366 試料からのレジオネラ属菌検出率は培養法で15.8%､LAMP法で41.3%、定量的 PCR(qPCR)法で 44.0%であった。遺伝子迅速検査法では培養法と比較して偽陽性が認められ、全体としては定量値に相関は認められなかったが、遊離残留塩素0.4　mg/L以下の試料に制限すると、qPCR法は培養法とよく相関していた。qPCR法は遊離残留塩素の濃度に関わらず、レジオネラ属菌の遺伝子量を定量することが可能で、管理状態を把握するのに優れた手法である。循環式モデル浴槽の実験から、qPCR 法を用いて、適切な塩素管理がされ菌検出がない期間と、無殺菌循環で菌数の増加した期間の菌数の変化を正確につかむことができた。浴槽水の検査で、LAMP法及びqPCR法に強い阻害がかかった場合、前処理を工夫して(酵素溶菌法、洗浄、希釈、酵素処理時間の延長)阻害を回避することができた。[荒井桂子（横浜市衛研)、緒方喜久代（大分県衛環研センター)、杉山寛治（静岡県環衛科学研)、田栗利紹（長崎県環保研センター)、中嶋　洋（岡山県環境保健センター)、磯部順子（富山県衛研)、佐々木美江（宮城県保環センター)；泉山信司、遠藤卓郎（寄生動物部)；前川純子、倉　文明]

（６）サーベイランス業務および感染事例

ア．民間検査機関に依頼されるレジオネラ検査試料の汚染実態

浴槽におけるレジオネラ属菌の集団感染を受けて、緊急避難的な措置として塩素消毒が義務付けられたが、浴槽水で感染したとされる報告数は増加の一途をたどっている。受託検査機関の試料測定結果に基づき、現在の浴槽の汚染状況について検討した。浴槽試料から培養で高濃度の検出が複数認められ、消毒の必要性を改めて確認した。ろ過器ドレーン等の培養試験では検討対象のほぼ全てから（29/30 件）レジオネラ属菌が検出された。ろ過器内のバイオフィルムは通常の消毒剤濃度では対処できず、定期的な洗浄の重要性が改めて確認された。指針ではやむをえない場合を除き回収槽の設置を避けるよう勧奨されているが、回収槽の設置されている 1 施設 3 件よりレジオネラ属菌が検出され、施設の改修等の対策が必要である。[倉文明；泉山信司、遠藤卓郎（寄生動物部）]

イ．　共同住宅の温泉水からのレジオネラ検出事例

温泉設備を持つ共同住宅の温泉貯湯槽および給湯末端から6,900～89,000　CFU/100ml という多数のレジオネラ属菌が検出された（源泉槽からは非検出)。そのうち *L. pneumophila* は 270～1,800 CFU/100ml 検出され、血清群は 1 群、5 群および 6 群であった。レジオネラ属菌の中で優占菌種は、16S rRNA遺伝子の塩基配列により *L. londiniensis* と同定された。この汚染の原因は､1)源泉が約 25℃、加温しても最大 45℃であり、温泉水の温度域がレジオネラ属菌の発育に適していた。2) 鉄分、硬度分、アンモニア性窒素および有機物が多く、二酸化塩素の殺菌効力を落とすとともに、沈殿物を多く生成しバイオフィルムやスケールが出来やすい状態であった。3)二酸化塩素消毒設備はあったが、適正な薬剤管理がされてなかった。また、二酸化塩素濃度を測定していたが、色や濁りが妨害して正確な測定がされていなかった。4)あるレジオネラ検査機関で分譲後数回行われていた検査結果で

は、常に 10CFU/100ml 未満という結果であり、精度の確保がなされていなかった。これまで、共同住宅の入浴施設は自主管理に委ねられているため衛生管理の実態は不明であったが、温泉の質と使用実態を踏まえた適正な衛生管理が必要である。[郡山洋一郎、中村由美子、青木眞里子、柴　早苗（足立区衛生試験所）；高橋朝子、鈴木龍雄、工藤寛子（足立保健所生活衛生課）；前川純子、倉　文明]

ウ．循環式浴槽における感染事例

55 歳及び 58 歳の男性患者 2 名由来 *L. pneumophila* 血清群 1 の菌株と、患者が利用したある入浴施設のエステバス及びドリームバスの各浴槽水由来の環境由来株のパルスフィールド電気泳動型が一致し、原因施設が特定された。これまでパルスフィールド電気泳動では、4 日間を要していたが、新規に 2 日間で結果の得られる方法で行った。また、これらの株の Sequence-based typing の型も一致していた。[常　彬、前川純子、倉　文明、渡辺治雄]

（７） *L. pneumophila* 臨床分離株の遺伝子型の解析

レジオネラレファレンスセンターにおいて *L. pneumophila* 臨床分離株の収集を開始した。うち 20 株について遺伝子型別（SBT）を行った。以前に収集、型別した臨床分離株についても、従来の 6 つの遺伝子に *neuA* 遺伝子が追加され、7 つの遺伝子により SBT を行うことになったため、*neuA* 遺伝子の型別を行った。あわせて 61 株のわが国の臨床分離株について型別を行い、EWGLI (European Working Group for *Legionella* Infections)のデータベースに登録した。61 株は 39 種類に型別され、多様性に富み、SBT による型別の分子疫学的有用性が確認された。また、浴槽水分離株と冷却塔水分離株とで *flaA* の遺伝子型に違いがあることを既に明らかにしているが、61 株の臨床分離株について、*flaA* 遺伝子型を見ると 50 株（82%）が浴槽水分離株型であった。感染源が浴槽と確定している 8 株と推定されている 9 株の計 17 株はすべてその中に含まれていた。[前川純子、倉　文明、渡辺治雄、青木敏也（山形衛研）、渡辺祐子（神奈川衛研）、安形則雄（名古屋市衛研）、貫名正文（神戸市環境保健研）、中嶋　洋（岡山県環境保健センター）、河野 喜美子（宮崎県衛生環境研）]

（８）土壌および給湯水から分離された *L. pneumophila* の鞭毛遺伝子型別について
－浴槽水、冷却塔水および臨床分離株との比較－

日本各地の土壌から分離された *L. pneumophila* 33 株と都内の給湯水分離株 12 株について *flaA* 遺伝子の塩基配列の差異に基づく型別を行い、以前調べた浴槽水、冷却塔水および臨床分離株と比較した。冷却塔水由来株は *flaA*1 と *flaA*11 の 2 つの遺伝子型で 88%を占め、浴槽水分離株は *flaA*2、*flaA*3、*flaA*6、*flaA*7 の 4 つで 85%となり、*flaA* 遺伝子型の分布に違いが見られたが、給湯水由来株は、*flaA*2、*flaA*3、*flaA*6、*flaA*7 の 4 つの遺伝子型で 83%となり、浴槽水由来株とよく似た傾向を示した。土壌由来株の *flaA* 遺伝子型は、一部浴槽水由来のものと重なっていたが、頻度が大きく異なり（*flaA*2 と *flaA*6 で 57%）、また浴槽水由来株では見られない遺伝子型（*flaA*5、36%）も存在した。臨床分離株の *flaA* 遺伝子型から感染源の推測がどの程度可能かを考察した。[前川純子、倉　文明、常　彬、遠藤卓郎（寄生動物部）、鈴木敦子（東京都予防医学協会）、市瀬正之（左同）、古畑勝則（麻布大学、環境保健学部）、渡辺治雄]

（9）市販 DDH キットで同定できないレジオネラ属菌種の同定法の確立

市販 DDH キットで同定できないレジオネラ菌種を、DDH 法により同定可能にする事を最終目的として、*Legionella pneumophila*、*L. feeleii*、*L. micdadei* を用いて基準株のプレートへの固定方法を検討し、基準株 DNA のプレートへの固定法を確立した。[山崎利雄・前川純子・倉文明]

（１０）Ethidium monoazide (EMA) 処理および PCR のコンビネーションによるレジオネラ生菌のみの検出

レジオネラ属菌は自然界では湿った土壌や淡水に生息するが、人工的水利用設備とくに空調冷却塔、給水給湯設備、循環濾過式浴槽などに生息する細菌捕食性原虫の中で増殖してヒトに感染する。レジオネラ感染を予防するため、人工的水利用設備は定期的に清掃、消毒、検査が行われている。しかし、レジオネラの培養には時間がかかり、環境や患者由来検体よりレジオネラを迅速検出できる方法の開発が必要とされている。PCR 法はレジオネラ検査にはよく使用されているが、死菌の DNA も検出することが欠点である。EMA は特異的に死菌の損傷された細胞膜を透過し、その菌の染色体 DNA に結合し、光照射により DNA を切断することができる。我々は EMA のこの特性を利用し、PCR による生菌のレジオネラ DNA のみを検出する方法の開発を試みた。レジオネラの生死は培養法により判定した。その結果、EMA 処理を行うと、PCR でレジオネラの死菌 DNA の検出が見られなくなり、生菌 DNA のみが検出された。[常　彬、前川純子、倉　文明、渡辺治雄]

（１１）Ethidium monoazide (EMA) 処理および Real-time PCR のコンビネーションによるレジオネラ生菌のみの定量解析

Real-time PCR は病原細菌を定量的に検出できる方法で、近年環境からレジオネラの定量にも使われているが、生菌と死菌の DNA 両方が検出される。EMA が特異的に死菌の細胞膜を透過する特性を利用し、Real-time PCR によるレジオネラ生菌のみの定量解析を試した。その結果、EMA 処理したレジオネラ死菌の Real-time PCR により推測された菌数は EMA 処理しない場合の測定菌数の 10^{-4}-10^{-5} となった。一方、日本国内の人工的水利用設備のサーベイランス検査の結果では、90% 以上の環境検体の Real-time PCR により推測されたレジオネラの菌数（生菌と死菌の和）は 10^{5} CFU/100ml 以下であることが明らかにされていた。これらの結果から、EMA 処理および Real-time PCR のコンビネーションはレジオネラ生菌の DNA のみを迅速検出できると示唆される。[常　彬、前川純子、倉　文明、渡辺治雄]

（１２） レジオネラ属菌の pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 法の改良

PFGE 法は電場の方向を交替させることで分子量の大きい DNA 断片を分離するゲル電気泳動の方法である。この解析法はレジオネラ感染の感染源の同定や疫学調査によく使われている。しかし，従来のプロトコルは時間がかかり（４日)、制限酵素の未消化段片が多く残っていて、また染色体 DNA へのダメージがよく見られるため、再現性がよくなかった。これらを改善するために、我々は溶菌処理の時間を短くし、制限酵素の濃度を上げ、消化時間を短くした。その結果、PFGE 解析時間が2日間に短縮でき、不完全な消化段片および染色体 DNA へのダメージが見られなくなり、再現性が取れるようになった。[常　彬、前川純子、渡辺治雄]

VII．髄膜炎菌に関する研究

（１）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能亢進の解析

昨年度に引き続き髄膜炎菌の LOS に PEA 基を付加する酵素の遺伝子（*lptA*）による髄膜炎菌のヒト培養細胞変への接着能亢進に関する研究を行なった。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、この *lptA* 遺伝子破壊株の接着能の低下はヒト内皮・上皮細胞で普遍的に認められた。*lptA* 遺伝子破壊株は精製 LOS の MALDI-TOF MS や NMR による解析からその LOS の Lipid A 内の PEA 基のみを欠如していることが確認された。その *lptA* 遺伝子破壊株の接着能低下は既知の接着因子である線毛や Opa, Opc 等の外膜タンパクを介さないで起こっていることが明らかとなった。さらに ST-2032 野生株への *lptA* 遺伝子のプラスミド導入により LptA タンパクの発現量は 10 倍程度に増加したにもかかわらず細胞への接着能及び Lipid A の PEA 付加量に変化は認められなかった。また、代表的な髄膜炎菌の臨床分離株においても LptA は普遍的に発現しており、その量的な差もないことが Western blotting から明らかとなった。以上の結果から髄膜炎菌は自身の LOS の PEA 修飾を介して宿主細胞への接着を効率化している可能性が示唆された。[高橋英之、Russel W. Carlson (Univ. of Georgia)、David S. Stephens (Emory Univ.)、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、渡辺治雄]

（２）Signiture Tag Mutagenesis (STM) を用いた髄膜炎菌の新規病原性因子の網羅的スクリーニング

これまでの研究から ST-2032 株には既知因子以外の接着・侵入因子の存在が示唆された。その因子を探索するために、トランスポゾンを *in vitro* で精製染色体 DNA 上にランダムに挿入させた後にその DNA を ST-2032 株に戻すという手法を用いた STM による ST-2032 株の網羅的な変異体ライブラリーを作製し、ヒト脳血管内皮細胞 HBMEC に対する接着性もしくは侵入性が低下した変異株を単離、同定した。約 5700 の変異株から３段階のスクリーニングを経て約 120 株が単離された。24 株は既知の接着因子、もしくはその発現に関与する因子であり、遺伝子の機能が既知ではあるが髄膜炎菌の接着・侵入と関与が薄いと考えられる変異株が 37 株であった。それ以外は他の生物にホモログも存在しない機能が不明の遺伝子が破壊された株であった。今後は、未知遺伝子が破壊された変異株に関して重点的に解析を行い、その遺伝子の機能についてさらに解析する予定である。[高橋英之、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、渡辺治雄]

（３）本年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

2007 年度１年間に感染研に収集された髄膜炎菌として 16 株の疫学的解析を行なった。菌の同定の結果、16 株中１株は非病原性ナイセリア属菌である *Neisseria lactamica* と同定された。残り 15 株の血清型は B:2 株、C:1 株、Y：6 株、29E：3 株、型別不能：3 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 が 6 株、ST-3506 が 3 株、ST-437 (ST-41/44complex)、ST-32、ST-8、(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ことが推測された。注目すべき点は今年度も臨床分離株として非病原性と一般的に考えられている血清型 29E の髄膜炎菌株である ST-3506 (ST-35 complex) が患者から分離されてきていることである。昨年度は血清群 29E の ST-5711 株が同様に患者からの分離株として同定されており、今後のサーベイランスにおいては血清群 A、B、C、Y、W-135 群と共に 29E にも注意が

必要であることが示唆された。また、昨年度検出された ST-6003、ST-6004 株が今年度も検出されており、比較的新しい遺伝子型の検出も頻繁になってきたことから ST-23 のような古典的な髄膜炎菌株が広く存在している中に新しい遺伝子型の髄膜炎菌も徐々に広がっている可能性が示唆された。引き続きサーベイランスが必要であろう。[高橋英之、渡辺治雄]

（４）尿路感染症由来の臨床分離髄膜炎菌株の疫学的解析

前項とは別に関東エリアの 3 病院において尿路感染症(STD)の患者から分離された 9 株に関して血清学的、分子疫学的解析を行なった。その結果、血清群 Y が 7 株、B が 1 株、型別不能株が 1 株であった。遺伝子型の解析は ST-23 が 7 株、ST-687 が 1 株、ST-2045 が 1 株であった。泌尿器系からの髄膜炎菌の分離は昨今の性行為の多様性により増加している傾向がある。本研究において ST-23 が分離株の大部分を占めたが、その要因が、ST-23 株が国内において圧倒的多数で分布していることによるのか、ST-23 株が泌尿器系への感染特質を保持することによるものなのかは不明であり、今後の更なるサーベイランスが必要であると考えられた。

[高橋英之、渡辺治雄]

VIII．臨床細菌に関する研究

（１）肺炎球菌に関する研究

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（ワクチン有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究）の協力研究者として 8 県の小児の無菌検体より分離された肺炎球菌の血清型別、薬剤感受性試験を行った。[和田昭仁、神谷斉(国立病院機構三重病院)、宮村達男(所長)]

（２）臨床より分離されたテリスロマイシン低感受性肺炎球菌の遺伝子解析を行い、染色体上に存在する変異(23S rDNA、L4)をその原因として報告した。[和田昭仁、Y Hirakata, Y Mizuta, A. Kondo, S Kurihara, K Izumikawa, M Seki, K Yanagihara, Y Miyazaki, K Tomono, S Kohno (長崎大学医学部第二内科)]

（３）ウェルシュ菌に関する研究

都内の高齢者医療施設で見られたウェルシュ菌による下痢症の集団発生例の解析を行い、プラスミドにエンテロトキシン遺伝子を持つウェルシュ菌が原因であることを報告した。

[和田昭仁, S Kobayashi, S Shibasaki, M Annaka, H Higuchi, K Adachi, N Mori, T Ishikawa, Y. Masuda, T Inamatsu(東京都老人医療センター), H Watanabe, N Yamamoto(エイズ研究センター), S Yamaoka(医科歯科大学ウイルス学講座)]

IX.レプトスピラ、ボレリア等に関する研究

（１）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。2007 年度は 20 例のヒト刺咬例マダニが感染症研究所に送付され、うち一例より南部ダニ紅斑病(STARI)起因菌様病原体が見出された。これまで国内では本型の病原体は報告されていない。また *Ehrlichia* 感染が疑われる高度の局所炎症像を呈した症例を見出した。今後、これら細菌種について疾患との因果関係について検討が必要であると考えられた。

[川端寛樹、安藤秀二、坂田明子、武藤麻紀、高野愛（岐阜大)、岸本寿男、倉根一郎、渡邉治雄]

（２）島根県における *Orientia tsutsugamushi* の

流行株

島根県におけるつつがむし病の流行状況把握を目的として、環境モニタリング調査を行った。つつがむし病は *Orientia tsutsugamushi* (O.t) を病原体とするダニ媒介性の熱性・発疹性疾患で、感染症法四類感染症に規定されている。島根県では毎年数人～10 人程度の患者発生が報告されている。2003 年には隠岐島（中の島）で感染したと思われる患者が初めて報告された。このことから 2004 年 11 月に島根県隠岐島（島後、中の島）および東部地域（松江市、雲南市、奥出雲町）において野鼠の病原体保有調査を行った。野鼠 96 匹を捕獲、内 47 匹の野鼠について間接免疫ペルオキシダーゼ法（IP 法）により O.t に対する血清抗体価(IgG)を測定した。また、脾腫を認めた 57 匹について、脾臓から直接 DNA を抽出し、nested PCR 法を用いて *bor56*DNA 断片の検出を試みた。PCR 陽性検体については、型別 PCR 法（or 増幅 DNA 多型性解析）及び nested-PCR による増幅 DNA のダイレクトシークエンスを行った。野鼠３検体から O.t *bor56* DNA の検出に成功、奥出雲町で捕獲した２検体は JP-2（血清型：Karp 型）であった。一方、隠岐中の島で捕獲した１検体は O.t LX-1 株に比較的高い相同性を示したが、新種型の可能性があり、今後詳細に解析する予定である。[田原研司（島根保環研)、板垣朝夫（島根保環研)、角坂照貴（愛知医大)、藤田博己（大原研究所)、矢野泰弘（福井大)、高田伸弘（福井大)、川端寛樹]

（３） ライム病と多発性硬化症に関する血清疫学研究

多発性硬化症（MS）における微生物感染の有無を明らかにするために，ライム病ボレリア組換抗原を用いた Western blotting 法による MS 患者における抗ライム病抗体検索，および髄液中の病原体 DNA 検索をおこなった．試験法の精度向上を目的として，血清診断においては偽陽性を低減させる新たな判定基準を導入した．また髄液中の微量の病原体 DNA を検出するために，genome-wide な DNA 増幅を前処理として行い，高感度な特異的 PCR を実施した．MS 患者検体は，近畿大学，昭和薬科大学，および聖マリアンナ医科大学より分与頂いた．評価のために供与を受けた MS 患者 27 例中，抗ライム病 IgG 抗体陽性例は 3 例(11.1%)であった．この結果は 1993 年に米国で行われた血清疫学調査結果(陽性率=6.7%)に近似する一方，欧州での調査結果(陽性率=14.2-38.5%)より低値であった．ペア血清が得られた５例において抗体調査では顕著な抗体変動は見られなかった．さらに，血清診断では反応抗原の特異性に応じた判定のための point 制を導入し，健常者，ライム病患者，および MS 患者における，各群間での point 数を比較した場合，MS-健常者間における point 数での有意差は見出されなかった．以上の結果から，我が国の MS 患者において，ライム病ボレリアの慢性感染を疑わせる積極的な知見は得られなかった．多発性硬化症とライム病の 国内多発性硬化症(MS)症例において、血清疫学的に、また髄液中の病原体検出結果から、ライム病ボレリア感染と MS 発症の因果関係を疑わせる結果は得られなかった。[川端寛樹、武藤麻紀、岸本寿男、倉根一郎、楠進（近畿大)，宮本勝一（近畿大）池島秀明(昭和薬科大)、星恵子 (昭和薬科大)、加茂力 (聖マリアンナ医大)、渡邉治雄]

（４）ライム病ボレリア形質転換技術の確立とその応用

ライム病ボレリアは動物由来スピロヘータ感染症で、その重篤かつ多彩な病態から予防・治療といった臨床面での研究が先行した一方で、ボレリア自身の病原性は感染性株による遺伝学的ツールが確立されていなかったために未だに不明な部分

が多い。感染性を維持した株で形質転換が行えないことは、ボレリアの病原性、感染性を調べる上で致命的であると考えられた。そこで我々は、感染に必須の因子をコードし、かつ非感染性株で脱落しているボレリアプラスミドに着目、本プラスミド上に形質転換を制限する因子があると考え、本因子の破壊による形質転換可能な感染性ボレリア株の樹立を目指した。プラスミドプロファイルが異なる低経代株について形質転換効率を調べた。次いで形質転換効率と相関性が見出されたプラスミド上で制限修飾酵素モチーフを有する遺伝子を検索した。検索された遺伝子は相同性組換えにより破壊、得られた破壊株は親株と形質転換効率を比較した。また本推定制限修飾酵素破壊株についてはその感染性をマウス感染モデルにより調べた。また本変異株を用いたテキサス大学との共同研究でHimarI transposonによる変異導入法についても検討した。形質転換効率と相関するプラスミドを同定した。また推定制限修飾遺伝子の破壊により感染性を維持したままで形質転換が行えることを明らかにした。Transposon変異導入法により複数の新規病原因子を同定した。ボレリアの慢性感染、組織特異的集積性などそのメカニズムは不明であり、今後、本遺伝子破壊ボレリア変異株を用いたin vivoでの病原性研究が進むことで、これらメカニズムが明らかになると考えられる。[川端寛樹、Steven J. Norris（テキサス大学）、渡邉治雄]

（5） 動物寄生のマダニが保有する病原体の検索-ボレリア

国内への生物輸入に際して、多くの爬虫類や両生類、及びこれら動物に寄生する節足動物等の一部は、家畜伝染病予防法、外来生物法及び感染症法などの法律の規制対象に含まれていない。本研究では、これら規制対象外の動物、主に爬虫類の輸入に随伴して国内へ侵入してくるボレリア属細菌に関して調査を行った。対象は、輸入爬虫類及びこれら爬虫類に寄生していたマダニで、各々の輸入先は、アフリカ、南アメリカ、アジアの11カ国で、多岐に渡っていた。ボレリアの分離はBSK培地を用いた培養法及び遺伝子の検出はPCR法によった。試験に供した輸入爬虫類20頭中12頭、寄生マダニ85頭中58頭よりボレリアが分離あるいは遺伝子が検出された。これらボレリア属細菌は、鞭毛遺伝子、*16SrDNA*の塩基配列等から、回帰熱群の新種ボレリア及び*Borrelia turcica*であることが明らかとなった。回帰熱ボレリアの媒介節足動物は、一部を除き*Ornithodoros*属等の軟ダニである。また、ライム病ボレリアは*Ixodes*属の硬ダニによって媒介される。一方、本研究で見出されたボレリアは*Hyalomma*属等の硬ダニの唾液腺から分離もしくは遺伝子が検出されていることから、既存の回帰熱群ボレリアとは異なり、ライム病ボレリアと同様の媒介メカニズムにより伝播されている可能性が考えられた。これまでボレリアは、媒介マダニ種によって伝播されるボレリア種が規定されることから、ボレリアの祖先がマダニ祖先に入り込んだ後、各々のマダニ種へ適合進化したと考えられてきた。しかし本研究で見出されたボレリアはこの一般論に当てはまらないことから、進化の過程での適合進化に加え、宿主乗換等のイベントがあったことが示唆された。[高野愛（岐阜大）、五箇公一（環境研）、宇根有美（麻布大）、川端寛樹、渡邉治雄]

（6） ガーナから輸入されたボールパイソンの*Trypanosoma* cf. *varani*感染

アフリカ大陸産爬虫類に寄生するトリパノソーマとして、ツェツェバエにより媒介されるナイルクロコダイル(*Crocodilus niloticus*)寄生の*Trypanosoma grayi* Novy, 1906と、サシチョウバエにより媒介されるナイルオオトカゲ（*Varanus*

niloticus）寄生の *Trypanosoma varani* Wenyon, 1908 がよく知られている。ペット動物としてガーナから輸入されたボールパイソン(*Python regius*)から検出されたトリパノソーマについて、その同定を試みた。ボレリア細菌培養用の BSK 培地 4ml に 0.1ml のボールパイソン血液を加えて 32℃で静置培養していたところ、17 日目から上鞭毛体の集合がみられるようになった。これら原虫を集め、定法により DNA を抽出し、18S～5.8S リボソーム RNA 遺伝子(rDNA)、および glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 遺伝子(gGAPDH) について塩基配列を検討した。18S rDNA の後半 1,445 塩基配列を、データバンクに登録される *T. varani* (AJ005279、AJ223572)と比較すると、４塩基を除いて一致し、99.7%の相同性であった。gGAPDH の 900 塩基配列については、*T. varani* (AJ620261)と２塩基を除いて一致し 98.7%の相同性であった。今回の症例について、宿主血液中のトリパノソーマの形態学的観察は実施できていないが、18S rDNA および gGAPDH の高い相同性から、*T. varani* の感染が強く示唆された。ガーナ産クロクビコブラ(*Naja nigricollis*)から *T. voltariae* Macfie, 1919 の記載もあり、爬虫類寄生種の異同性について遺伝学的な再確認が望まれる。[戸田正枝（山口大)、佐藤宏（山口大)、宇根有美（麻布大)、高野愛（岐阜大)、川端寛樹、渡邉治雄]

（７）Megasort 法によるレプトスピラ strain-specific 遺伝子の網羅的解析

Megasort 法により，*Leptospira interrogans* の全ゲノム配列決定 2 株とも相同性を示さない強毒株および弱毒株に特異的な遺伝子群を同定した。弱毒株には強毒株，ゲノム株に比べて trasposase, IS，ファージ遺伝子断片が多く存在することが示唆された。また全ゲノムの制限酵素 *Not* Ⅰ切断パターンは，強毒株やゲノム株の血清型では株間で保存されているのに対し，血清型 Hebdomadis 分離株では多様であることが明らかとなり，転移因子やファージによるゲノムの再構成が起こったことが示唆された。一方強毒株では，他の病原細菌の細胞接着因子 internalin と相同性を示す遺伝子断片が同定された。[小泉信夫，大西真，武藤麻紀，渡辺治雄]

（８）宮崎県におけるヒトおよびイヌのレプトスピラ症強化サーベイランス

2006 年夏季にレプトスピラ症の多発があった宮崎県でヒトとイヌのレプトスピラ症強化サーベイランスを行った。その結果，ヒトではレプトスピラ症疑い 10 例中 4 例のレプトスピラ症が確定診断された。またイヌは 20 例中 17 例がレプトスピラ症と確定診断された。このうちイヌ 9 頭の血液からレプトスピラが分離され，レプトスピラの鞭毛構成遺伝子のひとつである *flaB* 遺伝子の部分塩基配列から，分離株はすべて *L. interrogans* であり，また血清群は Australis，Canicola，Hebdomadis であると推定された。[小泉信夫，武藤麻紀，渡辺治雄，山本正悟（宮崎県衛生環境研究所)，下村高司（宮崎県衛生管理課)，相馬宏敏（宮崎県健康増進課）

（９）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

平成 18 年度および 19 年度の 2 年間でフィリピンマニラ首都圏およびその郊外で 106 匹のネズミを捕獲し，45 匹のラット腎臓からレプトスピラの分離に成功した(得られた分離株は 81 株)。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 27 株，*L. interrogans* serovar Losbanos 16 株，*L.*

interrogans serogroup Grippotyphosa 16 株および *L. borgpetersenii* serogroup Javanica 22 株と同定された。[小泉信夫，武藤麻紀，渡辺治雄，吉田真一（九大)]

（１０）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 9 県のシカ腎臓 31 検体，また 10 県のイノシシ腎臓 39 検体から PCR により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 9 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，すべて *L. interrogans* と同定された。全国 31 か所の検疫港および検疫飛行場の政令区域（以下，港湾区域）で，185 匹のネズミを捕獲しレプトスピラの分離を試みた結果，名古屋港で捕獲されたドブネズミ 2 匹からレプトスピラが分離され，*flaB* 遺伝子の部分塩基配列から *L. interrogans* であると推定された。また新千歳空港で捕獲されたエゾアカネズミ 2 匹の腎臓から *L. interrogans* の *flaB* を検出した。東京都および埼玉県で捕獲されたネズミからレプトスピラの分離を，ま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，渡辺治雄，谷川力（イカリ消毒技術研究所)，水谷浩志（東京都動物愛護相談センター)，近真理奈，山本徳栄（埼玉県衛生研究所）

X．腸管外病原性大腸菌，セラチア， 梅毒に関する研究

（１）腸管外病原性大腸菌の血清耐性

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。特に尿路感染症を原発巣とした大腸菌敗血症は、腸管外病原性大腸菌の中でもその重篤度が高い感染症である。血流感染を引き起こすためには、補体による殺菌機構から逃れることが必要となると考えられる。そのため本研究では、腸管外病原性大腸菌の分子系統解析をもとに選定した多様な腸管外病原性大腸菌から、血清耐性に関して解析を行った。代表株の選定は系統 B２大腸菌サブグループ１−８からそれぞれ複数株、計２５株を選んだ。非動化血清中での増殖能を確認後、ヒトプール血清 10%,および 50%血清で各菌株を 2 時間処理後、colony forming unit を測定することで耐性度を評価した。その結果、系統 B2-3，B2-7 に属する菌株および B2-6 の一部の菌株は 10%血清で殺菌されることが示された。また、B2-5 の菌株および B2-8 の一部の菌株では 50%血清で感受性を示す一方で、B2-1，B2-2，B2-4 の菌株および B2-6 と B2-8 の一部の菌株は耐性を示した。これらの血清耐性度は既知の血清耐性に関わる遺伝子の有無とは関連が認められなかった。特に既知の血清耐性因子を持たない B2-4 菌株には新規の血清耐性因子の存在することが示唆された。[大西　真、渡辺治雄]

（２）梅毒抗体診断に使用される *Treponema pallidum* の主要抗原に関する解析

梅毒の起因菌である *Treponema pallidum*（以下 Tp）は現在まで試験管内培養が不可能であり、疾病時の検体中の菌数も皮膚病変部以外では極めて少ない。従って、皮膚病変が明らかな場合を除いて、培養法はもちろん PCR 法によっても病原体そのものの検出、同定は効率が悪い。このため診断においては、Tp に対する血清中の抗体検出が非常に大きいウエイトを占める。Tp の主要かつ特異的な抗原として TpN47、TpN17、TpN15 の３種が同定され、現在はこの３種リコンビナント蛋白の混

合物が抗体検出用に使用されている。

ア．*Treponema pallidum* の主要抗原の多型性の検討

３種抗原の混合物を抗体検出に使用するのは、従来の全菌体抗原で陽性の血清中、10%近くが３種リコンビナント蛋白のどれか１つにしか陽性を示さないことが経験的に知られているからである。しかし、この現象の原因については未だ明確な説明がない。１つの仮説として、実際に感染した Tp の TpN47、TpN17、TpN15 のエピトープ部分の配列がある確率で、診断用に確立したリコンビナントのそれとは変換している可能性も考えられる。そこで、これら遺伝子の多型性についての検討を開始した。ウサギ睾丸内で培養（実験的には唯一の大量培養法）しストックした Tp 菌体集団を鋳型に高い fidelity を有する PCR 用酵素で３遺伝子領域を増幅、plasmid に組み込んだクローンを多数調製し、シーケンス解析をする方法で検討を行っている。現在確立しているリコンビナント抗原を用いて今後とも抗体検査を行うことの信頼性に関して、確認または疑義を提出できるものと予想してる。

イ．*Treponema pallidum* の主要抗原 TpN47 の発現制御メカニズム解析へのアプローチ

試験管培養ができない Tp では遺伝子発現制御に関する研究はこれまで皆無と言っても過言ではない。発現プロフィールについては、前述の３種抗原は主要抗原であることからも予想されるように、発現量が高い。2005 年に Tp での転写 array のデータが初めて報告され、これら３種抗原遺伝子、特に TpN47 の転写量が高いことが判明している。TpN47 は主要抗原であり、Natural の lipidiated form は培養細胞への炎症反応惹起能も報告され、仮想的病原因子の候補の１つである。これらのことから、TpN47 の発現制御メカニズムにアプローチすることは重要と考えられる。Tp はウサギ睾丸内でしか実験的に培養できないという性質、限定的な条件以外では増殖そのものを静止するという性質から、転写制御因子はあまり保有していないと考えられてきた。しかし 1998 年に公表されたゲノムデータはこの概念とは合い入れず、sigma factor については 38、32 に相当する物以外、これまで細菌で知られているセットは全て保有している。また、いわゆる 2 成分制御系についても数セットがアノテ-ションされている。これらを考え合わせて、TpN47 の高い転写量には Tp の持つ何らかの転写制御因子による Trans な効果もあるという仮説を立てた。Tp は試験管内培養不能であるため、mutant 作製、transformant 分離等の戦略は取れないため、TpN47 の上流域を lacZ 遺伝子に融合させた reporter plasmid を保持する E. coli に Tp total DNA library を導入し、転写量が上昇する clone を選別する方法で解析を進めている。現在までに１０数個の候補クローンを得ており、効果の定量化、クローン化断片のシーケンス等を行っている。[中山周一、松岡ひろこ、大西　真、渡辺治雄]

（３）セラチアの溶血因子の研究

Serratia marcescens は尿路感染症を始め、創傷感染、肺炎、髄膜炎、などの種々の感染を惹起する。しばしば、院内感染の原因菌としても同定される。病原性は弱いと考えられているが、易感染患者に感染すると敗血症等の重篤な症状におちいる危険性がある。その病原性に関する研究は、あまり行なわれておらず、発症のメカニズム等の解明は進んでいない。そこで本研究では、*S.marcescens* の基礎的な病原性のメカニズムの解明をめざしている。現在、ヒト赤血球による溶血活性を指標にして、*S.marcescens* とホストの相互作用を調べている。昨年までに、ショットガンクローニング法により既知の溶血因子である *shlA* 以外に、ホスホリパーゼ A である *phlA* が新規溶血素である可能性を示した。今年度はより詳細な解析

を、遺伝学的・生化学的な方法により進めた。λRED recombination system により *phlA* 欠失株を作成し、血液寒天培地における溶血活性を調べた結果、変異体は溶血活性を失っており、この遺伝子が溶血活性に直接影響を与えることが分かった。またこのタンパク質の直接的な溶血活性を調べるために、大腸菌による組み換えタンパク質(His-PhlA)の発現と精製を試みた。SDS-PAGE により精製タンパク質が、ほぼ単一な精製品であることを確認した。この組み換えタンパク質を用いて、血液寒天培地(ヒト、ウマ、ヒツジ)による溶血活性を調べたところ、ヒトのみ 30℃または 37℃で溶血環が観察された。これらの事より、PhlA は *S.marcescens* の新規溶血因子であることが明らかとなった。現在、培養細胞等を用いて PhlA と病原性の関連について詳細な解析をおこなっている。[志牟田　健、伊豫田　淳、大西　真、渡辺　治雄]

XI．口腔内細菌に関する研究

（1）*Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成を抑制する *S. salivarius* 分子の精製

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 salivarius* と混合培養した場合にバイオフィルム形成が低下することが明らかとなった。*S. salivarius* によるバイオフィルムの低下メカニズムに、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である CSP を不活性化させる蛋白分子が関与していることが明らかになった。この抑制蛋白分子は、*S. salivarius* の培養上清中に存在することが明らかとなった。この分子の精製をゲル濾過クロマトグラフィーおよび DEAE イオン交換クロマトグラフィーを用いて行うと、分子量約 60 と 75ｋDa のバンドを含むフラクションに抑制活性が認められた。この分子は、native な状態の時に複合体を形成していることも明らかになった。[泉福英信、小川綾子、藤田周平、三戸部次郎、渡辺治雄]

（2）母子感染における *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成に関与する遺伝子の検討

母子伝播における *S. mutans* のバイオフィルムの形成能および構造とその遺伝子の役割を明らかにすることを目的として、Quorum sensing System の制御を受けた *S. mutans* のバイオフィルム形成に関わる45の遺伝子を明らかにした。それらの中でSMU832，833遺伝子については、母子が一致しない子供の *S. mutans* から100%に近い値で検出されているのに対して、一致した子供の *S. mutans* では60%以下であった。このことから、SMU832，833遺伝子において、子が母親以外の者から *S. mutans* を獲得する際に、何らかの関連がある可能性が示唆された。また、SMU832，833遺伝子欠損株を用いた６時間培養において、培地中のsucroseの有無に関わらず、バイオフィルム形成能が親株（UA159）よりも高くなった。以上の結果から、これら遺伝子によるバイオフィルム形成の制御が *S. mutans* の伝播に関与している可能性が考えられた。[泉福英信、茂木瑞穂、渡辺治雄]

（3）*S. gordonii* SspB ペプチドの唾液アグルチニンへの結合におけるリジン置換および 2 次構造の解析

S. gordonii の菌体表層蛋白質(SspB)の SspB(390-A393K-T400K-402)ペプチドは、唾液アグルチニン（gp-340/DMBT1）のペプチド（SRCRP2）と強く結合する。この結合には、リジン置換による陽電荷表出が影響していることが考えられている。このペプチド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陽電化を表出しなおかつ推定上の距離が 12.1Å で、SRCRP2 の β シート上の負電荷間の推定上の距離が 11.9Å と近似していた。このような陽電荷の表出とその距離が、SRCP2 との結合に関与していると考えられた。[泉福英信、木庭秀彦、奥田健太郎、渡辺治雄]

（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 の保有率が我々の所有する臨床分離株や実験室株の中で約 30%であることが明らかとなった。これらの Smb 保有株の中で抗菌活性の強弱が認められ、またその強弱と Smb 遺伝子発現の関連性も認められた。抗菌活性の低い株と高い株で Smb Structual gene の遺伝子配列に違いが認められず、また Promotor 領域の Sequence にも違いが認められなかった。しかし、ATG start codon から-46 に 1 塩基の変異があることが明らかとなった。この変異が、Smb 遺伝子発現の強弱に関与している可能性が示唆された。[泉福英信、米沢英雄、中山周一、三戸部次郎、渡辺治雄]

（5）う蝕原因菌 *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成におけるキシリトール及びフノランの阻害効果

代用糖キシリトール及び海草多糖体フノランの *S. mutans* バイオフィルム形成に及ぼす影響を検討した。唾液をコートした表面では、スクロース添加培地のみバイオフィルム形成が認められたが、キシリトール添加培地ではその形成が認められなかった。唾液をコートしない条件では、キシリトール添加培地でもスクロース添加培地の時よりも少ないバイオフィルム形成が認められたが、そこにフノランを加えると完全に阻害された。以上の結果は、代用糖としてのキシリトールの使用、及び食品へのフノランの添加が、*S. mutans* を主体とする口腔内バイオフィルムの形成阻害に有効であることを示唆している。[泉福英信、米田早織、米沢英雄、中尾龍馬、渡辺治雄]

（6）ヒノキチオールによる口腔上皮細胞に対する付着抑制効果

Candida albicans は口腔常在菌であり、免疫抑制剤の使用や生体防御機構の低下などの要因で日和見感染菌としても知られている。要介護高齢者の口腔では、*C. albicans* の検出率が高くなり、誤嚥により肺炎になる率が高くなる。檜から抽出されるヒノキチオールは強い抗菌性と広い抗菌スペクトルが明らかにされている。このヒノキチオール 0.5mM を *C. albicans* に作用すると、静菌活性は示さずに *C. albicans* の上皮細胞への付着抑制活性が観察された。このことは、ヒノキチオールが *C. albicans* の表層に作用し、上皮細胞への付着分子になんらかの影響を与えていることが考えられた。ヒノキチオールは、高齢者の口腔ケア剤として有用となるかもしれない。 [泉福英信、中村盛幸、渡辺治雄]

（7）*Candida albicans* の口腔上皮細胞への付着に対する鶏卵抗体 IgY の抑制効果について

C. albicans は口腔内の常在菌であり、また日和見感染菌としても知られており、口腔粘膜の炎症を引き起こす。Candida の上皮細胞への付着に関して、食品原料として利用できる鶏卵由来のポ

リクローナル抗体の抑制効果に関する報告は少ない。そこで本研究は、*C. albicans* を免疫した鶏卵由来抗体 IgY 用いて Candida sp.の口腔上皮への付着抑制効果を検討した。その結果、IgY は有意に各 Candida の上皮細胞への付着を抑制した。[泉福英信、藤林泰介、渡辺治雄]

（８）酪酸による *Actinomyces neaslundii* バイオフィルムへの効果に関する研究

*Porphyromonas gingivalis*などの歯周病関連菌は最終代謝産物として、各菌種特有の短鎖脂肪酸(SCFA)を作り分泌している。そこで我々は口腔常在菌である*Actinomyces neaslundii*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の一つである酪酸は、ある一定濃度において、*A. naeslundii*のバイオフィルム形成を促進することが明らかになった。また、唾液コート上へのバイオフィルム形成においても同様の現象が見られたことから、口腔内においても同様の効果を発揮するものと推察された。一方、その効果は培養後期の16～20時間目において発揮されたことから、*A. naeslundii*のバイオフィルムの成熟化に何らかの影響を及ぼしているものと考えられた。[米田早織、河原井武人、落合邦康（日本大学歯学部)、泉福英信]

（９）*Porphyromonas gingivalis* Omp85 ホモログの推定される糖鎖修飾部位とバイオフィルム形成への関与

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。前年度まで、*Porphyromonas gingivalis* の Omp85 が数 kDa の糖修飾を受ける外膜タンパクであることが明らかにした。引き続き、OMP85 の修飾糖鎖が *P. gingivalis* のバイオフィルム形成へ関与するか否かを調べた。ガラクトース関連糖鎖の変異株となる *galE* 変異株においては、修飾糖鎖が野生株に比べて短縮化し、かつ OMP85 の loop-3 ペプチド領域に対する抗体によるバイオフィルム形成阻害が野生株よりも著明であった。以上より、OMP85loop3 領域の糖鎖修飾の可能性とバイオフィルム形成への関与が示唆された。[中尾龍馬、泉福英信、渡辺治雄]

（１０）*Porphyromonas gingivalis* 表層タンパクパラログヘマグルチニン HagB/C のグリコシレーション

Porphyromonas gigivalis のヘマグルチニン HagB/C は赤血球凝集活性を示す細胞表層タンパク質であり、すでに *P. gingivalis* 菌体の内皮細胞付着に関与することが報告されている。前年度までの検討により、HagB/C が糖鎖修飾を受けている可能性が示唆されていた。本年度は、HagB/C の糖鎖修飾の有無を明らかにし、その修飾部位を推定した。外膜抽出物をトリフルオロメタンスルホン酸処理によって糖鎖切断処理し、HagB 抗体のウェスタンブロット解析した結果、糖鎖切断処理により HagB のバンドシフトが観察されたことから、HagB/C が糖タンパク質であり、その修飾糖鎖分子は数 kDa であることが示された。また、*hagB* 及び *hagC* の配列解析から、N 結合型糖鎖のコンセンサス配列は認められず、O 結合型糖鎖の基部となるセリン、スレオニン残基は特に C 末端側で豊富であった。今後は、本分子および修飾糖鎖が付着・バイオフィルム形成などの病原性発現に果たす役割についても検討する予定である。[中尾龍馬、河原井武人、泉福英信、渡邉治雄]

（１１）口腔ケアと *Candida albicans* の口腔内検出率との関係

施設内要介護高齢者 60 名に対する持続的な歯表面ケアと歯表面ケアおよび粘膜ケアの効果を口腔内 *Candida albicans* 検出率について検討を行った。その結果、口腔ケアを開始してから１、２か月目は両群に有意差が認められなかったが、口腔ケアを開始して 3 か月目以降の歯表面ケアおよび粘膜ケアを行った群の *C. albicans* の検出率は、歯表面ケアのみを行った群よりも有意に低いことが明らかとなった。粘膜ケアを歯牙表層ケアに加えると *C. albicans* の検出率抑制効果が強く認められた。これらの結果から、要介護高齢者における誤嚥性肺炎の予防に長期的な口腔粘膜ケアが有効であると考えられた。[泉福英信、稲葉英理佳、植松宏（東京医科歯科大学)、渡辺治雄]

（１２）歯科医療における院内感染対策の現状について

HIV 感染者および AIDS 患者数の比較的少ない某 D 県に所属する歯科医師 1329 人に対し院内感染対策の意識、知識、行動についてアンケート調査を実施した。376 人(回収率 28.3%)から回答がありその分析を行った。平成１８年度に行った HIV 感染者および AIDS 感染者が全国的に多い某 A 県との比較も併せて行った。地域の HIV 感染者および AIDS 患者の数に関係なく、若い年齢層および来院患者数の多い歯科医師において、院内感染対策の意識、知識、行動の良好な結果を得ることができた。院内感染対策を歯科医療に導入していくためには、手間のかからない部分は研修会や実習等で短期に向上させていくことが可能であるが、手間のかかる部分や経済的な投資が必要な部分は簡単に向上させることが難しいと考えられた。経済的に余裕のある歯科医院に対しての研修会や実習等は効果的に働くことが予想されるが、経済的に余裕のない歯科医院に院内感染対策を導入させるのが難しいと考えられた。院内感染対策の導入は、項目においては若干の地域差が認められ、実際の感染者や患者の数にも影響を受けることが考えられた。院内感染対策を導入していくためには、高年齢の歯科医師に対しての研修等を長期的に行い、若い歯科医師には積極的に意識改革のために研修会へ参加させることが必要である。まずは、経済的に負担の少なく手間のかからない院内感染対策から始めることが重要であると考えられた。[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）]

XII.ペスト菌の研究

（１） ペスト菌 F1 antigen に対するモノクローナル抗体を用いた直接抗体法によるペスト菌の迅速検出法の開発

ペスト菌をペスト菌の F1 antigen に対するモノクローナル抗体を用いた直接抗体法 (Direct Fluorescent Antibody)を用いて迅速に検出する方法の確立を試みた。ペスト菌をフォルマリンで処理したサンプルに対してはペスト菌の類縁菌である *Y. pseudotuberuculosis* 及び *Y. enterocolitica* へのクロス反応は認められずいずれのペスト菌株に対しても良好な蛍光像が得られる陽性を示したが、ペスト菌を一般的な臨床検査で用いられるメタノール（熱）固定処理した場合には DFA による染色像は殆ど認められなかった。以上の結果からペスト菌 F1 antigen に対するモノクローナル抗体によりフォルマリン処理した検体における DFA によるペスト菌の検出法を確立した。[高橋英之]

（２）生育温度の異なる死菌体を用いたペスト菌に対するヒトの自然免疫応答の検討

ペスト菌が 37℃生育菌の LPS(LPS-37)は LPS-27 が示すようなヒト細胞に対するアゴニスト活性を失い、逆にアンタゴニストとして強い抑制作用を

示すことを菌体レベルでの反応を明らかにするために、フォルマリン死菌（FKB）を用いて検討した結果、LPS の場合と同様に菌体レベルでも、FKB-27 のヒトマクロファージ様細胞である U937 細胞に対する活性は強く、FKB-37 の活性は弱かった。この FKB-27 の活性に対しても LPS-37 はアンタゴニスト活性を示したが、FKB-37 はほとんど示さなかった。貪食に関しては、FKB-27 よりむしろ FKB-37 の方が貪食を受けやすい傾向が見られた。これらの結果から、人の体内で、37℃で生育したペスト菌は、菌体レベルでも TLR4 による認識から回避できるが、アンタゴニストとして TLR4 をブロックするには LPS を遊離する必要があると考えられた。[松浦基博、平井義一（自治医科大）、高橋英之、渡邉治雄、川原一芳（関東学院大）]

XIII．結核菌に関する研究

（１）ダニから分離された抗酸菌の同定

ダニから分離された抗酸菌の同定を、11 項目の生化学的検査法、DNA-DNA ハイブリダイゼーション法、16S rRNA の塩基配列を調べる塩基配列決定法にて行った結果、*Mycobacterium chelonae* と同定した。*M. chelonae* は、通常ヒトの皮膚から分離されるが、ダニから分離された珍しいケースであった。[山崎利雄・川端寛樹]

（２）ヒトの皮膚由来抗酸菌の同定

ヒトの皮膚から分離され DDH 法により、*M.marinum* と同定された菌株中に、黄オレンジ色の他に灰白色のコロニーが観察されたということで分離同定依頼を受けた。原株を希釈し純化後、単コロニーより増菌させた 15 菌株について 15 項目の生化学的検査法、DDH 法、16S rRNA の塩基配列を調べる塩基配列決定法を行い、全て *M.shinsuense* と同定された。灰白コロニーは、観察中に色が変わる光発色性の菌であり、わが国で分離されるケースがまれな菌種であった。[山崎利雄・伊藤芳幸（三重大学）]

（３）*M. avium* の Variable Numvers of Tandem Repears 型別解析析

浴槽水から分離された *M. avium* より DNA を抽出し、西森らが報告した 17 組のプライマーを用いて PCR を行い、PCR 産物の電気泳動により DNA サイズを測定し、含まれる VNTR 数を調べ、*M. avium* の菌株間の違いを検討した。また、われわれが保存している *M. avium* との違いも検討した。*M. avium* 症の患者さん宅の循環浴槽から分離された *M. avium* は、VNTR 法では、同じ菌株由来と判定されたが、RFLP では、それぞれのバンドパターンが異なるので、別由来の菌であると判定された。浴槽水由来のクラスター形成率は 16.7%（2/12 株）、濾材は 25%（1/4 株）であった。患者さん由来のクラスター形成率は 14.0%（6/43）であった。鳥由来のクラスター形成率は 16.7%(2/12 株)であった。[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）、前田伸治（結核研究所）]

（４）結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

結核菌の迅速薬剤感受性試験のために、二次抗結核薬である Capreomycin (CPM)、Cycloserine (CS)、Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)、Emviomycin (EVM)について、ATP を測定する方法（ATP 法）と参照法の結果を比較し、ATP 法の信頼性を検討した。臨床分離菌 109 株について寒天比率法と ATP 法との一致率は、CPM 92.7%、CS 95.4%、TH 81.7%、PAS 86.2%、EVM 96.3%であり、ビットスペクトル法との一致率は、CS 92.7%、TH 78.0%、PAS 78.9%、EVM 94.5%であった。ATP 法は、二次抗結核薬についても、結核菌薬剤感受性試験法として、5 日間で判定可能な迅速な検査法で

あるが、TH、PAS の ATP 法の濃度については、検討が必要である。 [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）]

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、輸血に関するものとして、抗梅毒抗体診断薬及び抗カルジオライピン抗体診断薬の検査を行っている。19 年度は一件の化学発光 EIA 法による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）レファレンス業務

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

（2）　研修業務

ア．平成 19 年度特別課程細菌コース（国立保健医療科学院）

レジオネラの基礎、感染事例、検査法について、地研、保健所及び行政担当の職員 29 名に対して 2 時間の講義を行った。11 月 15 日、和光市。[倉　文明、前川純子]

イ．厚生労働科研費地域健康危機管理研究事業「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」で LAMP 法とサイクリングプローブ法によるレジオネラの迅速な定量的検出に関して研修を、7 地研から 7 名に対して 2 日間行った。森本　洋（北海道衛研）、佐々木美江（宮城県保環センター）、渡辺祐子（神奈川県衛研）、杉山寛治（静岡県環衛科学研）、磯部順子（富山県衛研）、中嶋　洋（岡山県環保センター）、緒方喜久代（大分県衛環研センター）。7 月 10 日～11 日（泉山信司、遠藤卓郎〔寄生動物部〕；前川純子、常　彬、倉　文明）。

発 表 業 績 一 覧

I．誌上発表

１．欧文論文

1)Matsumoto, Y., Kitazume, H., Yamada, M., Ishiguro, Y., Muto, T., Izumiya, H., and Watanabe, H.: CTX-M-14 type beta-lactamase producing *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolated from imported chicken meat. Jpn. J. Infect. Dis. 60: 236-8, 2007.

2)Kawagoe, K., Mine, H., Asai, T., Kojima, A., Ishihara, K., Harada, K., Ozawa, M., Izumiya, H., Terajima, J., Watanabe, H., Honda, E., Takahashi, T., and Sameshima, T.: Changes of multi-drug resistance pattern in *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar typhimurium isolates from food-producing animals in Japan. J. Vet. Med. Sci., 69: 1211-3, 2007.

3) Morita-Ishihara T. Supramolecular structure of the *Shigella* type III secretion machinery. Bioscience and Microflora. 26: 29-36. 2007.

4)Asakura H, Morita-Ishihara T, Yamamoto S, Igimi S. Genetic characterization of thermal tolerance in *Enterobacter sakazakii*. Microbiology and Immunology. 51: 671-677. 2007.

5)Yamamoto S., He Y., Arakawa K. and Kinashi H. γ-butyrolactone-dependent expression of the

Streptomyces antibiotic regulatory protein gene *srrY* plays a central role in the regulatory cascade leading to lankacidin and lankamycin production in *Streptomyces rochei*. J Bacteriol. 190:1308-1316, 2008.

6) Tokunaga A., Kawano M., Okura M., Iyoda, S., Watanabe, H. and Osawa, R. Identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157-Specific DNA sequence obtained from amplified fragment length polymorphism analysis. Microbiol Immunol. 51: 883-888, 2007.

7) Asakura H, Ishiwa A, Arakawa E, Makino S, Okada Y, Yamamoto S, Igimi S. Gene expression profile of *Vibrio cholerae* in the cold stress-induced viable but non-culturable state.Environ Microbiol., 9(4), 869-79 .2007.

8)Shinoda S, Nakagawa T, Hirakawa N, Miyoshi S, Arakawa E, Ramamurthy T, Dutta B, Faruque SM, Nair GB. Molecular epidemiological studies of *Vibrio cholerae* in Bengal region.
Biocontrol Sci., 13(1), 1-8 .2008.

9)Koizumi N, Watanabe H. Leptospirosis. In: Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases (in press)

10)Jiro Mitobe, Tomoko Morita-Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein hfq in the post-transcriptional regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. J. Biol. Chem. 283: 5738-47.2008.

11)Ino T, Akio Tada, Akira Tominaga, Yasuo Komori, Hiroshige Chiba, and Hidenobu Senpuku. Role of salivary tumour necrosis factor alpha in HIV-positive patients with oral manifestations. International Journal of STD & AIDS.18: 565-569.2007.

12)Ryoma Nakao, Yosuke Tashiro, Nobuhiko Nomura, Saori Kosono, Kuniyasu Ochiai, Hideo Yonezawa, Haruo Watanabe and Hidenobu Senpuku. Glycosylation of the OMP85 homolog of *Porphyromonas gingivalis* and its involvement in biofilm formation. Biochemical and Biophysical Research Communications, 365:784-789. 2008..

13)Masayuki Kumada, Hidenobu Senpuku, Mizuho Motegi, Ryoma Nakao, Hideo Yonezawa, Hideki Yamamura, Haruo Watanabe and Junji Tagami. Effects of *Enterococcus faecium* on *Streptococcus mutans* biofilm formation using flow cell system. Journal of Oral Biosciences, 50: 68-76, 2008.

14)Yosuke Tashiro, Nobuhiko Nomura, Ryoma Nakao, Hidenobu Senpuku, Reiko Kariyama, Hiromi Kumon, Saori Kosono, Haruo Watanabe, Toshiaki Nakajima, Hiroo Uchiyama. Opr86 is essential for viability and is a possible protective antigen in *Pseudomonas aeruginosa.* J. Bacterol. 190: 3969-3978. 2008.

15)Ikebe, T., Hirasawa, K., Suzuki, R., Ohya, H., Isobe, J., Tanaka, D., Katsukawa, C.,Kawahara, R., Tomita, M., Ogata, K., Endoh, M., Okuno, R., Tada, Y., Okabe, N., Watanabe, H. and the Working Group for Beta-hemolytic Streptococci in Japan. Distribution of emm genotypes among group A streptococcus isolates from patients with severe invasive streptococcal infections in Japan, 2001-2005. Epidemiol. Infect. 135: 1227-1229. 2007.

16) Pei Y, Terajima J, Saito Y, Suzuki R, Takai N, Izumiya H, Morita-Ishihara T, Ohnishi M, Miura M, Iyoda S, Mitobe J, Wang B, Watanabe H. Molecular Characterization of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7

Isolates Dispersed across Japan by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis. Jpn J Infect Dis. Jan;61(1):58-64.2008.

17) Liang SY, Watanabe H, Terajima J, Li CC, Liao JC, Tung SK, Chiou CS. Multilocus Variable-Number Tandem Repeat Analysis for Molecular Typing of *Shigella sonnei*. J Clin Microbiol. Nov;45(11):3574-80.2007.

18)Yoshitoshi Ogura, Tadasuke Ooka, Asadulghani ., Jun Terajima, Jean-Philippe Nougayrede, Ken Kurokawa, Kousuke Tashiro, Toru Tobe, Keisuke Nakayama, Satoru Kuhara, Eric Oswald, Haruo Watanabe and Tetsuya Hayashi. Extensive genomic diversity and selective conservation of virulence-determinants in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* strains of O157 and non-O157 serotypes. Genome Biology. (7): R138.2008.

19)Y Hirakata, Y Mizuta, A Wada, A Kondoh, S Kurihara, K Izumikawa, M Seki, K Yanagihara, Y Miyazaki, K Tomono and S Kohno.The First Telithromycin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Isolate in Japan Associated with *erm*(B) and Mutations in 23S rRNA and Riboprotein L4. Jpn J Infect Dis, 2007. 60:48-50.

20)S Kobayashi, A Wada, S Shibasaki, M Annaka, H Higuchi, K Adachi, N Mori, T Ishikawa, Y Masuda, H Watanabe, N Yamamoto, S Yamaoka and T Inamatsu Spread of a large plasmid carrying the *cpe* gene and the *tcp* locus amongst *Clostridium perfringens* isolates from nosocomial outbreaks and sporadic cases of gastroenteritis in a geriatric hospital. Epidemiol Infect, 2008.in press.

21)Saito K, Ito A, Asashima N, Ohno M, Nagai R, Fujita H, Koizumi N, Takano A, Watanabe.H, Kawabata H. Case report: *Borrelia valaisiana* infection in a Japanese man associated with traveling to foreign countries. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 77:1124-1127, 2007.

22)Fujita H, Takada N, Kawabata H, Ishiguro F, Yamamoto S, Oikawa Y, Yano Y, Ma XH, Oh,HS. Some suggestive records of rickettsiae isolated from ticks in Korea and central China. Annual report of Ohara General Hospital. 47: 21-24, 2007.

23)Hideyuki Takahashi, Kwang Sik Kim and Haruo Watanabe: Differential in vitro infectious abilities of two common Japan-specific sequence type (ST) clones of disease-associated ST-2032 and carrier-associated ST-2046 *Neisseria meningitidis* strains in human endothelial and epithelial cell lines. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 52:36-46. 2008

24)Iguchi A, Iyoda S, Watanabe H, and Osawa R. O side chain deficiency enhances sensitivity of *Escherichia coli* to Shiga toxin 2-converting bacteriophages. Current Microbiol. 54: 14-19. 2007.

25)Alam,M.,Sultana,M.,Nair,G.B.,Siddique,A,K.,Hasan,N.A.,Sack,R.B.Sack,D.A.,Ahmed,K.U., Sadique,A., Watanabe,H., Grim,C.J., Huq,A., and Colwell,R.R. Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* O1 in biofilms in the aquatic environment and their role in cholera transmission. Pro.Natl.Acad.Scie: 104: 17801-17806. 2007.

26)Shiu-Yun Liang, Haruo Watanabe,Jun Terajima, Chun-Chin Li, Jui-Cheng Liao, Sheng Kai

Tung,and Chien-Shun Chiou . Multilocus variable-number tandem repeat analysis for molecular subtyping of *Shigella sonnei*. J.Clin.Microbiol. 45:3574-3580. 2007

27)Zo, YG., Chokesajjawatee,N., Arakawa,E., Watanabe,H., Huq,A., and Colwell RR. Covariability of *Vibrio cholerae* microdiversity and environmental parameters. Appl. Environ. Microbiol. 74: 2915-2920. 2008

2．和文発表

1)伊豫田淳、勢戸和子、寺嶋淳：世界的に見た感染症の検査法「腸管出血性大腸菌」、臨床と微生物、34，273-278，2007.

2)小泉信夫，渡辺治雄．抗レプトスピラ抗体．臨床検査項辞典 663，2008.

3)小泉信夫，渡辺治雄．レプトスピラ症とは／レプトスピラ症の検査法．IASR 29: 5-8，2008.

4)西園隆三，小泉信夫．　医師からみたレプトスピラ症．SA Medicine 49: 68-70，2007.

5)小泉信夫．レプトスピラ症およびレプトスピラワクチン．World Focus 98: 5-6，2007.

6)寺嶋　淳。堺以後の日本における O157 の発生動向。日本食品微生物学会誌、24，74-79，2007

7)寺嶋　淳。便細菌検査による病原性大腸菌検出時の対応。日本医事新報、質疑応答、4345，162，2007

8)寺嶋　淳。腸管出血性大腸菌 O157 の近年の発生状況について - 分子疫学的解析からわかること - 、獣医公衆衛生研究、10，8-10，2008

9)志牟田　健　。最新　細菌 かび 酵母 図鑑(分担執筆)、第二章-18 Serratia marcescens (セラチア菌)。p92-95.技術情報協会.2007.

10)倉　文明：微生物感染と NOX、生体防御医学事典（鈴木和男監修)、217-221、朝倉書店、東京、2007 年 5 月 20 日.

11)倉　文明：*Legionella pneumophila*、最新細菌・カビ・酵母図鑑（高鳥浩介、五十君静信監修)、71-74、技術情報協会、東京、2008 年 12 月 27 日.

12)倉　文明：レジオネラ属菌の管理基準、感染事例と菌濃度との関連、および分子疫学、第 66 回日本公衆衛生学会総会（愛媛）報告書日本公衆衛生学会誌、240，2007.

13)宇根有美、三部あすか、加藤行男、鈴木智、仁和岳史、川上和人、泉谷秀昌、渡辺治雄：北海道のスズメ大量死事例から見出された *Salmonella* Typhimurium DT40 感染症。IASR、第 28 巻第 2 号、49-51、2006.

14)泉谷秀昌：食中毒予防必携第 2 版、サルモネラ。日本食品衛生協会、2007.

15)泉谷秀昌：サルモネラ属菌、最新細菌カビ・酵母図鑑。技術情報協会、2007.

16)馬場俊一，川端寛樹，高野愛．ライム病．小児内科．東京医学社，39(11)，2007.

17)安間安弥子，馬場俊一，下島博之，照井正，川端寛樹．東京都内で発生したアカコッコマダニ成虫複数刺咬の 1 例．皮膚の科学．6(4)，387-391，2007.

18)矢野泰弘，田原研司，保科健，板垣朝夫，藤田博己，角坂照貴，川端寛樹，高田伸弘．島根県におけるツツガムシの分布調査-ツツガムシ病発生相と関連して-．大原綜合病院年報．47，7-10．2007.

19)坂本光男、小野寺昭一、高橋英之、渡辺治雄、髄膜炎菌による急性気管支炎を発症した HIV 感染症の一例、感染症学雑誌、81：731-735、2007

20)高橋英之、渡辺治雄、新感染症学（下)、-新時代の基礎・臨床研究-、ペスト、日本臨牀 65 増刊号 3、54-59、2007.

21)池辺忠義、渡辺治雄．劇症型溶血性レンサ球菌感染症．In 新感染症学(下) -新時代の基礎・臨床研究-．日本臨床増刊号．65 suppl 3: 255-258

(2007).

22)泉福英信、歯科医療機関における院内感染対策の導入について. 日本歯科評論. 774:135-140. 2007

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Jiro Mitobe, Tomoko Morita-Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein hfq in the post-transcriptional regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. The 37th US-Japan Medical conference Cholera board. Austin Texas, USA. Dec.4-7, 2007

2)Iyoda, S., Saitoh, T., Lu Y. and Watanabe H. Coordination of virulence-related genes under the control of GrlR/GrlA regulatory system in enterohemorrhagic *Escherichia coli.* 107th ASM General Meeting,. Toronto, Canada. May 2007

3)Suzuki-Hashimoto, A., Amemura-Maekawa, J., kura, F., Chang, B., Izumiyama, S., Ichinose, M., Watanabe, H., Endo, T.; The surveillance of *Legionella* from cooling towers between 2001 and 2006 in Japan. 22nd Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections, Stockholm, Sweden. June 2007.

4)Miyahara, M., Miyahara, M., Arakawa, E.: Detection of *Vibrio parahaemolyticus* by PCR in food and effect of electron-beam irradiation on the detection of *Vibrio parahaemolyticus*., Vibrio 2007, Paris, France. Nov 2007

5)Okura, M., Osawa, R., Tokunaga, A.,Morita, M., Arakawa, E., and Watanabe, H.: Comparative and genetic analyses of the putative O and K-antigen gene clusters of *Vibrio parahaemolyticus* pandemic group O3:K6 and O4:K68 strain, 42th U.S.-Japan Cholera and Other Bacterial Infections Joint Panel Meeting, Texas, USA. Dec 2007,

6)Kura F, Amemura-Maekawa J, Suzuki-Hashimoto A, Chang B, Izumiyama S, Ichinose M, Endo T, Watanabe H: Surveillance of *Legionella* isolates from bathtub water in Japan: An increase of the rate of *Legionella pneumophila* serogroup 1. 22ndAnnual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Stockholm. June 2007.

7)H. Izumiya: Application of MLVA to EHEC isolates of Japan. 5th Meeting of PulseNet Asia Pacific, Kolkata, India. Feb. 2008.

8)Senpuku H,Tominaga A,Nakajima J.and Komori Y. Relationship between inhibition effects on HIV-1infection of Lactoferrin and TNF- α production. 13th International Congress of Mucosal Immunology,Tokyo July.2007

2. 国内学会

1) 大西真、山本新吾、倉園久生、濱砂良一、渡邉治雄.腸管外病原性大腸菌の系統解析　第８１回日本感染症学会　京都　2007 ４月

2) 前川純子. レジオネラの検査法と分子疫学. シンポジウム講演. 衛生微生物技術協議会。第 28 回研究会、岡山、2007 年 7 月.

3) 村井美代、前川純子、渡辺治雄. 黄色ブドウ球菌のファイブロネクチン結合タンパク A 領域にみられる菌株間の多型. 第 52 回日本ブドウ球菌研究会、徳島、2007 年 9 月

4) 前川純子. *Legionella pneumophila* SBT について. 「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」に関する九州地区研修. 福岡、2007 年 12 月.

5) 前川純子、山崎利雄、渡辺治雄、倉　文明；森本　洋、熊田裕子、藤田雅弘、黒木俊郎、杉

山寛治、緒方喜久代、縣　邦雄．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．　第81回日本細菌学会総会、京都、 2008年3月.

6）山崎利雄、相澤志保子、服部真一朗、宮本友司、山本三郎、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、第77回実験結核研究会、2007、6月、大阪

7）山崎利雄、相澤志保子、服部真一朗、宮本友司、山本三郎、加齢モルモットにおける BCG ワクチン再接種の結核防御効果、第82回日本結核病学会総会、2007、6月、大阪.

8）村井美代、前川純子、渡辺治雄．黄色ブドウ球菌のファイブロネクチン結合タンパク A 領域の多型と立体構造への影響．第81回日本細菌学会総会、京都、 2008年3月.

9）大倉正稔，大澤朗，徳永暁彦，森田昌知，荒川英二，渡辺治雄　新興型腸炎ビブリオ03:K6株と04:K68株のOおよびK抗原の合成に関わる遺伝子群の比較解析、第41回腸炎ビブリオシンポジウム、2007年11月、神戸

10）宮原美知子、荒川英二．腸炎ビブリオの食品からの迅速検査法の検討、第41回腸炎ビブリオシンポジウム、2007年11月、神戸

11）荒川英二．エロモナス感染症の現況、平成19年度保健所検査業務研究発表会、2008年3月、岡山

12）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、渡邊治雄：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・ワークショップ・「細菌における遺伝子発現制御機構の特異性と普遍性」、2007年3月、大阪

13）陸彦、伊豫田淳、トーマ・クラウディア、伊藤健一郎、八柳潤、大西真、寺嶋淳：LEE 非保有型の志賀毒素産生性大腸菌が保有する新規免疫グロブリン結合遺伝子ファミリーの解析、第80回日本細菌学会総会、2007年3月、大阪

14）齊藤剛仁、伊豫田淳、陸彦、志牟田健、大西真、寺嶋淳、渡邊治雄：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、2007年3月、大阪

15）伊豫田 淳、山本 章治、佐藤 人美、寺嶋 淳、渡邊 治雄：LEE の発現制御因子 GrlA による病原性遺伝子群のグローバル発現制御機構、第 11 回 EHEC シンポジウム、2007年8月、長野

16）石原朋子：腸管病原菌の III 型分泌装置と細胞付着・侵入のメカニズム、7年度日本乳酸菌学会秋季セミナー、2007年11月、東京

17）石原朋子、三浦雅史、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡辺治雄：赤痢菌感染による細胞破壊抑制機構の解析、第81回日本細菌学会総会、2008年3月、京都

18）小泉信夫，武藤麻紀，山本正悟，下村高司，相馬宏敏，渡辺治雄．宮崎県のイヌから分離されたレプトスピラの性状解析．レプトスピラシンポジウム，京都，2008年3月.

19）小泉信夫，大西真，渡辺治雄．Megasort 法を用いたレプトスピラ strain-specific 遺伝子の網羅的解析．日本細菌学会，京都，2008年3月.

20）三戸部治郎、石原朋子、石浜明、渡辺治雄．赤痢菌の Type III secretion system の post-transcriptional な温度、浸透圧制御。平成20年5月2008年4月第81回日本細菌学会総会　京都国際会議場

21）泉福英信、口腔ケアによる口腔微生物叢への効果の実際、歯科人間ドック学会特別講演、東京、２００７年６月１７日。

22）泉福英信、茂木瑞穂、田村昌平、*S. mutans*と他のstreptococciとの混合培養バイオフィルムにおけるGlrAの役割、第４９回歯科基礎医学会、札幌、2007年8月。

23）泉福英信、木村晴夫、西牟田守、島田美恵子、

中川直樹、吉武裕、体力と口腔微生物叢との関係、第62回日本体力医学会、秋田、2007年9月。

24）泉福英信、薬液を利用した口腔ケアによる口腔微生物叢への効果の実際、日本化学療法学会、ワークショップ４ 講演、仙台、2007年９月１４日。

25）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導入とその対策について、第56回口腔衛生学会、東京、2007年10月。

26）佐藤則文、中村盛幸、山崎統資、泉福英信、*Candida albicans*のBiofilm形成および口腔上皮細胞への付着性に及ぼすヒノキチオールの効果に関して、第56回口腔衛生学会、東京、2007年10月。

27）金子　昇、葭原明弘、泉福英信、花田信弘、宮﨑秀夫、高齢者における唾液中抗PAc(361-386) IgA抗体と根面齲蝕との関連、第56回口腔衛生学会、東京、2007年10月。

28）泉福英信、口腔ケアによる口腔細菌叢への効果の実際、第１６回日本口腔感染症学会時・第５６回ICD講習会特別講演、横浜、2007年11月10日。

29)泉福英信、口腔細菌叢に及ぼす口腔ケアの役割について、第１３回摂食・嚥下リハビリテーション学会、シンポジウム講演、大宮、２００７年９月１４日。

30)泉福英信、口腔ケアによる口腔細菌叢への効果の実際と歯科医療における全身感染症対策、北陸地区HIV歯科診療情報交換会・研修会特別講演、金沢、2008年2月24日。

31)泉福英信、歯科医療における院内感染対策に対する意識と行動およびその評価指標の開発、第9回日本口腔機能水学会学術大会特別講演、新潟、2008年3月23日。

32)中尾龍馬、泉福英信、渡辺治雄、*Porphyromonas gingivalis*表層タンパクパラログ、ヘマグルチニンHagB/Cのグリコシレーション、第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。

33)河原井武人、米澤英雄、米田早織、杉田大悟、佐伯洋二、落合邦康、泉福英信、う蝕原因菌*Streptococcus mutans*のバイオフィルム形成におけるキシリトール及びフノランの阻害効果、第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。

34)金子昇、花田信弘、泉福英信、唾液中抗PAc(361-386)IgA抗体の高齢者における根面う蝕プレディクターとしての可能性、第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。

35)米田早織、河原井武人、杉田大悟、佐伯洋二、泉福英信、短鎖脂肪酸の*Actinomyces naeslundii*バイオフィルム形成に及ぼす影響、第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。

36)寺嶋　淳、伊豫田　淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、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 81 回日本細菌学会総会、2008 年 3 月、京都

37)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、渡辺治雄：OspE ファミリータンパク質による感染宿主細胞の RhoA シグナル伝達系の制御。第 81 回日本細菌学会総会、2008 年 3 月、京都

38)大岡唯祐、小椋義俊、中山啓介、寺嶋　淳、渡辺治雄、林　哲也：腸管出血性大腸菌 0157 の小規模ゲノム構造多型に関する詳細な解析。第 81 回日本細菌学会総会、2008 年 3 月、京都

39)寺嶋　淳：腸管出血性大腸菌感染症の動向と分離菌株の分子疫学解析。第 12 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2008 年 3 月、東京

40)江藤良樹、中村祥子、濱崎光宏、村上光一、竹中重幸、堀川和美、大岡唯祐、林哲也、楠本正博、寺嶋　淳：腸管出血性大腸菌 0157 の IS-printing 法とパルスフィールドゲル電気泳動法の比較。第 12 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2008 年 3 月、東京

41)杉本典彦、寺嶋　淳、伊豫田　淳、嶋　謙介、呉　育羅、日野根谷淳、朝倉昌博、渡邉治雄、山崎伸二：我が国で分離した様々な血清型の腸管出

血性大腸菌を用いた志賀毒素ファージを標的としたPCR-RFLP法の評価。第12回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2008年3月、東京
42)寺嶋　淳、伊豫田　淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、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11回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2007年8月、安曇野市
43)倉　文明、前川純子、鈴木敦子、常　彬、泉山信司、市瀬正之、遠藤卓郎、渡辺治雄：浴槽水からのレジオネラ属菌の検出状況 –*Legionella pneumophila*血清群1の増加–．感染症学会、2007年4月、京都.
44)鈴木敦子、前川純子、倉　文明、常　彬、泉山信司、市瀬正之、渡辺治雄、遠藤卓郎：冷却塔水からのレジオネラ属菌の検出状況 –2001年度から2006年度まで–．第81回日本感染症学会総会、2007年4月、京都.
45)倉　文明：レジオネラ属菌の管理基準と検出データからの知見、平成19年度環境衛生監視員研修会（兵庫県）、2007年6月、神戸.
46)倉　文明：レジオネラ属菌の管理基準、感染事例と菌濃度との関連、および分子疫学、招請講演、行政研修フォーラム、公衆衛生学会、2007年10月、松山.
47)倉　文明：レジオネラの基礎、国立保健医療科学院平成19年度特別課程細菌コース、2007年11月、和光.
48)郡山洋一郎、中村由美子、青木眞里子、柴早苗、高橋朝子、鈴木龍雄、工藤寛子、前川純子、倉文明：足立区における温泉水からのレジオネラ属菌検出事例について、第20回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌部会、2008年2月、千葉.
49)倉　文明：遺伝子検査法の進展状況と活用方法、第6回全国レジオネラ対策会議、3月、東京.
50)宇根有美、三部あすか、鈴木智、仁和岳史、加藤行男、川上和人、泉谷秀昌、渡辺治雄：北海道におけるスズメ *Passer montanus* の *Salmonella* Typhimurium感染症の発生。第143回日本獣医学会学術集会、つくば市、2007年4月。
51)野田裕之、長田美母衣、大沼正行、金子通治、泉谷秀昌、渡辺治雄：山梨県で分離された散発下痢症患者由来の *Salmonella* serovar Enteritidisの分離頻度と疫学マーカーの頻度。第81回日本感染症学会総会、京都市、2007年4月。
52)宇根有美、三部あすか、鈴木智、仁和岳史、加藤行男、川上和人、黒沢令子、泉谷秀昌、渡辺治雄：スズメ（*Passer montanus*）の集団死と*Salmonella* Typhimurium感染症。第13回日本野生動物医学会大会、盛岡市、2007年9月。
53)木股裕子、郡司明博、吉田信一郎、仲西寿男、池田律子、泉谷秀昌：*S.* Enteritidisの過去と現在。第28回日本食品微生物学会学術総会、東京、2007年9月。
54)三部あすか、宇根有美、鈴木智、仁和岳史、泉谷秀昌、渡辺治雄、加藤行男：本州におけるスズメ（*Passer montanus*）の *Salmonella* Typhimurium感染症の集団事例。第7回人と動物の共通感染症研究会学術集会、東京、2007年11月。
55)川畑大輔、塚原みゆき、山本雅枝、永野貞明、泉谷秀昌、大石毅：市販の抗血清に凝集を示さなかった *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* の一症例。第19回日本臨床微生物学会総会、東京、2008年1月。
56)戸田正枝，佐藤 宏，高野　愛，川端寛樹，渡邉治雄，宇根有美．ガーナから輸入されたボールパイソンの *Trypanosoma* cf. varani 感染．第145回日本獣医学会学術集会．2008年3月．神奈川.
57)川端寛樹，高野 愛，渡邉治雄．ライム病-近年の研究から分かってきたこと．第145回日本獣医学会学術集会．2008年3月．神奈川.

58)高野 愛，川端寛樹，渡邉治雄，藤田博己，宇根有美，五箇公一．爬虫類から見出された新規ボレリア～ボレリア-媒介節足動物間の共分岐進化に関する新見解～．第 145 回日本獣医学会学術集会．2008 年 3 月．神奈川.

59)川端寛樹，高野　愛，渡邉治雄．ライム病ボレリア形質転換技術の確立とその応用． 第 81 回日本細菌学会総会．2008 年 3 月.京都.

60)高野　愛，川端寛樹，藤田博己，渡邉治雄．爬虫類から見出された新規ボレリア：ボレリア-媒介節足動物間の共分岐進化に関する新見解．第 81 回日本細菌学会総会．2008 年 3 月.京都.

61)池辺忠義，阿戸学，川端寛樹，小林 和夫，渡辺治雄．劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株でみられる *csrS* 変異の病原性への影響．第 81 回日本細菌学会総会．2008 年 3 月.京都.

62)鶴見みや古、尾崎清明、藤田博己、川端寛樹、安藤秀二、高橋守.鳥類標識調査における外部寄生虫採取調査.-2006 年度調査結果および本年度経過報告-.日本鳥類標識協会全国大会．2007 年 12 月．東京

63)藤田博己，角坂照貴，高野愛，川端寛樹，本田俊郎，御供田睦代，及川陽三郎，山本正悟，高田伸弘．トカラ列島のマダニ類とツツガムシ．日本衛生動物学会西日本支部会．2007 年 10 月.大津

64)花岡 希，安藤秀二，坂田明子，川端寛樹，高野 愛，岸本寿男，倉根一郎．PCR 法を用いたリケッチア症病原体検出法の改良 ―コンタミネーション防止のためのポジティブコントロール作製―．リケッチア・クラミジア研究会．2007 年 10 月.東京

65)藤田博己，安藤秀二，川端寛樹．福島市の山林におけるタネガタマダニの紅斑熱リケッチア保有状況調査．日本衛生動物学会北日本支部会．2007 年 9 月.仙台

66)藤田博己，高田伸弘，川端寛樹，田原研司，高野　愛，山内健生，川森文彦．東北地方中部のマダニ相とマダニ保有リケッチア検査．日本衛生動物学会北日本支部会．2007 年 9 月.仙台

67)安藤秀二，坂田明子，高野　愛，川端寛樹，藤田博己，宇根有美，五箇公一，岸本壽男．爬虫類寄生ダニ類からのリケッチアの検出．日本衛生動物学会北日本支部会．2007 年 9 月.仙台

68)川端寛樹，齋藤幹，新田芳樹，角坂照貴，藤田博己，御供田睦代，本田俊郎，河村好章，江崎孝行，高田伸弘，高野　愛，渡邉治雄．マダニ媒介性の *Borrelia valaisiana* 近縁種(*Candidatus* ‘Borrelia orientalis’)感染が疑われたライム病の１症例と，*B. valaisiana* 近縁種の国内分布，病原性に関する解析．日本衛生動物学会北日本支部会．2007 年 9 月.仙台

69)高野 愛，安藤秀二，坂田明子，鶴見みや古，仲村 昇，佐藤文男，高橋 守，岸本寿男，倉根一郎，渡邉治雄，藤田博己，川端寛樹．*Carios* 属ダニの病原体ベクターとしてのリスク評価．日本衛生動物学会北日本支部会．2007 年 9 月.仙台

70)高橋英之：病原性ナイセリア属菌に関して、平成 19 年度希少感染症・細菌・初級コース（国立保健医療科学院主催)、東京、2007 年 11 月。

71) 高橋英之、渡邉治雄：髄膜炎菌 LOS の phosphoethanolamine 修飾と宿主細胞接着性の相関．第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月。

72)松浦基博、高橋英之、渡邉治雄、川原一芳、平井義一：ペスト菌に対するヒトの自然免疫応答：生育温度の異なる死菌体を用いた検討、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月。

73)常彬、和田昭仁、池辺忠義、大西真、渡辺治雄．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、大阪、2007.

74)佐藤俊、阿部諭史、関根聡子、渡邉香奈、斎藤純平、石田卓、棟方充、塚田泰彦、鈴木栄子、池辺忠義．背部痛と喀血で発症した劇症型溶血性連

鎖球菌感染症の一例. 第 181 回日本内科学会東北地方会、宮城、2007
75)森田昌知、大西　真、荒川英二、G.B. Nair、M. Alam、泉谷秀昌、渡邉治雄：コレラ毒素 B サブユニット遺伝子の多型検出系の構築、第 41 回腸炎ビブリオシンポジウム、2007 年 11 月、神戸。
76)森田昌知、泉谷秀昌、渡邉治雄、相楽裕子、大西健児：2007 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４7 回感染性腸炎研究会総会、2008 年 3 月、東京
77)徳永暁彦、大倉正稔、大澤　朗、森田昌知、荒川英二、渡邉治雄：RDA 法を用いた *Vibrio cholerae* の可変遺伝子・DNA 領域の網羅的探索、第 81 回日本細菌学会総会、2008 年 3 月、京都
78)大倉正稔、大澤　朗、徳永暁彦、森田昌知、荒川英二、渡邉治雄：新興型腸炎ビブリオ O3:K6 株と O4:K68 株の O および K 抗原の合成に関わる遺伝子群の比較解析、第 81 回日本細菌学会総会、2008 年 3 月、京都

5．細 菌 第 二 部

部 長　荒 川　宜 親

概　要

当部は、抗生物質医薬品の標準品の作製や一斉監視指導収去検査などの品質管理業務及び各種の薬剤耐性菌などに関する研究（第一室)、ヘモフィルス b 型ワクチン（Hib ワクチン）の品質管理と生物学的製剤の無菌試験及びマイコプラズマ、インフルエンザ菌などに関する研究（第二室)、破傷風、ジフテリアの予防のためのトキソイドワクチンや各種の抗血清の品質管理及び破傷風菌、ジフテリア毒素産生菌などに関する研究（第三室)、BCG 製剤と精製ツベルクリンの品質管理及び結核菌を含むヒト病原性抗酸菌(らい菌を除く)に関する研究(第四室)、百日咳ワクチンの品質管理、エンドトキシン試験、特殊毒性試験、生物統計及び百日咳菌に関する研究（第五室）を担当する５つの室で構成されている。主として呼吸器系の感染症を引き起こす病原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、薬剤耐性菌などによる医療施設関連感染症の発生要因等に関して､分子疫学的側面からの解析研究、調査等を行なった。更に、細菌ワクチンなどの生物学的製剤の品質管理に不可欠な各種の標準品等の製造と品質管理に従事するとともに部の基盤的研究として、ワクチン等の品質管理技術の向上を目指し、試験・検査法の改良等種々の検討や研究が進められた。

部全体としては、現状及び将来における細菌感染症対策を見据え、ヘリコバクター・ピロリやクロストリジウム・ディフィシル、バルトネラ属菌などの病原細菌に関する研究として、病原性の解明、診断技術の向上、臨床分離菌の遺伝子型別などのレファレンス業務や研究を進めている。

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（研究）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各種の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担当室毎に後述するが､本年度の代表的な成果などを以下に示す。

１．厚生労働省の院内感染対策サーベイランス事業の運用と改善に関する支援

２．B 群連鎖球菌におけるペニシリン低感受性機構の解明と簡易識別法の開発

３．PCR-PHFA 法によるマクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* の迅速検出法の確立

４．*Clostridium difficile* 関連疾患に関する研究

５．*Corynebacterium ulcerans* の分子生物学的性状およびリボタイピング等解析

６．糖鎖と細菌毒素の結合を活用した毒素の検出法および除去方法等に関する研究

７．抗酸菌に特異的な細胞壁構造に関与する分子の構造と機能に関する研究

８．百日咳流行株における遺伝子型別と病原因子に関する研究

９．*Burkholderia pseudomallei* 疑い臨床分離株の細菌学的解析

10．エンドトキシンの検査法の向上に関する研究

以上の研究は、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、文部科学研究費補助金などに様々な研究費補助金により実施された。

佐々木次雄､堀内善信の両室長が平成 20 年 3 月末を以って定年退官された。客員研究員として石田説而、協力研究員として黒川博史、八木哲也、土井洋平、長沢光章、長野則之、川村久美子、小島 禎、瀬戸幸路、坂本 崇、玉井清子、吹貝姿子、林 淑朗、岩島康仁、村端真由美、鈴木弘倫、三浦英靖、山田耕二、本間 操、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、研究生として山田友紀、畑中公基、長野由起子、吉田理紗、井田明里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、宮永由弥子、南條友

子、粕谷裕子、吉村由美子、増田まり子、久保田（松岡）眞由美、長岡芳昭、岡宮洋子、本郷有美子、鯵坂裕美、藤田美智子、片岡紀代（村山庁舎業務管理課所属）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．薬剤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

国内 67 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（1578 件）、毒素遺伝子検査（83 件）、菌株タイピング解析（507 件）、菌種同定（1 件）、*Clostridium difficile* 分離同定（42 件）、*C. difficile* 毒素検出（42 件）、その他（30 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、*Enterococcus* spp.（54 株）、*Staphylococcus* spp.（308 株）、*Streptococcus* spp.（392 株）、*Clostridium* spp.（93 株）、*Propionibacterium acnes*（1 株）、*Pseudomonas* spp.（161 株）、*Escherichia coli*（179 株）、*Enterobacter* spp.（10 株）、*Shigella sonnei*（1 株）、*Salmonella* sp.（1 件）、*Serratia marcescens*（12 株）、*Citrobacter* spp.（6 株）、*Proteus mirabilis*（18 株）、*Providencia* spp.（4 株）、*Klebsiella* spp.（21 株）、*Acinetobacter* spp.（35 株）、*Achromobacter xylosoxidans*（9 株）、*Bacteroides* spp.（5 株）、グラム陰性桿菌（1 株）、その他（44 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。［鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、加藤はる、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-35 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

臨床分離株より、メタロ-β-ラクタマーゼと ESBL を同時に産生する肺炎桿菌を分離し、そのβ-ラクタマーゼ遺伝子と周辺構造の解析を試みた。この株は第三世代セファロスポリンに高度耐性を示した。β-ラクタマーゼのシークエンス解析では、新型の CTX-M-35 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 1 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 *aac(6')-Ib* 遺伝子も同時に保有していた。更に、CTX-M-35 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-35 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-14 型β-ラクタマーゼ遺伝子と SHV-12 型β-ラクタマーゼ遺伝子同時保有 *Enterobacter cloacae* のβ-ラクタマーゼ解析とプラスミド解析

急性骨髄性白血病で、骨髄移植後の加療中に敗血症をきたした症例の血液培養から、第３世代セファロスポリン耐性 *E. cloacae* を検出した。分離された *E. cloacae* は、extended-spectrum β-lactamases（ESBLs）産生が疑われた。遺伝子解析により SHV-12 型と CTX-M-14 型の２つの ESBL 産生遺伝子を保有していることが確定した。本報告は国内における SHV-12 型／CTX-M-14 型 ESBL 産生 *E. cloacae* による敗血症例の最初の報告である。アジア地域でも同様の ESBL 産生菌が報告されており、今後、国内でもこの種の耐性菌の増加が懸念される。染色体性 AmpC 過剰産生 *E. cloacae* が複数のβ-ラクタマーゼを産生すると、抗菌薬の選択が困難になるため、注意が必要である。［柴田尚宏、本間操、荒川宜親］

４．アミノグリコシド高度耐性を示す *Klebsiella pneumoniae* の耐性機序の解析

ブラジルの医療機関から分離された多剤耐性 *K. pneumoniae* のアミノグリコシド耐性機序を調べ、16S rRNA メチラーゼの一種である *rmtD* を保有していることを明らかにした。［山根一和、土井洋平、David L. Paterson（Pittsburgh 大学感染症科）］

５．血液培養から分離されたフルオロキノロン耐性大腸菌の臨床

フルオロキノロン耐性大腸菌による血流感染を発症した患者について、フルオロキノロン感性大腸菌による血流感染を発症した患者と比較したところ、発症前１か月以内のフルオロキノロンの使用、ナーシングホームへの入院歴、肝疾患が独立した危険因子であることが明らかになった。［山根一和、土井洋平、David L. Paterson（Pittsburgh 大学感染症科）］

６．薬剤耐性菌による院内感染事例の疫学的・分子疫学的解析

医療機関において発生した薬剤耐性菌（バンコマイシン耐性腸球菌、多剤耐性緑膿菌、ESBL 産生大腸菌）による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、疫学情報とあわせて感染源感染経路についての検討を行った。[鈴木里和、山根一和、柴田尚宏]

７．ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の解析

1995 年から 2005 年に国内で分離された 14 株のペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌がペニシリンのみならず、オキサシリン、セフチゾキシムにも低感受性である事を見出した。PFGE 解析により 2 株を除いて遺伝的に関連性の少ないことを見いだした。更に、共通して PBP2X に V405A 及び／または Q557E の変異を持つ事を明らかにし、これらの変異がペニシリン低感受性に寄与することを証明した。[木村幸司、鈴木里和、荒川宜親]

８．ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の検出法の開発

ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌を 3 種の Kirby-Dauer disk で検出する方法を開発した。本方法は、高価な機器を必要とせず、汎用性が高いと考えられる。また、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の PBP2X の変異を検出する PCR 法を開発した。[木村幸司、荒川宜親]

９．16S rRNA methyltransferase, NpmA の結晶構造解析

高度アミノグリコシド耐性を付与する 16S rRNA methyltransferase, NpmA の結晶構造解析を行った。C 末にヒスチジンタグを付加したリコンビナントタンパクを大腸菌で発現させ、ニッケルカラム及びゲルろ過カラムにて精製を行った。精製したリコンビナントタンパクを用いて結晶化を行い、1 週間のインキュベーションで 0.2×0.2×0.1 mm の結晶を得た。PF にて測定を行った結果、2.0Å分解能の X 線回折像が得られた。[和知野純一、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

10．汎アミノ配糖体高度耐性菌の迅速検出系の開発

汎アミノ配糖体耐性遺伝子である 16S rRNA メチレース遺伝子（*rmtA*、*rmtB*、*armA*）を検出するための LAMP プライマーを設計し、その感度と特異性を評価した。構築した LAMP 検出系はいずれも１時間以内に 100 コピーの遺伝子を検出し、さらに菌種に関わらず標的遺伝子を検出できることが判明した。本法により、簡便かつ迅速な汎アミノ配糖体高度耐性菌の検出が可能となり、臨床現場への応用が期待される。[長沢光章(東北大学病院)、蒲地一成、和知野純一、荒川宜親]

Ⅱ．*Clostridium difficile* 関連疾患等に関する研究

１．*Clostridium difficile* における *slpA* 遺伝子のシークエンス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 *slpA* 遺伝子のシークエンスによるタイピング法を確立し、複数の医療施設において採取された臨床検体を用いて、糞便検体から直接抽出した DNA におけるタイピング（ダイレクト・タイピング）への応用を行った。[加藤はる、横山敏之（久美愛病院)、加藤秀章・泉田さゆり（豊川市民病院)、赤羽貴行（安曇野赤十字病院)、伊藤陽一郎（岐阜赤十字病院)]

２．*Clostridium difficile* の院内伝播に関する検討

日本の医療施設において、*C. difficile* 感染症の発症率を求め、どのような菌株が流行しているのかを調べる目的で、３施設において共同研究の準備を進め、一部解析を開始した。[加藤はる・吉村由美子・甲斐久美子・瀧世志江、中村敦・加藤秀章・岩島康仁・脇本幸夫・柴山順子・矢野久子・近藤優子（名古屋市立大学)、赤羽貴行・床尾万寿雄・高橋一豊・小林厚幸・山田揚子・高橋郁美（安曇野赤十字病院)、酒井 力・辻村秀樹・里村秀行・前田佐知子（千葉県がんセンター)]

３．解析を依頼された検体あるいは *Clostridium difficile* 菌株の検討

重症例からの検体や菌株、施設内感染が疑われた事例、binary toxin 遺伝子陽性菌株の検討を行った。[加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江]

４．*Clostridium perfringens* 臨床分離株の解析

敗血症症例の血液から分離された *C. perfringens* の解析を依頼され、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．PCR-PHFA 法によるマクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* の迅速検出法の確立

マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の迅速検出法として、PCR-PHFA 法による迅速検出法を確立した。日本で分離された 87 株の変異は 23SrRNA 遺伝子の A2063G（76 株)、A2063C（1 株)、A2064G（10 株）と報告されていることから A2063G 及び A2064G 変異の迅速検出系を検討した。変異領域の nested-PCR 陽性検体について、ビオチン標識と DNP （dinitrophenyl）標識プライマーを用いて PCR を行い、予め非標識プライマーで増幅した同領域の PCR 産物で 1/50 に希釈し、熱変性後、アニーリングさせる。これをストレプトアビジン固定ウエルに吸着させ、酵素

標識抗 DNP 抗体を用いて発色反応を行ったところ、再現性良く、また高感度に A2063G 及び A2064G 変異を検出できた。本法は、簡便法として臨床現場でも適用可能であることが示唆された。［佐々木次雄、久保田（松岡）眞由美、鈴木里和、佐々木裕子、荒川宜親］

２．マイコプラズマ感染における肺外病変の病態ならびに特定疾患との関連性についての解析

マイコプラズマ感染における肺外病変の病態ならびに特定疾患（抗リン脂質抗体症候群等）との関連性を調べる目的で、1）マイコプラズマ感染者における抗リン脂質抗体の解析、ならびに、2）マイコプラズマ感染関節炎モデルの作成を行なった。1 については、昨年度に加え、新たな１種類を含む２種類の抗リン脂質抗体価の上昇が示唆された。2 については、個体差はあるものの、複数回投与群において滑膜上皮細胞の多層化や、リンパ球集ぞくなどの関節リウマチで見られる所見が得られ、ヒトのリウマチ疾患の早期診断に有用とされる抗ガラクトース欠損 IgG 抗体価の一過性上昇が認められた。［佐々木裕子、山田耕二・三浦英靖・松田和洋（エムバイオテック）、網 康至・須崎百合子（動物管理室）、永田典代・原嶋綾子（感染病理部）、荒川宜親、佐々木次雄］

３．*Mycoplasma pneumoniae* の細胞構造に関する研究

M. pneumoniae の細胞微細構造を新しい技法で解析し、病原性の解明や治療診断に役立つ情報を得ることを目標としている。これまでの作業に引き続き蛍光タンパク質タグによる細胞内タンパク質の局在観察を進めると共に電顕による局在観察の検討も行った。細胞処理法、電顕画像平均化などの検討により高解像度の像が取得できた。また、ORF 産物の局在観察を免疫電顕法によって行った結果、Rod 構造の先端から P65、HMW3、HMW1、P24 の順でタンパク質が存在しているのを確認した。［見理剛、佐々木裕子、堀野敦子、宮田真人、中根大介（大阪市大院）、文部科学研究費補助金：特定領域・応用ゲノム］

４．*Mycoplasma pneumoniae* の変異株ライブラリーの作製

M. pneumoniae の病原性を理解する上で役立つ変異株を取得するため、我々が考案した *M. pneumoniae* のトランスポゾン Tn*4001* 挿入変異位置を簡便に決定する方法を用いて *M. pneumoniae* の変異株ライブラリーの構築を行っている。今年度も引き続き変異株コレクションの作製を継続した。今後は、効率的に目的の遺伝子の破壊株を取得する方法を併用し、さらに有用なライブラリーとすることを目指す。［堀野敦子、見理 剛、佐々木次雄］

５．臨床検体からの *Mycoplasma pneumoniae* の遺伝子学的検出法・分離法の検討

患者からの *M. pneumoniae* の菌体分離・遺伝子検査を適切かつ簡便に行うため、問題点の解決にむけて検討を行っている。次年度以降は実際の臨床検体を用いて検討を行っていく。［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］

Ⅳ．インフルエンザ菌／細菌性髄膜炎起因菌に関する研究

１．小児侵襲性感染症由来 *Haemophilus influenzae* の疫学的解析

小児 *H. influenzae* 侵襲性感染症からの分離菌について解析した。2007 年 6 月～2008 年 2 月に 6 県で分離された 34 株の生物型別、血清型別、薬剤感受性試験、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）解析を行った。血清型は 1 株（型別不能型）を除いてすべて b 型であり、生物型は 1 型が優勢であった。4 株（12 %）がβ-ラクタマーゼを産生し、その遺伝子型はすべて TEM-1 型であった。現在標準的に使用されているセフォタキシムとメロペネムに対して感受性カテゴリー内にはとどまるものの、MIC が高い菌株が少なくなかった。［新谷三春、加藤はる、佐々木裕子、久保田（松岡）眞由美、佐々木次雄、荒川宜親、宮村達男］

２．細菌性髄膜炎起因菌推定のための PCR primer の検出感度及び特異性の検討

細菌性髄膜炎を引き起こした患者由来髄液（CSF）、約 60 サンプルについて起因菌を推定するためにこれまでに報告されている PCR primer（*H. influenzae*、*S. pneumoniae*、*N. meningitidis*）を単独又はこれら３種類を混合したものについて検出感度及び特異性を検討した。更にこれら３種以外の起因菌についても感度良く検出できる系として、16S rRNA の 800F/1500R primer について検討したところ、これまでに報告されている *H. influenzae*、*S. pneumoniae*、*N. meningitidis* 検出用 primer とは同等以上の検出感度を示し、更に *Klebsiella* sp.等の検出も可能であった。現在、これらの結果と培養法成績及び臨床成績との比較検討中である。［久保田（松岡）眞由美、佐々木次雄］

Ⅴ．ジフテリア菌、破傷風菌及びボツリヌス菌等に関す

る研究

１．ジフテリア菌（*Corynebacterium diphtheriae*）C7(-)株に関する研究

ジフテリア菌（*C. diphtheriae*）C7(-)株が PAI（pathogenicity islands）のほとんどを欠失していることを前年度報告したが、本年度は、本菌株がヒト咽頭細胞 Detroit 562 に対する接着性やヒト赤血球に対する溶血性を示すことを見いだした。これらの性質は病原性と密接に関連すると考えられ、ジフテリア菌には PAI に支配されない病原因子が存在することが示唆された。［岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

２．カンボジアにおけるジフテリア疑患者の解析

ジフテリア疑患者の咽頭スワブ 30 検体を検査した結果、菌は分離されなかったが、PCR によりジフテリア毒素遺伝子は１検体陽性であった。今後、カンボジア国内の適当な実験室内診断実施機関に当該研究で実施している診断技術の移転を検討する。［小宮貴子、蒲地一成、岩城正昭、豊泉裕美、韓 賢子、高橋元秀、遠田耕平（EPI/WHO）、Nareth Y（カンボジア NIP）、厚生労働省国際医療協力研究委託費事業］

３．*Corynebacterium ulcerans* の細菌学的および分子生物学的性状解析

ヒトおよび動物から分離された *C. ulcerans* は、*C. diphtheriae* が産生する毒素とは異なるが、本菌に感染した動物由来菌とヒト患者由来菌は遺伝学的に類似していることを確認した。また、犬の調査結果、大阪府犬管理指導所の１匹の犬から毒素産生性 *C.ulcerans* が分離された。この地区獣医師会の協力で 218 頭の咽頭スワブ等を検査したが、菌の分離、PCR 試験は陰性であった。［小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀、勝川千尋・河原隆二・井上 清（大阪府公衛研）、瀬戸幸路・幸田知子・向本雅郁・小崎俊司（大阪府立大学）、厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業］

４．*Corynebacterium ulcerans* のリボタイピングによる解析

本邦においてヒトから初めて分離された *C. ulcerans* の２菌株についてリボタイピングによる解析を行なった。これら２菌株は同一のパターンを示したが、これは現在世界で *C. ulcerans* について報告されている９種類のパターンのいずれとも異なる可能性が示された。［岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

５．日本国内の土壌での破傷風菌（*Clostridium tetani*）分離

破傷風は *C. tetani* が産生する神経毒素により、強直性痙攣をひき起こす疾患である。その芽胞が土壌中に広く常在し、創傷部から体内に侵入・感染が起こる。破傷風菌の土壌中の国内分布については、最近の全国的な調査は無い。そこで、今回 21 都道府県から土壌を採取し、その約半数について菌の分布状況を調べた中間報告を行った。土壌 100 検体について、11 カ所から破傷風菌が分離された。［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀］

６．糖鎖を用いた破傷風毒素除去法および検出法の開発研究

糖鎖を用いた破傷風毒素除去法および検出法を開発するための基礎研究として、破傷風毒素と糖鎖との相互作用を解析している。タカラバイオ社製の糖鎖アレイを用いたスクリーニングで、破傷風毒素と相互作用することが知られている GT1b に加えて GM1, GD1a への結合が認められた。これらの結合はビアコアを用いた表面プラズモン共鳴による解析でも確認された。しかし後二者は極めて弱い結合であった。［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］

７．ボツリヌス A 型 M（12S）毒素と糖鎖との結合に関する研究

前年度に精製したボツリヌス A 型 M（12S）毒素（神経毒素とアクセサリー蛋白 NTNH との会合体）と糖鎖との結合について検討した。タカラ糖鎖アレイを用いたスクリーニングおよびビアコアによる解析では、糖鎖アレイに搭載される 24 種の糖鎖のいずれとの結合も認められなかった。A 型神経毒素は、糖鎖アレイの 24 種の糖鎖のいくつかと結合することが知られているが、NTNH との会合によりその結合能が失われる可能性が考えられた。［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］

８．細菌毒素の検出系開発に関する研究

Staphylococcus aureus Enterotoxin B（SEB）と *C. septicum* α 毒素（AT）の早期検出系としてイムノクロマト法を開発するための基礎データとなるサンドイッチ ELISA 検出系における試薬の条件検討で得た成績を基に試作品をキット化した。また、過去に作製したボツリヌス毒素検出用ラッテクス凝集反応キットを用いて、乳児ボツリヌス患者便および不法輸入ボツリヌス毒素医薬品の検査で

早期かつ簡易に陽性結果が得られたため、追加製造をして国内レファレンスセンターに配布した。[高橋元秀、向本雅郁（大阪府立大)、杉山純一（デンカ生研)、厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業]

Ⅵ. 結核等抗酸菌に関する研究

１．非結核性抗酸菌の薬剤耐性メカニズムの解析

非結核性抗酸菌は様々な薬剤に対して自然耐性である。RI 標識した Clarithromycin を用いた実験で、非結核性抗酸菌は薬剤を菌体外に排出する活性を持つ事を明らかにした。[朴 貞玉、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

２．非結核性抗酸菌の新規 Insertion Sequence の解析

臨床より分離された *Mycobacterium avium* において、新規の Insertion sequence（IS）を見出した。この IS の両端に存在する direct repeat は 161bp と、通常の IS のものに比べ非常に長いことが分かった。またこの IS は継代により変化が著しく、mobility が高いことが分かった。[朴 貞玉、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

３．抗酸菌の迅速な新規鑑別法の開発

２種類のプライマーセットを用いて PCR 反応を行うことにより、既存のキットよりも多くの種類の抗酸菌を迅速かつ簡便に同定する新しい方法を開発した。臨床分離株を含めた 26 菌種 115 株の抗酸菌を用いた解析結果より、本鑑別法の感度、並びに特異度はほぼ 100%であることが明らかとなった。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

４．抗酸菌に特異的な細胞壁構造に関与している新規遺伝子・タンパク質の同定

抗酸菌の細胞壁構造の合成に関与する新規遺伝子・タンパク質の同定を目的として、ゲノムの遺伝子を破壊した株を作成し、野生株と細胞壁構造等の比較を行っている。その結果、野生株と比較してコロニー形態、並びに凝集度合いが異なっている破壊株を取得し、抗酸菌の細胞壁構造に関与していると考えられる新規遺伝子を同定した。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

５．結核菌由来タンパク質の高次構造解析

菌体内においてエネルギー代謝に関与している酵素である Polyphosphate kinase、並びに細胞壁構造に関与しているタンパク質である Propionyl-CoA carboxylase と Acyl-CoA synthetase について、大腸菌を宿主とした大量発現株の作成と精製を行い、結晶化条件の検討と X 線回折データの収集を試みた。X 線回折データの収集は、物質構造科学研究所において放射光共同利用実験として行った。[森茂太郎、和知野純一、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

６．モルモット臓器由来 BCG 増殖抑制因子に関する研究

モルモット脾臓ホモジネート中に BCG の増殖を抑制する活性が存在することを明らかにした。本活性は BCG 以外の抗酸菌（*M. phley* および *M. avium*）には無効であり、ホモジネートの不溶性画分に活性があった。[持田恵子、荒川宜親]

Ⅶ. 百日咳菌に関する研究

１．百日咳流行株の新規タイピング法の確立と応用

百日咳菌の新規タイピング法として臨床検体からの multilocus sequence typing（MLST）の確立を試みた。MLST は３種の多様性病原遺伝子（*ptxS1, prn, fim3*）を標的とし、その allele タイプの組み合わせから MLST を決定した。LAMP 陽性の患者検体を用いた場合、小児検体の 64%、成人・青年検体の 12%で MLST が決定され、本法が臨床検体に適用可能であることが示された。また、2007 年の百日咳集団感染事例に応用したところ、事例間で流行株の MLST が異なることが判明した。[蒲地一成、岡田賢司（福岡病院)、韓 賢子、鰺坂裕美]

２．自己凝集能を持つ百日咳流行株の細菌学的解析

近年、わが国の臨床現場からは自己凝集能を持つ百日咳菌が分離されているが、その病原性などは不明である。本研究では自己凝集株の細菌学的知見を得ることを目的に、遺伝子型解析と自己凝集に関連するタンパク質の検索を行った。その結果、自己凝集株（4 株）は高い遺伝的相同性（96～100%）を示し、特定の multilocus sequence type（MLST-4）に属することが判明した。さらに、自己凝集関連タンパク質として２種類のタンパク質（170 kDa protein, 40 kDa protein）を同定した。[蒲地一成、韓 賢子、鰺坂裕美、荒川宜親]

３．百日咳流行株におけるタイプⅢエフェクターBopC の発現解析

わが国の百日咳流行株はワクチン型と欧米型に分類され、欧米型にはタイプ III エフェクターBopC の特異的な発現が認められる。この特異発現の差異を明らかにするため、両菌株の遺伝子解析を実施した。その結果、ワクチン型の BopC 遺伝子上流域に IS*481* の挿入が確認され、

その挿入位置と方向性はすべて一致していた。なお、欧米型に IS*481* の挿入は認められなかった。このことから、ワクチン型と欧米型における BopC の発現差異は、BopC プロモーターへの IS*481* 挿入が原因と考えられた。［韓賢子、蒲地一成、桑江朝臣・阿部章夫（北里生命研）、荒川宜親］

４．カンボジアにおける百日咳流行と流行株の解析

2007 年度にカンボジアで発生した百日咳に対し、実験室診断ならびに流行株の解析を実施した。2006 年の発生状況と比較したところ、2007 年度では 3〜4 歳児の患者割合が増加し、さらにワクチン未接種と既接種者（３回接種）の LAMP 陽性率が有意に上昇していることが判明した。一方、2007 年度分離株（7 株）のエリスロマイシン感受性と遺伝子型を解析した結果、2004〜2006 年分離株（11 株）と大きな差異を認めなかった。［蒲地一成、鯵坂裕美、韓 賢子、遠田耕平（EPI/WHO）、堀内善信、荒川宜親、高橋元秀］

Ⅷ．その他の病原細菌に関する研究

１．*Helicobacter pylori*のγ-glutamyl transpeptidaseの構造解析

*H. pylori*のγ-glutamyl transpeptidaseについて大腸菌を用いて大量精製し、結晶化した。それについてX線回折データを収集した。X線回折データの収集は、物質構造科学研究所において放射光共同利用実験として行った。［柴山恵吾、森茂太郎、和知野純一、荒川宜親］

２．*Burkholderia pseudomallei* 疑い臨床分離株の細菌学的解析

類鼻疽が疑われた患者からの分離菌の同定を行った。この菌はグラム陰性短桿菌であり、チョコレート寒天培地上でのコロニー形成に一週間を要した。しかし、*B. pseudomallei* 選択培地には増殖しなかった。コロニーは微小で、一晩で特徴的なコロニーを形成する *B. pseudomallei* とは明らかに異なる形態を示した。16s rRNA シークエンシングによる解析を行った結果、この菌は *Burkholderia* sp. 699.68 に一致した。この菌は *Rhizopus* の共生菌として報告されており、病院に問い合わせたところ、患者からカビが分離された。シークエンシングの結果、このカビは *Burkholderia* sp. 699.68 と共生する *Rhizopus* であり、今回の菌は *Burkholderia* sp. 699.68 と同定した。［堀野敦子、山根一和、荒川宜親］

Ⅸ．エンドトキシンに関する研究

１．内毒素の *in vitro* 生物活性測定法の応用

昨年に引き続きペプチドグリカンやβグルカン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、市販のペプチドグリカンやβグルカンについて、ヒトモノサイト由来 28SC 細胞おける IL-6 産生誘導を用いて評価した。その結果、両方とも用量依存的な IL-6 産生誘導能があることが明らかとなった。［山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、堀内善信］

２．血液製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

血液製剤（21 種）に対して反応干渉因子試験を実施した結果、本研究で試験した製剤（アンチトロンビン製剤を除く）は、カイネティック比濁法で 2〜32 倍以上の希釈、カイネティック比色法では 4〜8 倍以上の希釈により、反応干渉作用を受けることなく製剤中に添加したエンドトキシン量の平行線定量法による算出が可能であった。一方、アンチトロンビン製剤は強い反応阻害作用を示し、希釈による反応干渉の除去にはかなりの倍数の希釈が必要であり感度の点から本試験法の適用は困難と考えられた。［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．血液製剤へのエンドトキシン試験適用に関する研究

昨年に引き続いて血液製剤について、エンドトキシンとの共同作用をヒトモノサイト由来 28SC 細胞おける IL-6 産生誘導を用いて評価した。その結果、人ハプトグロビン製剤、乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ製剤及び乾燥濃縮人プロテインＣ製剤で用量依存的なエンドトキシン活性の増強現象が見られた。この現象は、複数製造所、複数ロットで確認され、製剤特有の現象であることが示唆された。［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］

４．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、その応用を検討している。このペプチドの 12 アミノ酸の構成を変化させてより強いエンドトキシン吸着活性を示す物質を検索した。その結果、アルギニンを構成アミノ酸の中に加えることによってより強い吸着活性を得ることが明らかになった。［山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、鈴木政嗣・松本めぐみ（ペプタイドドア）、丹羽 允、堀内善信］

５．LPS 結合ペプチドのエンドトキシン試験法への応用に関する研究

強い抑制作用のためエンドトキシン試験法の適用が困難と考えられたアンチトロンビンⅢ（AT-Ⅲ）に対して、ファージディスプレイ法で単離した強い LPS 親和性を示すがエンドトキシン活性を中和しない 12 アミノ酸のペプチドを固相化したビーズを用いてエンドトキシン試験への応用の可能性を検討した。その結果、LPS 結合ペプチド固相化ビーズは AT-Ⅲ中のエンドトキシンをほぼ 100%吸着し、洗浄の後直接 LAL 試薬で検出、定量出来ることがわかった。［堀内善信、山本明彦、落合雅樹、鈴木政嗣・松本めぐみ（ペプタイドドア）］

６．エンドトキシン試験における反応干渉因子に関する研究

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。特異的エンドトキシン試薬として使用されているカイネティック-QCL（第一化学薬品）を用いて、人血清アルブミンと加熱人血漿たんぱくのエンドトキシン量を予備的に測定した結果、これらの製剤では添加回収率が 50%程度となる検体があった。これらから製剤により試験法選択の際には感度だけでなく添加回収率などに関しても充分な検討が必要である。［福田 靖、堀内善信］

Ⅹ．生物学的製剤に関する研究

１．精製百日せきワクチン力価試験用国際標準品候補品標準化の WHO 国際共同研究

精製百日せきワクチン力価試験用標準品候補品（JNIH-3）の標準化および国際標準品としての確立を目的とした共同研究が実施された。本共同研究において、力価はマウス脳内攻撃法により評価された。その結果、精製百日せきワクチンの力価は全菌体ワクチン標準品に対する相対力価として評価するより、JNIH-3 に対して相対力価を算出することで、施設間差あるいはマウスの系統差による影響を受けにくく、JNIH-3 が精製百日せきワクチンの力価試験用標準品としてより適していることが明らかとなり、JNIH-3 を 34 IU/ampoule の国際標準品として確立することを推奨することとなった。［堀内善信、落合雅樹、蒲地一成、福田 靖、豊泉裕美］

２．ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）に対するラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす DTaP の影響

ヒトにおいてヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）（以下 PRP-TT と略）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おり、最近ラットにおいても同様の現象が示された。そこで昨年度に引き続き PRP-TT と、国内５社及び国外２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。0, 4, 6 週に採血し、血清抗 PRP-IgG を ELISA により測定した。A 社製 DTaP において混合接種群が抗体応答低下傾向を示した他は、いずれの DTaP においても混合接種群、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 抗体価に顕著な差を示さなかった。さらに再現性について検討を続けている。［新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、久保田（松岡）眞由美、長岡芳昭、増田まり子、佐々木次雄、荒川宜親］

３．ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）中の破傷風トキソイド抗原のモルモットの免疫応答

欧州で市販されている DTaP-IPV-Hib ワクチン中の各ワクチン成分の破傷風トキソイドの力価をモルモット法で測定・比較した。その結果、①キャリア蛋白として破傷風トキソイドを含む Hib は単独で国内 DTaP ワクチンと同様な力価を有すること、②欧州産 DTaP-IPV に Hib を混合した場合は、混合前の DTaP-IPV の力価の 6.68 倍に上昇すること、③国産 DTaP に Hib を混合した場合は、5.93 倍の力価の増強が確認された。［福田 靖、岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

４．ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）中の破傷風トキソイド抗原によるマウスとモルモットの免疫応答の比較

国産 DTaP の破傷風トキソイド力価を１として欧州産 Hib 単独の相対力価と比較するとマウスでは 9.89 倍であり、モルモットでは 0.813 倍であった。さらに、欧州産 DTaP-IPV と Hib を混合する事により、マウスでは 57.4 倍上昇し、モルモットは 6.68 倍であった。以上の結果から、Hib による破傷風トキソイド力価の影響はマウスよりもモルモットの方が小さい事が明らかとなった。［福田靖、岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

５．不活化ポリオワクチン標準品の安定性に関する検討

不活化ポリオワクチンの開発および品質管理にとって、力価試験等のための標準品は重要である。これまでに参

照品として製造された#04C とその後継ロットの#05J の安定性をラット免疫原性試験により確認した結果、どちらも１年半以上力価の顕著な変動は認められなかった。しかし、ラット免疫原性試験の精度が安定性評価に十分でない可能性があることから、さらに D 抗原 ELISA による安定性評価を行った。その結果、ラット免疫原性試験の力価に影響が見られるほどの低下ではないにしても、D 抗原 ELISA では凍結保存した OPV に比べて多少安定性が劣る可能性が否定できなかった。［堀内善信、武田直和・白土東子（ウイルス第二部）、高橋元秀、安部忍・宮沢美和子（ポリオ研）］

６．ウマ抗毒素製剤の製造効率化の検討

ウマ抗毒素製剤の製造効率化のために免疫方法を検討した結果、従来の追加免疫は毒素を用いるよりもトキソイドを用いた方が高力価の血清が得られた。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。［高橋元秀、大隈邦夫（化血研）、黒澤良和（藤田保健衛生大）、向本雅郁（大阪府立大）、千葉 丈（東京理科大）、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］

XI．抗生物質製剤に関する研究

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。今年度も「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「微生物管理実務と最新試験法」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、鈴木里和、加藤はる、山根一和、柴田尚宏、粕谷裕子］

２．抗生物質の微生物学的力価試験法の比濁法に関する検討

日本薬局方の医薬品各条のグラミシジンにおける定量法（力価試験法）の比濁法について、利便性を考えて試験管に代えてマイクロプレートが使用できるかを検討した。その結果、マイクロプレートを使用した場合には菌液及び試料溶液等が極微量になるために、測定データのバラツキが非常に大きく正確に測定できないことが判明し、マイクロプレートに代替えすることは不可能であった。［鈴木里和、山根一和、南條友子、近田俊文、柴田尚宏、粕谷裕子］

レファレンス業務

Ⅰ．薬剤耐性菌関係

１．バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）検査のためのコントロール菌株及び標準作業手順書（SOP）の提供

地方衛生研究所等の遺伝子検査等に協力するために、VRE の耐性遺伝子検出のコントロール菌株（DNA 抽出物を含む）及び SOP を、地方衛生研究所等に提供した。［近田俊文、鈴木里和、加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親］

２．薬剤耐性菌の耐性遺伝子検査のためのコントロール菌株及び検査データ資料の提供

地方衛生研究所及び医療機関等の基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生菌の遺伝子検査等に協力するために、それらのコントロール菌株を検査データ資料とともに提供した。［近田俊文、柴田尚宏、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、山根一和、鈴木里和、荒川宜親］

３．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依頼を受け、薬剤耐性菌の PCR 法による、β-ラクタマーゼ遺伝子解析を行った。解析結果は、主に IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌や CTX-M 型-ラクタマーゼ産生菌であった。一方、クラス C 型β-ラクタマーゼ産生菌や VIM-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌など稀ではあるが、臨床分離株から確認された。［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．ジフテリア・百日咳・ボツリヌス関係

１．ジフテリア百日咳ボツリヌスレファレンスセンター業務

第 28 回衛生微生物技術協議会研究会（岡山市）において、ジフテリア百日咳ボツリヌスレファレンスセンター会議（関連会議を含む）に出席し、３疾患についての平成 19 年度の活動内容および平成 20 年度の活動予定を報告した（平成 19 年 7 月）。［見理 剛、岩城正昭、山本明彦、蒲地一成、高橋元秀］

２．百日咳 LAMP 診断キットの配布

百日咳実験室診断の強化・拡充を目的に、百日咳レファレンスセンター（３施設）と高知大学医学部に百日咳 LAMP 診断キットの配布を行った。［蒲地一成、鯵坂裕美］

サーベイランス業務

Ⅰ．院内感染対策関係

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（JANIS）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た。本年度は、2007 年 7 月にシステムの大幅な更新とともに運営体制を整備し、参加医療機関の新規募集を行った。また、サーベイランスデータの精度管理に必要な要因に関しての検討を行った。［鈴木里和、山根一和、宮永由弥子、瀧世志江、荒川宜親］

２．埼玉県内の医療機関におけるバンコマイシン耐性腸球菌の保菌状況調査

埼玉県下の 13 医療機関において、入院患者を対象にバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）の保菌調査を行った。対象となった患者は 1,318 人で調査期間中に入院していた患者の 36.9%であった。VRE 保菌患者は 14 名で３医療機関に入院していた。バンコマイシン耐性遺伝子はすべての菌株で *vanA* 陽性であったが、表現型は VanB 型（バンコマイシン耐性、テイコプラニン感性）であった。PFGE による解析の結果、２医療機関で分離された VRE は遺伝学的に近縁の株であることが明らかとなった。［山根一和、鈴木里和、荒川宜親］

３．バンコマイシン耐性腸球菌の効率的なスクリーニング方法に関する研究

VRE 選択培地へ検体を直接接種する方法と増菌培養後に VRE 選択培地に接種する方法とを行ない、検体採取方法（採便と直腸スワブ３回）と合わせて比較検討した。増菌培養による検出率の上昇は便、直腸スワブの両検体いずれにおいても認められなかった。有意差は認めなかったものの直腸スワブ検体の方が便検体よりも検出率が高かった。これらの結果から入院患者における VRE の保菌調査をする際には、対象者から直腸スワブを３回採取し、寒天平板 VRE 選択培地に直接検体を塗布し培養する方法が検出率も高く効率的であると考えられた。［鈴木里和、山根一和、荒川宜親］

４．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

190 床の中規模の協力医療機関の細菌検査室のデータを解析した情報を還元するとともに、医療スタッフのより能動的な感染対策への関与を促す体制について検討を行った。結果として、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の分離率が有意に減少し、中小規模病院に対しての感染対策のあり方に関しての知見が得られた。［鈴木里和、山根一和］

Ⅱ．BCG 製剤関係

１．BCG 製剤による副反応報告

日本における BCG ワクチン接種と小児糖尿病との関連についての論文が外国の研究者より発表されたが、データの解釈で明らかな誤りが認められ信憑性に欠けると結論づけ、その旨感染症情報検討委員会に報告した。しかし BCG 接種による各種副反応については今後も注意深く見守る予定である。［持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、柴山恵吾、荒川宜親］

Ⅲ．百日咳関係

１．百日咳菌の同定検査

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、福田 靖］

２．百日咳の病原体診断

医療機関（10 施設）からの依頼を受けて、百日咳患者の病原体診断を 91 件実施した。［鯵坂裕美、蒲地一成、福田 靖］

品質管理に関する業務

Ⅰ．生物学的製剤の品質管理に関する業務研究

１．乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）の多糖含量試験のための設備・機器の整備並びに条件検討

2007 年 1 月下旬に承認された本ワクチンの国家検定項目である多糖含量試験を担当するため、プログラム機能付きブロックヒーター、スクラバー付き耐酸・耐熱・耐蝕ドラフトチャンバーなど、必要な機器、設備及び器材を新たに整備した。これらを用いて、検体を完全に無機化するための条件を検討し、無機リンとしての呈色反応により多糖を定量する方法を確立した。［新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、増田まり子、佐々木次雄］

２．乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド

結合体）国家検定のための標準作業手順書（SOP）の作成

本ワクチンの国家検定開始に備えて、製剤担当室並びに多糖含量試験の試験担当室として、製剤担当室業務、多糖含量試験、作業室ならびに機器の管理、教育・訓練に関する各 SOP を新たに作成した。［佐々木裕子、加藤はる、新谷三春、増田まり子、佐々木次雄］

３．乾燥BCG（皮内用）の皮膚反応試験における判定方法の設定

ユニセフ向けBCGワクチンにおいて実施している皮膚反応試験（依頼試験）の判定における統計処理方法の検討を行い、平行線定量法（Bioassay assist）によることとした。［森茂太郎、柴山恵吾、持田恵子、堀野敦子］

４．BCG製剤の新しい力価試験方法の検討

BCGの力価試験において、小川培地に代わって7H10平板を用いて培養を行う方法を検討した。最適な培養条件を決定し、小川培地を用いる方法との相関を調べた。今後、さらにデータを蓄積し、適切な統計処理方法を検討する予定である。［柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子］

５．BCG力価試験、有毒結核菌否定試験、ツベルクリン力価試験での品質管理

BCG力価試験は、BCGワクチン9ロット、膀胱用BCG（日本株）2ロット、膀胱用BCG（イムシスト株）4ロットについて試験を行い、全て合格だった。有毒結核菌否定試験は、BCGワクチン13ロット、膀胱用BCG（日本株）3ロット、膀胱用BCG（イムシスト株）3ロットについて試験を行い、すべて合格だった。ツベルクリン力価試験は、9ロットについて試験を行い、全て合格だった。9ロット中1ロットは再試験を行い合格となった。［持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子、柴山恵吾］

６．諸外国におけるワクチンの国家管理制度の調査

諸外国におけるワクチンの国家管理制度を欧州、アジアの７ケ国について調査を実施した。今回の調査対象国製造及び試験記録の要約版（サマリーロットプロトコル）については全ロット評価を行い、品質の均質性を担保していた。戦後 60 年間続いたわが国の国家検定制度と諸外国の国家管理制度の間にはかなり違いのあることが明らかになった。また、わが国の国家検定における品質管理の現状を国外に発信するために「国家検定における品質マネジメントシステム」の英訳版を作成した。［高橋元秀、佐々木次雄、堀内善信、布施 晃、渡辺治雄、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］

Ⅱ．抗生物質製剤の品質管理に関する業務研究

１．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、抗生物質医薬品の注射剤（注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウム：8 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、経口剤（セフジニルカプセル：3 ロット／セフジニル細粒：2 ロット）ついて力価試験、確認試験（IR 及び NMR 解析）を行い、検査結果を報告した。注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウムの力価試験（HPLC のシステム適合性）とセフジニルカプセルの確認試験（NMR 解析）で一部コメントを付けた。収去製剤の全ての試験で「適合」と判定された。なお、セフジニル製剤の HPLC 力価試験については、生物活性物質部の試験担当者が行えるように、研修を行って共同で実施した。［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、生物活性物質部］

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。サブロット更新を含め 7 品目の評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。また、局外規の抗生物質標準品（2 品目）についてもサブロット更新を行った。［鈴木里和、山根一和、南條友子、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。サブロット更新を含め 15 品目の評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。更に、日局の紫外可視吸光度測定法に準拠した定量法による品質評価試験も 1 品目で完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。［柴田尚宏、山根一和、粕谷裕子、鈴木里和、南條友子、近田俊文］

３．日本薬局方エンドトキシン標準品 Lot 7 候補品の力価評定

日本公定書協会で日本薬局方エンドトキシン標準品（Lot 7）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に対する相対力価を３種のライセート試薬を用いて標準化を行い、エンドトキシン標準品 Lot 7 候補品の単位は 20,000 EU/vial と評価された。［落合雅樹、堀内善信、村井敏美・中川ゆかり（日本公定書協会）］

４．マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチンのロット更新

現行のマウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチン Lot 3 の残数減少にともない、新たに製造した Lot 4 候補品の単位を制定するため、共同評定プロトコールに従い感染研及び国内ワクチン製造所（計５施設）で試験を実施した。その結果、Lot 4 候補品は Lot 3 と同等の 12 単位／バイアルと評価された。その後、マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチン（Lot 4）、125 箱（1,500 本）の製造報告を行った。［落合雅樹、蒲地一成、福田 靖、鰺坂裕美、堀内善信］

５．参照百日せきワクチン（毒性試験用）のロット更新

昨年度に評価された参照百日せきワクチン（毒性試験用）Lot 3 について、ロット更新 3,350 本の製造報告を行った。［落合雅樹、蒲地一成、福田 靖、山本明彦、鰺坂裕美、堀内善信］

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）：31 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：9 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：7 ロット

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用する破傷風トキソイド原液：7 ロット

乾燥まむしウマ抗毒素：2 ロット

抗破傷風人免疫グロブリン：4 ロット

ガスえそウマ抗毒素：1 ロット

インフルエンザ HA ワクチン：75 ロット

コレラワクチン：1 ロット

人血清アルブミン：263 ロット

加熱人血漿たん白：24 ロット

肺炎球菌ワクチン：7 ロット

乾燥BCGワクチン（最終製品）80mg：3ロット

乾燥BCGワクチン（最終製品）12mg：6ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（最終製品）80mg：1ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（最終製品）40mg：1ロット

乾燥BCG膀胱内用（コンノート株）：4ロット

乾燥BCGワクチン（中間段階）：13ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（中間段階）：3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）：8ロット

２．国家検査（行政検査）の実績

（１）薬剤耐性菌関係

埼玉県から、バンコマイシン耐性腸球菌の院内感染の疑いのため、バンコマイシン耐性腸球菌（合計 64 検体）のパルスフィールドゲル電気泳動による検査データの提供を受け、制限酵素地図（PFGE 型）検査のタイピング解析結果を報告した。［細菌行政検査：第 77034 号］［鈴木里和、近田俊文、荒川宜親］

（２）ジフテリア関係

平成 19 年 5 月 18 日付で、信楽園病院（新潟県）から菌株（レフレル培地と HI 培地培養）を受領し、菌株の同定試験依頼を受けた。受理した菌株は、ジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* mitis 型と同定された。［細菌行政検査：第 77018 号］［小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀］

（３）破傷風関係

ア）平成 19 年 4 月 2 日付で、千葉市環境衛生研究所から患者血清 1 本と髄液 1 本（平成 19 年 3 月 27 日採血）を受領し、血清内の破傷風毒素の検出と破傷風抗毒素価測定依頼を受けた。血中破傷風毒素は、マウスを用いた毒素原性試験法による検出限界以下であった。一方、破傷風抗毒素価は KPA 法で測定レベル以下であった。［細菌行政検査:第 77003 号］［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］

イ）平成 20 年 3 月 14 日付で、茨城県衛生研究所から患者血清 1 本（平成 20 年 2 月 29 日採血）を受領し、血

清内の破傷風毒素の検出と破傷風抗毒素価測定依頼を受けた。血中破傷風毒素は、マウスを用いた毒素原性試験法による検出限界以下であった。一方、破傷風抗毒素価は KPA 法で測定レベル以下であった。［細菌行政検査：第 77159 号］［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］

（４）ボツリヌス関係

ア）平成 19 年 1 月に岩手県で発生した乳児ボツリヌス症に関して、岩手県知事名で行政検査の依頼を受けた（平成 19 年 5 月 25 日付）。4 月 17 日採取の患者便からは A 型ボツリヌス毒素を検出したが、5 月 11 日および 5 月 31 日に採取された便からは毒素は検出されなかった。［細菌行政検査：第 77019 号］［見理 剛、岩城正昭、山本明彦、高橋元秀］

イ）平成 19 年 11 月に茨城県で発生した乳児ボツリヌス症に関して、茨城県知事名で行政検査の依頼を受けた（平成 19 年 11 月 8 日付）。一連の検査で、患者便から A 型ボツリヌス毒素とボツリヌス菌（A 型毒素産生性）を検出した。また、患者宅で使用されていた食材の残りや調理器具、ハウスダストなどについても検査したが、ボツリヌス毒素、菌は検出できなかった。［細菌行政検査：第 77103 号］［見理 剛、岩城正昭、山本明彦、高橋元秀］

（５）BCG関係

ア）依頼検査として、ユニセフ向け乾燥BCGワクチン（皮内用0.5mg）6ロットについて実施した。［柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子］

イ）書類審査として、ユニセフ向け乾燥BCGワクチン（皮内用0.5mg）47ロットについて実施した。［柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子］

３．収去検査の実績

（１）抗生物質医薬品

注射剤（注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウム）：8 ロット

経口剤（セフジニルカプセル）：3 ロット

経口剤（セフジニル細粒）：2 ロット

４．抜取り検査等の実績

（１）無菌試験：9 ロット

５．標準品、参照品等の交付・分与の実績

（１）交付実績

日本薬局方抗生物質標準品（92 品目）：計 874 本

日本薬局方外医薬品規格標準品（1 品目）：計 2 本

抗生物質試験用菌株（1 品目）：計 1 本

標準ジフテリアトキソイド：4 本

標準沈降ジフテリアトキソイド：32 本

参照沈降ジフテリアトキソイド（混合ワクチン用）：86 本

標準ジフテリア抗毒素：15 本

参照ジフテリア抗毒素（フロキュラシオン用）：43 本

シック試験毒素（動物用）：4 本

ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）：7 本

標準破傷風トキソイド：5 本

標準沈降破傷風トキソイド：72 本

参照沈降破傷風トキソイド（混合ワクチン用）：39 本

標準破傷風抗毒素：10 本

標準抗破傷風人免疫グロブリン：3 本

参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）：62 本

破傷風試験毒素：17 本

標準はぶ抗毒素：6 本

ジフテリア試験毒素（ウサギ用）：6 本

標準ボツリヌス A 型抗毒素：1 本

標準ガスえそ抗毒素 *C. perfringens* Type A：4 本

標準ガスえそ抗毒素 *C. septicum*：4 本

標準ガスえそ抗毒素 *C. oedematiens*：4 本

ガスえそ試験毒素 *C. perfringens* Type A：8 本

ガスえそ試験毒素 *C. septicum*：13 本

ガスえそ試験毒素 *C. oedematiens*：8 本

標準百日せきワクチン：52 本

参照百日せきワクチン（毒性試験用）：91 本

マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチン：1 箱（12 本）

標準精製ツベルクリン：20本

BCG Tokyo172-1：10本

（２）分与実績

標準ジフテリア抗毒素（岡山県環境保健センター）：2 本

ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）（岡山県環境保健センター）：2 本

Corynebacterium diphtheriae PW 8（山口県環境保健センター）：1 本

Corynebacterium ulcerans（ジフテリア毒素産生株）（大阪府立公衆衛生研究所）：1 本

診断用ボツリヌス抗毒素：A, B, E, F 型（国内 15 ヶ所のボツリヌスレファンスセンターへ配布）：各 3 本

ボツリヌス毒素検出用試薬（ラテックス PA 法試薬）：A, B, E 型（国内 15 ヶ所のボツリヌスレファンスセンタ

ーへ配布）：各 5 本

６．依頼試験等の実績

（１）ジフテリア関係

ア）平成 19 年 9 月 6 日付で、新潟県信楽園病院からジフテリアの疑い患者から分離した菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、受理した菌株はジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* mitis 型と同定された。また、同時に送られた血清中のジフテリア抗毒素価は 0.0243 IU/ml であった。［小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀］

イ）平成 19 年 9 月 13 日付で、新潟県信楽園病院からジフテリアの疑い患者から分離した菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、受理した菌株は、ジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* mitis 型と同定された。また、同時に送られた血清中のジフテリア抗毒素価は、初発時（5 月 8 日）と再発時（9 月 8 日）でそれぞれ 0.0039 IU/ml の検出感度以下であった。［小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀］

ウ）平成 19 年 10 月 2 日付で、新潟県信楽園病院から、ジフテリアの疑い患者から分離した菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、受理した菌株はジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* mitis 型と同定された。また、同時に送られた血清中のジフテリア抗毒素価は、0.0232 IU/ml（9 月 26 日）と 0.0328 IU/ml（10 月 9 日）であった。前述 3 患者から分離した菌株をパルスフィールド電気泳動で解析した結果、1 例目の患者の初発時と再発時の株が同じタイプであり、2 例目と 3 例目の株が同じタイプであった。［小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀］

エ）平成 20 年 2 月 8 日付で、昭和大学医学部附属藤が丘病院（神奈川県）から、ジフテリアの疑患者の血中ジフテリア抗毒素価の検査依頼を受けた。検査の結果、0.0051 IU/ml（1 月 10 日）および 0.0814 IU/ml（2 月 4 日：γグロブリン製剤投与後血清）であった。また、血清からジフテリア毒素は検出されなかった。［小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀］

オ）平成 20 年 3 月 7 日付で、弘前市立病院（青森県）から、ジフテリアの疑い患者から分離した菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、16S rRNA とアピコリネによる同定試験結果から、*Corynebacterium kroppenstedtii* または *C. argentratense* と推定された。［小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀］

（２）破傷風関係

ア）平成 19 年 9 月 3 日付で、岩手医科大学付属病院から患者血清 2 本（7 月 18 日及び 9 月 3 日採血）の破傷風毒素の検出および同患者創部より分離された菌の同定の依頼を受けた。患者血清中には、マウスを用いた毒素原性試験による検出限界以下であった。患者創部より検出された菌種の精査の結果、破傷風毒素産生菌ではなかった。［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］

イ）平成 19 年 5 月 17 日付で、KKR 札幌医療センターから患者血清（4 月 29 日採血）の破傷風毒素の検出および破傷風抗毒素価測定依頼を受けた。血中破傷風毒素は、マウスを用いた毒素原性試験法による検出限界以下であった。一方、破傷風抗毒素価は KPA 法で測定レベル以下であった。［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］

ウ）平成 19 年 9 月 12 日付で、東海大学医学部付属病院から患者創部より分離された菌の同定の依頼を受けた。患者創部より検出された菌について、その培養上清はマウスを用いた毒素原性試験による検出限界以下であった。PCR 法による遺伝子検査によっても破傷風毒素は検出されなかった。［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］

エ）平成 19 年 11 月 22 日付で、岡山県赤磐医師会病院より患者血清（10 月 15 日採血）の破傷風毒素の検出および創部組織からの菌検出について依頼を受けた。患者血清中の破傷風毒素はマウスを用いた毒素原性試験の検出限界以下であった。一方、患者創部組織の培養菌液には破傷風菌は検出されなかった。［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］

（３）ボツリヌス関係

細菌行政検査（第 77103 号）に付随して、患者の予後を見るため茨城県土浦保健所より患者便中のボツリヌス毒素、菌検出検査依頼を受けた。検査は 12 月 6 日以降ほぼ 2 週間ごと実施した。患者の症状は発症後２ヶ月程度で軽快したものの、便からのボツリヌス毒素の検出は約半年間続き、20 年 5 月 13 日の検査（12 回目）で陰性化した。［見理 剛、山本明彦、岩城正昭、高橋元秀］

（４）マイコプラズマ関係

平成 19 年 5 月 30 日に大阪市の北野病院より乳児髄膜炎患者から分離された *Mycoplasma hominis* を疑う菌の同定試験および薬剤感受性試験の依頼を受けた。試験は大阪府公衆衛生研究所と連携して実施し、16S rRNA 遺伝子の分析から分離菌は *M. hominis* であると同定した。またこの菌に対する各種抗菌薬の MIC、MBC 値を測定した。［見理 剛、佐々木裕子、堀野敦子］

国際協力関係業務

Ⅰ．WHO 関連

１．WHO・WPRO の要請を受けて、パプアニューギニアで発生した百日咳患者（4 検体）について病原体診断を実施した（平成 19 年 12 月)。[鯵坂裕美、蒲地一成]

２．精製百日せきワクチンの試験標準化のための WHO ワーキンググループ会議（北京）に出席した（平成 19 年 11 月)。[堀内善信]

３．英国 NIBSC 主催の「生物製剤の標準化とその原理」研修に参加した。日常業務である標準品の作製・維持に関して知識を体系的に整理できたと同時に、感染研（予研）設置以来行なわれている生物製剤品質管理の重要性をあらためて認識した（平成 20 年 3 月)。[岩城正昭]

Ⅱ．JICA 関連

１．JICA の依頼により、ワクチン品質管理技術コース参加研修生（海外５名）にワクチンの品質管理について講義した（平成 19 年 11 月)。[高橋元秀、堀内善信、佐々木裕子、荒川宜親]

２．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、フルオロキノロン耐性菌、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 19 年 12 月)。[加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、荒川宜親]

３．JICA 広州院内感染プロジェクト Cao Jun 研修生に対してジフテリア、ボツリヌスの実験室診断の技術研修を実施した（平成 19 年 12 月)。[山本明彦、見理 剛、岩城正昭、高橋元秀]

４．パキスタン NIH で JICA が実施しているパキスタン国 EPI／ポリオ対策プロジェクトの支援として「拡大予防接種計画（EPI）強化プロジェクトのフォローアップに関する研究」の分担研究者としての調査研究を実施した（平成 20 年 2 月)。[高橋元秀]

Ⅲ．研修・講義関連

１．ルーマニア National Institute of Research-Development for Microbiology and Immunology “Cantacuzino”の研究者２名に国内 DPT の製造と品質管理の現状について講義した（平成 19 年 11 月)。[高橋元秀、佐々木次雄]

２．ベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology, Department of Microbiology の Ms. Hoang Thi Thu Ha 研修生に対してボツリヌスの実験室診断の技術研修を実施した（平成 19 年 12 月)。[見理 剛、山本明彦、高橋元秀]

３．台湾 CDC の Mr. Chein-Hsin Liu 研修生に対して蛇抗毒素製剤の品質管理の技術研修を実施した（平成 20 年 2 月)。[山本明彦、見理 剛、高橋元秀]

４．韓国 NIH の招聘依頼を受けて、第１回感染症に関する国際シンポジウムでボツリヌス症の診断等について講演した（平成 19 年 6 月)。[高橋元秀]

５．台湾 Bureau of Food and Drug Analysis（BFDA）の招聘依頼を受けて、日本国内のボツリヌス抗毒素の受給体制と品質管理の現状について講演した(平成 19 年 9 月)。[高橋元秀]

６．米国カリフォルニアで開催された Interagency Botulism Research Coordinating Committee に参加し、複合筋活動電位測定によるボツリヌス毒素中和抗体価の定量化法を発表した（平成 19 年 10 月)。[高橋元秀]

７．ジフテリア国際ネットワーク DIPNET の活動の一環として、英国 HPA で行なわれた「ジフテリア実験室診断ワークショップ」に参加した。他国の状況と比較し、日本のジフテリア実験室診断が高水準であることを確認した（平成 19 年 10 月)。[岩城正昭]

研修業務

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研修

１．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、所外から実習生、研究生を受け入れた。内容は、主にβ-ラクタマーゼ産生菌（基質特異性拡張型およびメタロ-β-ラクタマーゼ）の鑑別のための、ディスク拡散法による鑑別、PCR による耐性遺伝子の検出、プラスミドプロファイル解析、パルスフィールド電気泳動によるタイピングなど行った。臨床現場での薬剤耐性菌の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

１．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、PCR、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．品質管理に関する講義

１．国立保健医療科学院（埼玉県）における短期研修薬事衛生管理研修コース（受講者 31 名）において、生物学的製剤の品質保証の現状について講義した（平成 19 年 6 月）。［高橋元秀］

２．独立行政法人医薬品医療機器総合機構（東京都）の職員初任者研修会（受講者 23 名）において、細菌製剤の検定について講義した（平成 20 年 1 月）。［高橋元秀］

その他

Ⅰ．行政科学に対する対応

１．日本薬局方の抗生物質委員会、標準品委員会に関する活動

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、日本薬局方原案審議委員会の抗生物質委員会及び標準品委員会に出席し、第 15 改正日本薬局方（追補を含む）の収載案及び改正案の審議に従事した。［近田俊文］

２．日本薬局方の生物試験法委員会、製薬用水委員会に関する活動

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、生物試験法委員会に５回、製薬用水委員会に４回出席し、第 15 改正日本薬局方第二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］

３．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、WG8（微生物試験法）と 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］

４．無菌医薬品の製造に関する指針作成

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「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」の英訳版の作成を行った。先に作成した「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」とともに、無菌医薬品の製造に関する指針の和文及び英訳版が揃った。［佐々木次雄、佐々木裕子、他指針作成委員］

５．動物用生物学的製剤調査会に関する活動

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．感染症等についての対応

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、相談に個別に対応し、回答を行った。［荒川宜親、第一室］

２．*Clostridium difficile* 感染症についての対応

検査診断や施設内感染に関する事項を中心に、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］

３．抗生物質医薬品の試験法についての対応

日本薬局方、日本薬局方外医薬品規格（第四部）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］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

１）Moriguchi N., Itahashi Y., Tabata N., Yamazumi T., Furuta I., Shibata N., Arakawa Y., Miyata H.: Outbreak of CTX-M-3-type extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* in a pediatric ward. J Infect Chemother, 13(4), 263-266, 2007.

２）Yamane K., Rossi F., Barberino MG., Adams-Haduch JM., Doi Y., Paterson DL.: 16S ribosomal RNA methylase RmtD produced by *Klebsiella pneumoniae* in Brazil. J Antimicrob Chemother, 61(3): 746-7, 2008.

３） Doi Y., Adams JM., Yamane K., Paterson DL.: Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. Antimicrob Agents Chemother, 51(11): 4209-10, 2007.

４） Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Shibata N., Kato H., Shibayama K., Kimura K., Kai K., Ishikawa S., Ozawa Y., Konda T., Arakawa Y.: 16S rRNA methylase-producing, gram-negative pathogens, Japan. Emerg Infect Dis, 13(4): 642-6, 2007.

５）Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Kimura K., Shibata N., Kato H., Shibayama K., Konda T., Arakawa Y.: New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother, 51(9): 3354-60, 2007.

６）Wachino J., Shibayama K., Kurokawa H., Kimura K., Yamane K., Suzuki S., Shibata N., Ike Y., Arakawa Y.: Novel plasmid-mediated 16S rRNA m1A1408 methyltransferase, NpmA, found in a clinically isolated *Escherichia coli* strain resistant to structurally diverse aminoglycosides. Antimicrob Agents Chemother, 51(12): 4401-9, 2007.

７）Yamazaki T., Sasaki T., Takahara M.: Activity of Garenoxacin against macrolide-susceptible and -resistant *Mycoplasma pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother, 51, 2278-2279, 2007.

８）Huong PLT., Thi NT., Nguyet NTT., Van TK., Hang DT., Huong VTT., Anh DD., Sasaki T.: First report on clinical features of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Vietnamese children. Jpn J Infect Dis, 60: 370-373, 2007.

９）Okazaki N., Ohya H., Sasaki T.: *Mycoplasma pneumoniae* Isolated from Patients with Respiratory Infection in Kanagawa Prefecture in 1976-2006: Emergence of Macrolide-Resistant Strains. Jpn J Infect Dis, 60: 325-326, 2007.

10）Seki N., Kasai S., Saito N., Komagata O., Mihara M., Sasaki T., Tomita T., Sasaki T., Kobayashi M.: Quantitative analysis of proliferation and excretion of *Bartonella quintana* in body lice, *Pediculus humanus* L. Am J Trop Med Hyg, 77(3): 562-566, 2007.

11）Sasaki T., Yamamoto F.: Pharmaceutical administration and regulations in Japan. Validation of Pharmaceutical Processes (3rd ed.), Marcel Dekker, Inc, 683-694, 2007.

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

13）Pituch, H., W. van Leeuwen, K. Maquelin, Wultanska, P. D.Obuch-Woszczatynski, G. Nurzynska, H. Kato, M. Reijans, F. Meisel-Mikolajczyk, M. Luczak, A. van Belkum: Toxin profiles and resistances to macrolides and newer fluoroquinolones as epidemicity determinants of clinical isolates of *Clostridium difficile* from Warsaw, Poland. J Clin Microbiol, 45 (5): 1607-10, 2007.

14）Kato H., Kato H., Nakamura M., Nakamura A.: A case of toxic megacolon secondary to *Clostridium difficile*-associated diarrhea worsened after administration of an antimotility agent and molecular analysis of recovered isolates. J Gastroenterol 42 : 507-512, 2007.

15）Sawabe E., H. Kato, K. Osawa, T. Chiba, N. Tojo, Y. Arakawa, N. Okamura: Molecular analysis of *Clostridium difficile* at a university teaching hospital in Japan: a shift in the predominant type over a five-year period. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 26: 695-703, 2007.

16）Killgore, G., A. Thompson, S. Johnson, J. Brazier, E. Kuijper, J. Pepin, EH. Frost, P. Savelkoul, B. Nicholson, RJ van den Berg, H. Kato, SP. Sambol, W. Zukowski, C. Woods, B. Limbago, DN. Gerding, LC. McDonald: Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. J Clin Microbiol, 46: 431-437, 2008.

17）Ainai A., Kawase T., Ida A., Maeda Y., Ohba H., Ikeda Y., Sato H., Takahashi M., Chiba J.: Renewal of EBV-hybridoma methoed: Efficient generation of recombinant fully human neutralization IgG antibodies specific for tetanus toxin by use of tetroma cells. Human Antibodies, 15(4): 139-154, 2007

18）Kobune F., Ami Y., Katayama M., Takahashi M., Tuul R., Korukluoglu G., Kiyohara T., Miura R., Sato H., Yoneda M., Kai C.: A novel monolayer cell line derived from human umbilical cord blood cells shows high sensitivity to measles virus. J Gen Virol, May; 88 (Pt 5): 1565-7. 2007

19）Kenri, T., Okazaki, N., Yamazaki, T., Narita, M., Izumikawa, K., Matsuoka, M., Suzuki, S., Horino, A., Sasaki, T.: Genotyping analysis of *Mycoplasma pneumoniae* clinical strains in Japan between 1995 and 2005: type shift phenomenon of *M. pneumoniae* clinical strains. J. Med. Microbiol, 57: 469-475, 2008.

20）Shibayama K., Wachino J., Arakawa Y., Saidijam M., Rutherford N., Henderson P.: Metabolism of glutamine and glutathione via γ-glutamyltranspeptidase and glutamate transport in *Helicobacter pylori*: possible significance in the pathophysiology of the organism. Mol. Microbiol, 64(2): 396-406, 2007.

21）Han HJ., Kamachi K., Okada K., Toyoizumi-Ajisaka H., Sasaki Y., Arakawa Y.: Antigenic variation in *Bordetella pertussis* isolates recovered from adults and children in Japan. Vaccine, 26:1530-4, 2008.

22）Jones, R.G., Ochiai, M., Liu, Y., Ekong, T., Sesardic, D.: Development of improved SNAP25 endopeptidase immuno-assays for botulinum type A and E toxins. J Immunol Methods, 329: 92-101, 2008.

23）Kawamura-Sato K., Wachino J., Kondo T., Ito H., Arakawa Y.: Reduction of disinfectant bactericidal activities in clinically isolated *Acinetobacter* species in the presence of organic material. J Antimicrob Chemother, 61: 568-576, 2008.

24）Doi Y., Arakawa Y.: 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides (Review article). Clin Infect Dis, 45: 88-94, 2007.

２．和文発表

１）本間 操、柴田尚宏、鈴木智一、荒川宜親：骨髄移植後患者で経験したSHV-12型とCTX-M-14型ESBL産生*Enterobacter cloacae*による敗血症の１例．日本感染症学雑誌，81(6), 745-749, 2007.

２）柴田尚宏、荒川宜親：MDRP の耐性機構．臨床と微生物，34(2), 83-88, 2007.

３）鈴木里和：厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）新システムについて．インフェクションコントロール，17(2), 2008.

４）鈴木里和：JANIS・感染対策のためのサーベイランス協力サポートブック. インフェクションコントロール, 春季増刊，2008.

５）和知野純一、荒川宜親：ESBL産生菌．感染･炎症･免疫，37(2): 71-73, Summer, 2007.

６）近田俊文：第 15 薬局方改正点をふまえた抗生物質の微生物学的力価試験法.「微生物管理実務と最新試験法」, 技術情報協会，559-571, 2007

７）佐々木次雄：第７節：細菌，真菌の検出法．エル・アイ・シー,「バイオ医薬品の品質，安全性」，228-235, 2007.

８）佐々木次雄：第 17 回 ISO/TC198 会議報告．医科器械学 489-493, 2007.

９）佐々木次雄：製薬用水の微生物学的試験．大阪医薬品協会会報，第 708 号：97-124, 2008.

10）佐々木次雄，岩田浩明，栃木公太，久保田眞由美：医薬品製造用細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験法の問題点．医薬品研究，39(5): 299-309, 2008.

11）佐々木裕子、堀野敦子、見理 剛、荒川宜親、佐々木次雄：*Mycoplasma pneumoniae* 株間の主要発現蛋白の比較解析．日本マイコプラズマ学会雑誌、34: 19-20, 2007

12）加藤はる：海外トピック *Clostridium diffcile* 流行株 BI/NAP1/027 について. 感染制御 JICP, 3(6) :555-560. 2007.

13）加藤はる. *Clostridium diffiicle* 関連疾患(CDAD) vs ICT. Prologue, *Clostridium diffcile* 関連腸炎について．感染対策 ICT ジャーナル，3(1): 11-18, 2008.

14）佐々木次雄：通則．渡邉治雄編，生物学的製剤基準解説 2007 年版，じほう，3-18, 2007.

15）佐々木次雄：無菌試験法．渡邉治雄編，生物学的製剤基準解説 2007 年版，じほう，274-281, 2007.

16）佐々木裕子：マイコプラズマ否定試験法．渡邉治雄編，生物学的製剤基準解説 2007 年版，じほう，271-273, 2007.

17）新谷三春：乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）. 渡邉治雄編, 生物学的製剤基準解説 2007 年版，じほう，126-130, 2007.

18）見理 剛，高橋元秀：「最近の乳児ボツリヌス症」．小児科，48(13), 1999-2004, 2007.

19）落合雅樹：エンドトキシン試験法の設定・実施法と国際調和に向けた動き.「微生物管理実務と最新試験法」, 技術情報協会，537-558, 2007.

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

１）Shibata, N., Suzuki S., Yamane K., Wachino J., Kimura K., Arakawa, Y.: Molecular characterization of both a novel Japan-type CTX-M-3 and IMP-1 b-Lactamase producing *Enterobacter aerogenes* in Japan. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2007, Chicago, USA

２） Yamane K., Suzuki S., Wachino J., Arakawa Y.: Plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes, *qepA* and *qnr*, among *Escherichia coli* clinical isolates in Japan. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2007, Chicago, USA

３）Endimiani A., Doi Y., Yamane K., Adams J., Rossi F., Bethel CR., Bonomo RA., Paterson DL.: Spread in a Brazilian hospital of a carbapenem-resistant clonal *Enterobacter aerogenes* strain producing the CTX-M-54 extended-spectrum. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2007, Chicago, USA

４）Suzuki, S., Yamane K., Shibata N., Wachino J., Kimura K., Arakawa Y.: Supporting infection control in a small rural area hospital using laboratory based surveillance. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2007, Chicago, USA

５）Sasaki, Y., T. Kawakami, A. Horino, T. Kenri, Y. Arakawa, T. Sasaki: Profiling of major mycoplasma proteins by 2DLC-MS/MS, Asian Organization for mycoplasmology, 18th October, 2007, Anyang, Korea.

６）Kato, H., Arakawa, Y.: Detection of the toxin B gene of *Clostridium difficile* in stool specimens by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and direct typing of the *slpA* gene by sequencing. 2nd International *Clostridium difficile* Symposium Slovenia. 2007 June.

７）Kato H., H. Kato, Y. Ito, T. Akabane, T. Yokoyama, Y. Arakawa: Typing System for *Clostridium difficile* by sequencing the *slpA* gene and its application to direct typing from stool specimens. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy Chicago. 2007 September

８）Gotoh, Y., Y. Torii, M. Takahashi, S. Ishida, T. Sakamoto, T. Harakawa, A. Ginnaga, S. Kohda, S. Kozaki, R. Kaji: Comfirmed Quantification of the Activity of Flaccid Paralysis of Botulinum Neurotoxin by Measureing the Compound Action Potentical (CMAP) in Rat. 6th World Congress on Alternative & Animal Use in the Life Sciences. Aug. 2007, Tokyo.

９）Torii, Y., Y. Gotoh, M. Takahashi, S. Ishida, T. Sakamoto, T. Harakawa, A. Ginnaga, S. Kohda, S. Kozaki, R. Kaji: Quantification of Potency of Neuralizing Antibody to Botulinum Toxin by Measuring the Compound Muscle Action Potential (CMAP). 6th World Congress on Alternative & Animal Use in the Life Sciences, Aug. 2007, Tokyo.

10）Takahashi, M., Y. Torii, Y. Gotoh, T. Harakawa, A. Ginnaga, S. Kohda, S. Kozaki, R. Kaji: Assay in rat for neutralizing antibody to botulinum toxin by utilizing the compound muscle action potential (CMAP). Interagency Botulinum Research Coordinationg Committee Meeting, Nov. 2007, California, USA.

11）Iwaki M., Komiya T., Saegusa T., Inomata Y., Arakawa Y., Takahashi M.: *Corynebacterium diphtheriae* strain C7 (-) lacks most of PAIs but still shows signs of pathogenicity. 13th European Workshop Meeting on Bacterial Protein Toxins, June 2007, San Martino al Cimino, Italy.

12）Wachino J, K. Shibayama, S. Suzuki, Y. Arakawa: Profile of Expression of *Helicobacter pylori* γ -glutamyltranspeptidase. XXth International Workshop of the European Helicobacter Study Group, Istanbul, Turkey, September, 2007.

13）Yamamoto A., Ochiai M., Kamachi K., Kataoka M., Toyoizumi H., Arakawa Y., Horiuchi Y.: A clinically relevant in vitro pyrogen test using a human cell line that have the similar responsiveness to various pyrogens to that of human peripheral blood cells (hPBC), The 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Aug. 2007.

14）Ochiai M., Yamamoto A., Kataoka M., Toyoizumi H., Arakawa Y., Horiuchi Y.: A quantitative *in vitro* assay to detect biological activity of endotoxin using rabbit peripheral blood. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Aug. 2007.

15）Naito S., Ochiai M., Yamamoto A., Maeyama J., Masumi A., Hamaguchi I., Yamaguchi K., Horiuchi Y.: Application of the Limulus Amebocyte Lysate Test to Various Blood Products as an Alternative Method to the Rabbit Pyrogen Test. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Aug. 2007.

16）Horiuch Y.: A strategic approach for implementing the concept of 3Rs for safety control on pyrogen contamination in biologicals. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Aug. 2007.

２．国内学会

１）柴田尚宏、鈴木里和、山根一和、荒川宜親：我が国のグラム陰性桿菌におけるCTX-M-1型グループESBL遺伝子の保有状況と遺伝子周辺構造の解析．第81回日本感染症学会総会、京都、2007年4月．

２）本間操、柴田尚宏、荒川宜親：複数菌種のESBL産生菌が検出された１症例についての検討．第36回薬剤耐性菌研究会、群馬、2007年11月．

３）本間操、鈴木智一、柴田尚宏、荒川宜親：同一患者から３菌種のESBL産生菌が検出された症例についての検討．第19回日本臨床微生物学学会、東京、2008年1月．

４）常松範子、柴田尚宏、荒川宜親、他：CTX-M-9型ESBL産生*Salmonella enterica* serotype Typhmuriumによる急性胃腸炎の１症例．第19回日本臨床微生物学学会、東京、2008年1月．

５）高野さかえ、柴田尚宏、荒川宜親、他：第三世代セファロスポリン耐性β-ラクタマーゼ産生*Citrobacter freundii*および*Enterobacter cloacae*の検討．第19回日本臨床微生物学学会、東京、2008年1月．

６）杉本直樹、柴田尚宏、荒川宜親、他：CTX-M-2型β-ラクタマーゼを産生する腸内細菌４菌種の同時検出例．第19回日本臨床微生物学学会、東京、2008年1月．

７）那須美行、柴田尚宏、荒川宜親、他：踵部褥瘡から検出されたCTX-M-2型β-ラクタマーゼ産生*Proteus mirabilis*について．第19回日本臨床微生物学学会、東京、2008年1月．

８）岡崎美恵子、柴田尚宏、荒川宜親、他：当院で初めて確認されたメタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌による感染症の一例. 第19回日本臨床微生物学学会、東京、2008年1月.

９）山根一和、鈴木里和、和知野純一、荒川宜親：大腸菌の多剤耐性プラスミド上に存在するフルオロキノロン特異的薬剤排出ポンプ（QepA）の解析. 第 81 回日本細菌学会総会、京都、2007 年 3 月.

10）山根一和、和知野純一、鈴木里和、木村幸司、柴田尚宏、荒川宜親：日本の臨床現場で分離された大腸菌のプラスミド性フルオロキノロン耐性遺伝子（*qepA,qnr*）の保有状況. 第 19 回日本臨床微生物学学会、東京、2008 年 1 月.

11）木村幸司、和知野純一、黒川博史、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：Kirby-Bauer DisksおよびPCR法によるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発. 第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月.

12）木村幸司、和知野純一、黒川博史、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：Kirby-Bauer Disksによるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発およびPCR法によるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発. 第19回日本臨床微生物学学会、東京、2008年1月.

13）木村幸司：ペニシリン耐性B群連鎖球菌の出現と耐性機構解析. 第39回日本小児感染症学会総会、横浜、2007年11月.

14）木村幸司、和知野純一、黒川博史、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：Kirby-Bauer Disksによるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発及びPCR法によるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発. 第36回薬剤耐性菌研究会、群馬、2007年11月.

15）木村幸司、柴田尚宏、荒川宜親：ペニシリン耐性B群連鎖球菌の出現と耐性機構解析. 第55回日本化学療法学会総会、仙台、2007年6月.

16）木村幸司、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：ペニシリン耐性B群連鎖球菌の出現と耐性機構解析. 第81回日本感染症学会総会、京都、2007年4月.

17）中谷雅年，山崎勉，高畑正裕，福田淑子，佐々木次雄，満山順一：*Mycoplasma pneumoniae* に対する Garenoxacin の抗菌活性と標的酵素におけるその阻害効果. 第 36 回薬剤耐性菌研究会、伊香保、2007 年 11 月.

18）佐々木次雄：マクロライド耐性マイコプラズマ肺炎への対応. 第 90 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2007 年 10 月.

19)佐々木次雄:日本薬局方の微生物試験法の最新動向. 日本 PDA 製薬学会主催シンポジウム「日米欧薬局方における微生物試験法の将来展望と微生物迅速試験法技術」、2007 年 10 月.

20）佐々木次雄、山崎勉、佐々木裕子、荒川宜親：PCR-PHFA 法によるマクロライド耐性肺炎マイコプラズマ菌の迅速検出. 第 19 回日本臨床微生物学会、東京、2008 年 1 月.

21）佐々木裕子：パラログ遺伝子群にコードされたマイコプラズマ主要抗原リポ蛋白の発現調節による宿主免疫回避機構. 第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.

22）佐々木裕子、堀野敦子、見理 剛、荒川宜親、佐々木次雄：*Mycoplasma pneumoniae* 株間の主要発現蛋白の比較解析. 第 33 回日本マイコプラズマ学会、和歌山、2007 年 5 月.

23）新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、佐々木次雄、荒川宜親：ラットを用いたヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）の免疫原性試験. 第 11 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2007 年 12 月.

24）加藤はる、荒川宜親：*slpA* 遺伝子配列解析による *Clostridium difficile* のタイピング法. 第 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月.

25）加藤はる：シンポジウム I 薬剤耐性菌 話題の耐性菌. グラム陽性菌２ *Clostiridium difficile* による院内感染と NAP1/027 株による世界的流行. 岡山、2007 年 7 月.

26）加藤はる：第 2 回 チーム医療実践セミナー：検査をしていなくて見逃す施設内感染の危険. 第 39 回日本自動化学会、横浜、2007 年 9 月.

27）加藤秀章、中村敦、岩島康仁、二宮茂光、三治宏司、加藤はる：当院で分離された *Clostridium difficile* についての *slpA* タイピングによる検討. 第 50 回日本感染症学会中日本地方学会学術集会、神戸、2007 年 10 月.

28）加藤はる：新感染症レクチャー：*Clostridium difficile* 感染症と近年の疫学的変化. 第 90 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2007 年 10 月.

29）加藤はる：第 4 回日本環境感染学会教育委員会講習会：*Clostiridium difficile* 流行株 NAP1/027 株について. 第 23 回日本環境感染学会総会、長崎、2008 年 2 月.

30）河合浩樹、岩本里美、高山保子、安藤恵子、河合悦子、松井三紀、西口貴恵、原田正弥、三宅孝、加藤はる：経管栄養実施患者における *Clostridium difficile* の分離状況と感染防止対策について. 第 23 回日本環境感染学会総会、長崎、2008 年 2 月.

31）牧野みゆき、中村慎吾、永井英雅、長屋博美、千田澄江、澤田幸代、波田野浩史、加藤はる：*Clostridium difficile* のアウトブレイク発生時に行った感染予防対策

と今後の課題. 第 23 回日本環境感染学会総会、長崎、2008 年 2 月.
32）斉木由美子、高野さかえ、常松典子、千葉正志、加藤はる：当院で分離された *Clostridium difficile* 菌株の毒素産生パターンの検討. 第 38 回日本嫌気性菌感染症研究会、八王子、2008 年 3 月.
33）岩島康仁、中村敦、加藤秀章、和田順子、脇本幸夫、近藤優子、矢野久子、上田龍三、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症（CDAD）に対するバンコマイシン投与例の検討. 第 38 回日本嫌気性菌感染症研究会、八王子、2008 年 3 月.
34）伊藤陽一郎、松下知路、高橋裕司、中村俊之、林晃司、森田恵理、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連疾患の検討. 第 38 回日本嫌気性菌感染症研究会、八王子、2008 年 3 月.
35）小宮貴子、岩城正昭、中村朗、大江健二、中嶋洋、朝倉昇司、大塚喜人、中野忠男、岡崎則男、渡辺祐子、萩原紀子、高橋元秀、荒川宜親：ジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 感染症について、第 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月.
36）高橋元秀：生物学的製剤における実験動物の役割、第 54 回日本実験動物学会総会、東京、2007 年 5 月.
37）勝川千尋、小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀：本邦で初めてイヌから分離されたジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans*. 第 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月.
38）坂本崇、原川哲博、銀永明弘、小崎俊司、高橋元秀、梶龍兒：低分子量ボツリヌス神経毒素製剤の開発とＣＭＡＰによる評価、第 48 回日本神経学会総会、名古屋、2007 年 5 月.
39）見理 剛：日本におけるマイコプラズマ肺炎の発生状況、日本マイコプラズマ学会第 34 回学術集会、和歌山、2007 年 5 月.
40）西坂崇之、水谷佳奈、中根大介、見理剛、矢島潤一郎、宮田真人、政池知子：細胞と分子モーターの動きを画像化する新しい顕微鏡技術、日本マイコプラズマ学会第 34 回学術集会、和歌山、2007 年 5 月.
41）坂本崇、原川哲博、銀永明弘、鳥居恭司、後藤剛孝、小崎俊司、高橋元秀、梶龍兒：ボツリヌス神経毒素製剤品質管理のための CMAP 定量化、第 37 回日本臨床神経生理学会・学術大会、宇都宮、2007 年 11 月.
42）岩城正昭、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀：ジフテリア菌 C7 (-)株は pathogenicity islands の大部分を欠くが病原性の兆候を残している、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.
43）山本明彦、岩城正昭、見理剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀：日本国内の土壌での破傷風菌分離、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.
44）前山順一、小宮貴子、高橋元秀、井坂雅人徳、山本三郎：ジフテリアトキソイドに対する新規Ａ型CpG-DNA である G9.1 の粘膜アジュバント作用、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.
45）中根大介、見理剛、宮田真人：*Mycoplasma pneumoniae* の細胞骨格電子顕微鏡像の平均化と構成タンパク質の特定、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.
46）小宮貴子、岩城正昭、荒川宜親、高橋元秀、畑中章生、角田篤信：目でみる感染症、参考症例：*Corynebacterium ulcerans* 感染症、第 19 回日本臨床微生物学会総会、東京、2008 年 2 月.
47）山本明彦、岩城正昭、見理剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀、城川雅光、渋谷泰寛、武田淳史、光定誠：目でみる感染症、*Clostridium tetani* が痂皮から検出された破傷風、第 19 回日本臨床微生物学会総会、東京、2008 年 2 月.
48）森茂太郎、柴山恵吾、朴貞玉、荒川宜親：結核菌由来ポリリン酸キナーゼの機能と結晶化、第 59 回日本生物工学会大会、広島、2007 年 9 月.
49）森茂太郎、柴山恵吾、朴貞玉、荒川宜親：結核菌由来ポリリン酸キナーゼの機能解析、第 90 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2007 年 10 月.
50）柴山恵吾、荒川宜親、山本三郎：BCG 製剤に含まれる 2 種類のバリアント株のリアルタイム PCR による定量、第 11 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2007 年 12 月.
51）朴貞玉、柴山恵吾、森茂太郎、荒川宜親：*Mycobacterium avium* より見出された新規 Insertion Sequence の解析、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.
52）堀野敦子、山根一和、岡村登、荒川宜親：*Burkholderia* 属疑い臨床分離株の細菌学的解析、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.
53）柴山恵吾、和知野純一、鈴木里和、荒川宜親：*Helicobacter pylori* の γ -glutamyltranspeptidase の発現様式、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.
54）韓賢子、蒲地一成、桑江朝臣、阿部章夫、荒川宜親：百日咳流行株におけるタイプ III エフェクターBopC の発現差異について. 第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月.
55）蒲地一成、荒川宜親：スライド凝集反応における *Bordetella pertussis* の自然凝集と菌型の関係について. 第 19 回日本臨床微生物学会総会、東京、2008 年 1 月.
56）蒲地一成、岡田賢司、豊泉裕美、佐々木裕子、荒川

宜親：成人層から分離された百日咳菌の分子疫学的解析．第 11 回日本ワクチン学会学術総会、横浜、2007 年 12 月．
57）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、滝澤和也、水谷哲也、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（QuantiGene Plex）法を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み、第11回日本ワクチン学会総会、横浜、2007年12月．

３．講演・講義

１）柴田尚宏：新しいβ-ラクタマーゼの検出法について．平成19年度東関東耐性菌研究会、千葉、2007年5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 2007 年 5 月．
３）加藤はる：*Clostridium difficile* による院内感染―そもそもどんな感染症なの？―第７回横浜感染対策看護セミナー、横浜、2007 年 7 月．
４）加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症と細菌学的検査．平成 19 年度静岡県臨床衛生検査技師会微生物検査研究班宿泊研修会、箱根、2007 年 7 月．
５）加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症 – 個々の症例の診断検査から世界の流行まで–．横浜市立大学付属病院感染平成 19 年度第１回対策講演会、横浜、2007 年 7 月．
６）加藤はる：～たかが下痢、されど下痢、施設内感染も起こします～*Clostridium difficile* 関連下痢症ってどんな感染症？第 11 回がん診療セミナー（千葉県がんセンター主催）、千葉、2007 年 11 月．
７）加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症に関する細菌検査室の役割～細菌学的検査および施設内感染対策～．院内感染対策と微生物検査セミナー．福岡、2007 年 12 月．
８）加藤はる：クロストリジウム・ディフィシル感染と施設内感染対策．第 8 回感染予防講演会（河北総合病院）、東京、2008 年 1 月．
９）加藤はる：*Clostridium difficile* 関連下痢症／腸炎 – 検査から感染予防対策まで–．第 19 回岡山インフェクションコントロール研究会、テーマ「最近話題の感染症ーその実態と対策」、岡山、2008 年 3 月．
10）Horiuchi Y.: Evaluation and Control of Vaccines - Problems and future prospect of vaccine evaluation. December 2007, Taipei, Taiwan.
11）Horiuchi Y.: A strategic approach for implementing the concept of 3Rs for safety control on pyrogen contamination in biologicals, Vaccination and vaccine valuation of DTaP. March 2008, Lanzhou Institute of Biological Products and Wuhan Institute of Biological Products, China.
12）Horiuchi Y.: Regulatory guidelines and expectations on vaccine quality in Japan. アジアワクチン会議．北京、2008 年11月．

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、赤痢アメーバ、ネグレリアなどの病原性アメーバ、エキノコックス、アライグマ回虫、イヌ・ネコ回虫、肺吸虫、アニサキス、テニア属条虫、裂頭条虫、複殖門条虫、マラリア原虫、住血吸虫などを対象とした分子生物学、細胞生物学、疫学、分子疫学、検査･診断、予測、予防などに関する基礎的、応用的研究が行われている。また、研究事業として、所内関連部との協力を得つつ、「食生活と環境変化の変化に伴う寄生虫・原虫症の対策と監視強化に関する研究」を継続して実施した。

第一室においては、Microsporidia のヒトにおける感染成立に関する免疫学的解析が進むとともに、飼育ウサギ感染株の遺伝子解析、*in vitro* 感染評価法開発など公衆衛生および医療に関する研究が進展した。*Cryptosporidium* 等消化管寄生性原虫では、水系感染防止を主たる目的として掲げており､疫学､サーベランス､検査法を中心として、免疫クロマト法、LAMP あるいは RT-PCR 等の技術導入を図りながら研究が継続されている。また *Acanthamoeba* 臨床株の遺伝学的多様性、高病原性 *Naegleria fowleri* 株情報のデータベース化、あるいは *Legionella* 属菌のアメーバ感染性の評価法など､公衆衛生面からの自由生活性アメーバ類の研究も進められた。

国際協力では、アジアにおける腸管寄生性原虫の情報の共有を目指し、タイ、フィリピンと共同し、方法の整備、分離株の解析と収集を行った。

第二室においては、動物由来および食品媒介性寄生蠕虫症対策を基軸にした研究を行っている。前者に関しては、本邦では北海道で流行が見られる多包条虫（エキノコックス）の汚染地域拡大防止の観点から、糞便内 DNA 検出法の開発と地方衛生研究所との疫学調査に係わる共同研究体制を強化するとともに、国外の浸淫地、とくに中国におけるエキノコックス症対策に関する国際共同研究も継続して実施した。また、アライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視に向けた調査研究に関しては、近縁の回虫種（*Toxocara* 属）との鑑別を目的にした糞便内虫卵を用いた遺伝子鑑別診断法の開発を行った。後者の食品媒介性寄生蠕虫症対策に関しては、肺吸虫症やアニサキス症の分子疫学と遺伝子診断法の開発に向けた研究を行った。条虫類では、裂頭条虫類（複殖門条虫含む）とテニア属条虫（嚢虫を含む）の分子系統解析や遺伝子鑑別法の開発を行った。また、病理組織標本内に見出される寄生蠕虫についても遺伝子鑑別診断を目的とした検査法の研究を実施した。

第三室では、国際的に重要な寄生虫症、マラリア、住血吸虫症､赤痢アメーバなどを主な研究対象としている。特にマラリアや住血吸虫は、現在は専ら輸入感染症として問題になっているが、国内にベクターとなる蚊や淡水貝が生息しており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、浸淫地との交流拡大や気候・環境変化に伴う日本への侵入・感染拡大に係る数理モデルを作成し、効果的対策に関する研究を進めている。また、簡易診断法の開発や薬剤耐性評価など、これらの寄生虫症の検査診断法の改良・開発も行い、成果の一部は、実際に途上国での寄生虫症対策に応用されている｡さらに、病原性との関連で赤痢アメーバのコレステロール代謝の解析を進めるとともに、アメーバ分離株の遺伝子解析を進めている。

人事面では、4 月より第二室長として山﨑 浩が旭川医科大学より着任した｡川中正憲 前第二室長が再任用研究員として採用された。また、本年度をもって、遠藤卓郎 部長と古屋宏二 第一室長が定年退職した。また、常勤スタッフ以外に、研究業務などは臨時職員 4 名、客員研究員 6 名、協力研究員 3 名、および流動研究員 1 名の協力の下で運営された。

業　績

調査・研究

Ⅰ．疫学

1．寄生原虫症に関する研究

(1) 国内外のクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症の統計比較

わが国を含め各国が web 上で公開している保健・感染症関連研究施設からの感染症サーベランスに関する統計

データを主に利用した。これらのデータから年次報告数、10 万人あたり報告数、年齢階級別報告数、その他の項目に関して比較を行なった。北米、欧州、オセアニア諸国でクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症両疾患のナショナルサーベランスを行なう国が多く、アジアでは今後の問題となっていた。わが国と諸外国の間には著しい統計差が認められたが、これは診断基準の違いや検査法の種類の違いがあるものの、国内の検査体制のあり方を問うものと思われた。特に諸外国では重要な感染リスク層である 10 歳以下の低年齢児における報告が、国内では統計上ほとんどなく、当該年齢層の広範な検査の必要性が示された。

[八木田健司]

(2) 北上川水系における原虫汚染状況調査

2004 年 9 月から 2005 年 8 月、北上川本流 2 地点と支流 3 地点を定め、毎月 1 回、河川水濃縮検体を直接蛍光抗体染色法および PCR・遺伝子解析により検査した。直接蛍光抗体法では 60 試料中 11 試料（18.3%、4 地点）、PCR 法では 18 試料（30.0%、5 地点）よりジアルジアが検出されたが、クリプトスポリジウムは両方法ともに検出されなかった。本流上流点および支流では、PCR による陽性数が蛍光抗体法よりも増加したが、本流下流点ではこの関係は逆転した。本流下流域は近くに下水処理場があり、水質的な影響が PCR の結果に現れた可能性が考えられた。DNA 解析の結果、今回検出されたジアルジアは全て人獣共通感染性で宿主域の広い *Giardia intestinalis* の assemblage A であった。

[板垣 匡（岩手大学農学部）、八木田健司]

(3) レジオネラ属菌の種、血清型によるアメーバ感染性の比較

これまでに開発した ID50（50% infectious dose、50% 感染濃度）による解析法を用いて、*Legionella pneumophila, L. dumoffii, L. longbeachae, L. bozemanii* ならびに *L. londinienis* の菌株のアメーバ感染性を調べた。菌種では *L. pneumophila* が最も高い傾向にあることが示された（ID50: 1.1～4.4 cfu/ 0.1ml）。血清型による差は明らかではないが、ヒト臨床分離株と同程度の感染性が環境分離株にも認められた。2002 年の宮崎県集団感染事例において起因菌とされた *L. pneumophila* SG1 の菌株は高い感染性を確認する一方、抗体価上昇の認められなかった *L. londinienis* は宿主アメーバへの感染が認められなかった（ID50: >$1.2x10^4$ cfu/0.1ml）。

[八木田健司、泉山信司、小村麻子、倉 文明（細菌第一部）]

(4) 一般病理解剖遺体からの原虫類検出

入院後寄生虫症以外の主因で死亡した患者より、病理解剖の際に大腸内に残存した便を採取し（死亡確認後 12 時間以内）、寄生虫学的検査を行った。16 例（37～80 歳、平均年齢 69 歳、男性 12 名、女性 4 名）に関して染色鏡検、抗原検査を行った結果、5 例が赤痢アメーバ感染、3 例が赤痢アメーバおよびジアルジアの混合感染例であることが示された。赤痢アメーバに関しては PCR により 7 例において *E. histolytica* 遺伝子特異的増幅を認めた。これらの結果は、赤痢アメーバ等寄生原虫類がヒト体内で、ある期間潜在的にあるいは不顕性に感染し続けることを示す点で、従来の寄生虫感染に対する認識とは著しく異なると同時に、高齢者の免疫状態管理への配慮および感作機序の解明が必要であることを示している。

[安倍正史（昭和大学医学部）、八木田健司、朝日 博子]

(5) 腸管寄生性原虫対応のアジアネットワーク

当該研究はアジアにおける腸管寄生性原虫の情報の共有を目指し、方法の整備、分離株の解析と収集を行った。今後とも、アジアネットの参加国を増やし、情報の共有が図られれば衛生の向上、防疫施策への反映等が期待される。具体的にはクリプトスポリジウムの検査法の共通化、すなわち、蛍光抗体染色による高感度検出、遺伝子解析（18S rDNA を標的とした種別、*cpgp* 遺伝子を標的とした遺伝子型の決定）を提案し、タイ、フィリピンおよび日本の 3 ヶ国で研究協力体制の確立に努めた。その結果、種別では、わが国およびアジア地域でのクリプトスポリジウム症は *Cryptosporidium hominis*（ヒト型）が主な起因原虫となっていた。また、多様な遺伝子型の存在が明らかとなり、系統樹解析によって汚染源調査に利用可能な程度の解像力の向上が果たせた。個別研究では、過去の集団感染と散発事例ならびに家畜および野生動物由来のクリプトスポリジウムの感染性評価、家畜および野生動物における汚染状況と遺伝子型別が行なわれた（日本）。フィリピンでは本研究事業の支援を得てはじめて若年層における調査が行われ、高い検出率が報告された。また、タイからは AIDS 患者の感染事例の情報が寄せられた。あわせて、免疫不全者において *Isospora belli* の感染が少なからず存在することが示され、フィリピンでは *Cyclospora cayetanensis* 感染が確認された。

[泉山信司、Somchai Jongwutiwes (Chulalongkorn University, Thailand)、Filipinas F. Natividad (St. Luke's Medical Center, Philippines)、小村麻子、八木田健司、中井 裕（東北大学大学院農学研究科)、遠藤卓郎]

2．動物由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) 北海道以外の都府県で発生した多包性エキノコックス症の感染源調査

多包性エキノコックス症の発生は､本症の原因種である多包条虫が土着している北海道からの報告が大部分であるが、それ以外の都府県でも発見される。一次資料を用いた研究の結果､そのような症例はこれまでに 77 症例が確認され、その中には既知流行地との関連が見出せない原発 17 症例が含まれる｡原発例の発生は感染源が存在することに他ならないが、現在まで感染源が特定されたことはない。この理由の一つとして、従来の発生報告が単なる症例報告にとどまってきたことが指摘される。そこで本研究では、非流行地で発生した多包虫症の感染源を明らかにするため、北海道以外の都府県で発生した症例を収集し、詳細な疫学的事項の収集を行った。

[森嶋康之､川中正憲､土井陸雄（横浜市立大学医学部)、杉山 広]

(2) アライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視体制の構築

首都圏では埼玉県におけるアライグマの増加が非常に目立つ状況になっている｡アライグマの捕獲数で見ると、平成 16 年度 31 頭、平成 17 年度 69 頭、平成 18 年度 450 頭と増加し､平成 19 年度は 4 月～9 月の半年間で既に 575 頭を数えている。このような状況下で、県特定外来生物対策連絡会議が発足し、各関係機関と共に本課題の協力研究者（埼玉衛研）も出席してアライグマ回虫問題を担当している。現在までに、東松山地域を中心として 231 検体の糞便検査を実施したがいずれもアライグマ回虫卵陰性であった。神奈川県については、昨年度までに野生化アライグマが出没する殆ど全ての地域においてアライグマ回虫のチェックが終了していると考えているが、今年度も継続して監視の為に 119 検体の検査を実施したが、いずれも陰性の結果であった。また、北九州の動物園から、新規にアライグマ回虫陽性のアライグマが発見されたので、感染個体の駆虫と展示施設からの虫卵の除去等について指導し、清浄化を確認した。

[川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之、山﨑 浩、山本徳栄・山口正則（埼玉県衛生研究所)、佐藤 宏（山口大学農学部)]

(3) 多包性エキノコックス症の本州への流行地域拡大防止対策に関する研究

2005 年に､埼玉県北部の捕獲犬からエキノコックス感染が見つかった事から、この地域における動物疫学的な調査が必要になった。2007 年 1 月から 10 月末までの期間、犬 161 検体、猫 204 検体について糞便検査を実施したが、エキノコックス虫卵は検出されなかった。また、この期間内に埼玉県北部地域において野ネズミ 52 匹を捕獲し、目視による観察で内臓に異常所見を認めた個体については PCR を実施して多包条虫の検出を試みた。現在のところ、いずれも陰性である。また、青森県と大阪府においても犬糞便内の虫卵検査を継続実施している。現在までに、青森県では 314 頭､大阪府では 70 頭の糞便を検査したが､エキノコックス虫卵は検出されていない。

[川中正憲、森嶋康之、杉山 広、山本徳栄･山口 正則（埼玉県衛生研究所)、吉野民子（青森県動物愛護センター)、木村明夫（大阪府立公衆衛生研究所)]

(4) 中国青海省チベット族自治区におけるエキノコックス症の疫学的調査研究

中国南西部に位置する青海省は単包条虫と多包条虫によるエキノコックス症（包虫症）の流行地であり、公衆衛生上、重要な問題になっている。ヒューマンサイエンス振興財団による国外の研究機関への委託事業として、この地域におけるエキノコックス症の疫学的調査研究を実施している。本年度は青海省の省都、西寧の南西約 900㎞ に位置する囊謙県において、超音波検査による住民検診と血清学的調査を行った。また、多包条虫の中間宿主であるクチグロナキウサギを捕獲し、剖検によって得られた病巣の病理組織学的、ならびに遺伝子解析も実施した。

[川中正憲、森嶋康之、杉山 広、山﨑 浩、韓 秀敏･何 多尤・呉 献洪・馬 霄・劉 培運・曽 誠・蔡 輝霞・馬 俊英･王 虎（青海省地方病予防抑制所)、余 森海（中国 CDC, 上海）]

3．食品由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) イノシシを感染源としたウェステルマン肺吸虫症の発生状況に関する調査

イノシシ肉を生で食べて肺吸虫に感染するという事実は，1970 年代に九州南部で世界に先駆けて証明された。しかし感染経路が特定された後も、イノシシ肉を原因とする事例は、特に猪猟師やその家族を中心に、九州南部

で発生を続けている。一方，九州北部では，南部と同様にイノシシ猟が活発であるが、症例数は少ない。この理由をヒト側の要因と関連づけて説明するため、九州北部として佐賀を選び、県猟友会（会員総数：約 1,100 名）の協力を得て、猪猟師を対象とした質問票調査を実施した。315 名から提供された回答を見ると、イノシシ肉の生食が危険であるとの認識は過半数が有しており、生食歴も 44 名（14.0%）に留まった。この値は九州南部（鹿児島・宮崎両県）の猪猟師の値（既報）と比べると有意に低かった（p<0.001）。食習慣の違いから、九州北部では肺吸虫症の発生が制御されているとも考えられた。九州南部での肺吸虫症予防に関する啓発活動の重要性が改めて指摘された。

[杉山 広、森嶋康之、梅原梓里、平野敬之、舩津丸貞幸（佐賀県衛生薬業センター）]

(2) 佐賀県におけるウェステルマン肺吸虫症の動物疫学調査

2004 年に佐賀県唐津市で発生した肺吸虫症の集団事例は，同市内を流れる玉島川のモクズガニが感染源であった。この地域の終宿主動物を明らかにするため、一般家庭で飼育中のイヌ（46 頭）およびネコ（28 頭）の糞便を収集し，寄生蠕虫卵の検出を試みた。その結果、人獣共通寄生種としてマンソン裂頭条虫（イヌ 1 頭），およびネコ回虫（ネコ 3 頭）の虫卵を検出したが、肺吸虫卵は総て陰性であった。佐賀県で猟犬を飼育するハンター（198 名）の半数以上（118 名，59.6%）は，自分達でイノシシを捕獲した場合、その肉を生でイヌに与える事が分かっている。終宿主動物が猟犬である可能性も示唆されたので、検査の対象を広げて検討を進める予定にしている。

[杉山 広、梅原梓里、森嶋康之、平野敬之、舩津丸貞幸（佐賀県衛生薬業センター）、川上 泰（麻布大学環境保健学部）]

(3) 市販サワガニを対象とした肺吸虫メタセルカリアの寄生状況調査

わが国に長期間在住するアジア系外国人が、淡水産・汽水産のカニを食材とする出身地固有の料理を加熱せずに賞味し、肺吸虫に感染する事例が増加している。飲食を共にした日本人の感染も報告されており、食習慣に起因する新たな肺吸虫症として注目されてきた。これらの事例では、居住地近辺の鮮魚店で購入されたカニが原因食材となった場合も多い。そこで東京都内で販売されていたサワガニを対象に肺吸虫の寄生状況を調べた。メタセルカリアが検出された場合は、形態を精査し、塩基配列に基づく種同定も試みた。その結果、検査した 226 匹のサワガニのうち、44 匹（寄生率 19%）が陽性であった。検出したメタセルカリアは、宮崎肺吸虫あるいはウェステルマン肺吸虫（2 倍体型・3 倍体型）と同定された。両種とも人体寄生性である。市販のサワガニが肺吸虫の感染源となる事を広く注意喚起する必要が出てきた。

[杉山 広、梅原梓里、森嶋康之、山﨑 浩、川中正憲]

(4) 同胞種レベルでみた日本産 *Anisakis simplex*： 九州での感染源の特定に向けた検討

魚介類の生食により発生するアニサキス症は、*Anisakis simplex* が主な原因と考えられてきた。しかし、アイソザイムや遺伝子配列の解析結果から、この線虫は単一種でなく、形態では区別できない同胞種、すなわち *A. simplex* sensu stricto（狭義の *A. simplex*、以下 As）や *Anisakis pegreffii*（以下 Ap）などから構成される事が明らかにされてきた。そこで患者由来の虫体と魚由来の虫体について、同胞種レベルで解析したところ、九州では，患者からは As が、しかし魚からは Ap が専ら検出されるという矛盾した成績を得た。検索に用いた魚は日本海産であったので，市場でよく流通する東シナ海産の魚を購入し、新たに検索を加えた。しかしながら成績は同様で、魚からは専ら Ap が検出された。九州における人への感染源は、九州以外で漁獲された As 陽性の魚である可能性が示唆された。

[梅原梓里、杉山 広、川上 泰(麻布大学環境保健　　学部)]

4. 輸入寄生虫症に関する研究

1.マラリアの疫学

(1) わが国における輸入マラリア症例の血液塗抹標本を用いた東南アジアにおけるピリメサミン耐性遺伝子 *dhfr* の遺伝的多型の解析

東南アジアにおける薬剤耐性マラリア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 588 サンプルであり、そのうち東南アジアからのサンプルとして 26 例のピリメサミン（Pyr）薬剤耐性遺伝子 dihydrophorate reductase (*dhfr*)遺伝子の配列決定に成功した。*Dhfr* 座位は 77%（20/26）が耐性型を示した。一方で、クロロキン（CQ）耐性遺伝子 *pfcrt* 座位は同一サンプルで 96%（28/29）が耐性型を示した。このことは、抗マラリア薬として CQ の東南アジアでの使用開始が Pyr よりも 20 年早く、耐性

株の広がりに違いがあることを示している。
[中野由美子、田邊和裕（大阪大学微生物病研究所)、河津信一郎（帯広畜産大学原虫病研究センター)、 石上盛敏・狩野繁之（国立国際医療センター研究所)、大前比呂思]

(2) インドシナ半島におけるピリメサミン耐性遺伝子 *dhfr* の遺伝的多型の解析

dhfr の配列が決定できた 26 サンプルのうち、インドシナ半島のサンプルについて *dhfr* の多型を解析した。現在、インドシナ半島の薬剤耐性マラリアには *dhfr* S108N 変異に、さらに変異が二重、三重、四重に入った多重変異株が流行していることが報告されている。その結果、タイでは 1984 年にすでに 3 重変異型が存在していた(n = 2)。1984 年にタイで分離された Indochina III 株(Oduola 1985)は 3 重変異を持つことが報告されている。よって、本結果とあわせると、三重変異のタイでの最も古い同定年度は 1984 年である。タイは 1980 年代にピリメサミンをクロロキンに代わって第一選択薬として大量に使用した唯一の国である。この結果は薬剤の使用量と期間が長い程、耐性遺伝子が広まるというこれまでの説を支持している。また本結果で、ラオスでは 1994 年と 1998 年に二重変異（CNRNI）(n = 4）が同定された。ミャンマーでは野生型が 1997 年のサンプルで存在していたことを示した(n = 1)。タイでこれまでラオスとミャンマーで *dhfr* 変異の存在を示したのは 1999 年までのサンプルまでしかなく（Nair 2003)、本結果が遺伝子型を示した最も古い年代となった。
[中野由美子、田邊和裕（大阪大学微生物病研究所）]

(3) 西太平洋地域におけるピリメサミン耐性遺伝子 *dhfr* の遺伝的多型の解析

西太平洋地域では wild type が 1985 年から 1990 年にパプアニューギニア(n = 3)とフィリピン(n = 1)で存在が確認できた。CNCNI 単独変異が 1985 年–86 年にインドネシア(n = 1)、パプアニューギニア (n = 1)，フィリピン(n = 1)で見られ、さらにパプアニューギニアでは 1998 年にも(n = 1)見られた。CNRNI の２重変異の存在がインドネシアでは1991年、パプアニューギニアでは1987年、フィリピンでは1985年までできた。これらの国での *dhfr* 変異の存在は、これまでインドネシア、パプアニューギニアでは 1996 年のサンプルが最も古い報告であり（Reeder 1996; Nagesha 2001)、本研究はそれを約 10 年遡った。フィリピンにおける *dhfr* の多型はこれまで報告が無いが、*in vivo* での高い治療成功率を考えると、現在でも多くの *dhfr* の野生型が存在していると推測できる。
[中野由美子、田邊和裕（大阪大学微生物病研究所）]

Ⅱ． 分類・同定

1．寄生原虫症に関する研究

(1) ペット及び学校飼育ウサギ由来 *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子型

ITS（internal transcribed spacer）領域に基づく Microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子型には I 型、II 型、III 型が知られており、主に I 型はウサギ、II 型はマウス、III 型はイヌから分離されている。ヒトの *E. cuniculi* 感染症は動物由来感染症と考えられており、I 型と III 型が欧米で分離されている。我々はこれまでヒトの生活圏で飼育されている動物における *E. cuniculi* の流行状況を把握するため分子疫学的調査研究を行ってきた。その結果、2 種類の動物（リスザルとウサギ）に本原虫が広範に侵淫していることを明らかにし、リスザルからは遺伝子 III 型の *E. cuniculi* を分離したことを報告した（Parasitol Int 2006; **55**: 159)。今回は、血清抗体陽性のペット及び学校飼育ウサギについて検索を行い、14 頭からの臓器（脳、肺、肝、脾、腎）や尿材料に蛍光染色及び免疫染色で陽性の *Encephalitozoon* 様胞子を検出した。常法通り 16S rRNA 及び ITS 領域を標的とした PCR 法及び direct DNA sequencing 法によって遺伝子タイピングを行ったところ、検出分離された *E. cuniculi* のすべては GTTT の 3 リピート配列を示す遺伝子 I 型に分類されることが分かった。今後、更に亜型についても検討していきたい。
[朝倉登喜子、古屋宏二、宇根有美（麻布大学獣医学部)、森田達志（日本獣医畜産大学)]

(2) *Acanthamoeba* 分離株のミトコンドリア（mt）DNA および 18S rDNA による遺伝子型別

Acanthamoeba 臨床分離株に関して、18S rDNA 遺伝子によるクラスター形成と mtRFLP タイプとの関係を調べた。18S rDNA 分類で臨床株の殆どを占める T4 タイプ は多数のサブクラスターより構成されたが、mtRFLP のタイプは一定のサブクラスターに収束せず、複数の異なるサブクラスターに分散した。即ち、T4 内サブクラスターは複数の mtRFLP タイプより構成されることが示された。その中で JAC/E4 タイプは、その分離株が世界的に分布するにも関わらず、単一の 18S rDNA シークエンスを示すという興味深い結果が示された。以上の結果は、主要な mtRFLP タイプと T4 タイプは各々、*Acanthamoeba* 属の

中の角膜炎に密接に関連した遺伝的集団を特徴付けるものであることが示された。
[八木田健司、泉山信司、小村麻子、亀岡洋祐（独立法人・医薬基盤研究所）、遠藤卓郎]

2．食品由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) 肺吸虫の由来地判別に向けての分子生物学的検討：ヒロクチ肺吸虫を用いての試み

ヒロクチ肺吸虫は本邦には分布しないが、東南アジア諸国では広範な地域に認められ、しかも人体寄生の主要な原因として重要視されている。また本虫は，中国やインドにも分布し，患者発生の報告がある。そこで，タイ，中国，インドの本虫流行地に出掛け、共同研究者と共に野外調査を行なって、本虫のメタセルカリアを得た。これを用いて先ずリボソーム DNA の ITS 2 領域について塩基配列を調べたところ、インド産虫体の配列は，タイ産・中国産との間に 4 塩基の違いを認めた。次にミトコンドリア DNA の *cox1* 遺伝子について調べたところ、タイ産の配列は中国産の配列と 2 塩基あるいは 3 塩基の違いが見られた。各国産のヒロクチ肺吸虫は、塩基配列の相違から由来を特定する事が容易であることを確認した。
[杉山 広、森嶋康之、川中正憲、銭 宝珍（中国･浙江医学科学院）、アチャリア・ラングシルジ（シーナカリンウイロート大・タイ）、シャンティクマール・シン（インド・シッキム医科大学）]

(2) 本邦で水揚げされた魚からの *Anisakis typica* の初めての検出

東シナ海で漁獲されたマサバ（8 尾）を検索したところ、全例から *Anisakis* Type Ⅰと同定される虫体を検出した。1 尾あたりの寄生数は 1 匹から 497 匹（1 尾平均 215 匹・総計 1,718 匹）であった。このうち 153 匹の虫体を選び、リボソーム DNA の ITS 1 領域の塩基配列を基にして、虫種の分子同定を試みた。その結果、152 匹は *Anisakis simplex* と同定された。この 152 匹を同胞種レベルで分類すると、*Anisakis pegreffii* が 149 匹、*A. simplex* sensu stricto が 1 匹で、この他に Hybrid genotype が 2 匹含まれていた。*A. simplex* ではない残りの 1 匹は、*Anisakis typica* と分子同定された。本虫は、わが国で水揚げされた魚からの検出の報告はなく、今回が初めての記録となる。なお、本虫の ITS 1 領域の配列（955 bp）はインドネシアでの登録配列と完全に一致し、フィリピンでの配列とは 1 塩基の相違を認めた。
[梅原梓里、杉山 広、川上 泰（麻布大学環境保健学部）]

(3) 大複殖門条虫と鯨複殖門条虫の分子系統分類　学的研究

ヒトの小腸に寄生する大複殖門条虫 *Diplogonoporus grandis* とコイワシクジラの小腸に寄生する鯨複殖門条虫 *Diplogonoporus balaenopterae* は互いに形態が酷似することから、同一種ではないかと指摘されてきたが、それに対する明確な結論は出ていない。そこで、ヒト患者から駆虫によって得られた大複殖門条虫成虫と調査捕鯨によって北太平洋で捕獲されたコイワシクジラより採取された鯨複殖門条虫成虫を用いて、ミトコンドリアゲノムにコードされる計 36 個の遺伝子の塩基配列解析を行なったところ、同一種であることが確定し、動物命名規約に準じ、大複殖門条虫 *D. grandis* は鯨複殖門条虫 *D. balaenopterae* のシノニムであると結論付けられた。
[山﨑 浩、三澤由美子、中尾 稔（旭川医科大学）、倉持利明（国立科学博物館）、藤瀬良弘（財）・日本鯨類研究所）]

Ⅲ． 生理・生化学・分子生物学

1．食品由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) ヒト、ならびにコイワシクジラから得られた鯨複殖門条虫のミトコンドリアゲノム解析

ヒトの小腸に寄生する大複殖門条虫 *Diplogonoporus grandis* とコイワシクジラの小腸に寄生する鯨複殖門条虫 *D. balaenoptera*e はミトコンドリアゲノム解析によって、同一種であるとこが確定した（本稿 II 2(3) 参照）。本研究では、ヒト、ならびにコイワシクジラから得られた鯨複殖門条虫についてミトコンドリア全ゲノムの解読と比較を行った。その結果、ミトコンドリアゲノムは約 13,700 塩基対からなり、12 個の酸化的リン酸化に関与するタンパク質遺伝子、22 個の tRNA 遺伝子と 2 個の ribosomal ＲＮＡ遺伝子がコードされ、各遺伝子の配列順序は他の条虫類のミトコンドリアゲノム構造と同様であった。
[山﨑 浩、三澤由美子、中尾 稔（旭川医科大学）、倉持利明（国立科学博物館）、藤瀬良弘（財団法人日本鯨類研究所）]

(2) 有鉤嚢虫システインプロテアーゼの in situ における発現様態の組織化学的解析

有鉤嚢虫のカテプシンＬ様システインプロテアーゼ（以下、カテプシンＬ）の細胞内局在性を解明するために、すでに塩基配列が明らかにされた多包条虫のカテプシンＬ遺伝子の塩基配列に基づいて作製したプライマー

を用いて有鉤嚢虫 cDNA を鋳型として、PCR によって全長の有鉤嚢虫カテプシン L 遺伝子を増幅した。さらに、塩基配列から予測したアミノ酸配列に基づいて、2 つの B 細胞エピトープ領域を選び、その領域に対するペプチドを合成し、これをカクテルペプチド抗原としてウサギに免疫してポリクローナル抗体を得た。抗体はさらにカクテルペプチドカラムを用いて精製した。
[山﨑 浩]

2．輸入寄生虫症に関する研究

(1)赤内型熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* の増殖機構の解析-Chemically defined culture medium の作出

P. falciparum の分化増殖を誘導支持している因子およびその増殖因子と相互作用する原虫側の因子との相互作用に焦点をあて増殖機構を解析する目的で、chemically defined medium による *P. falciparum* 培養法の確立を試みた。これまでにヒトおよびウシ血清中の単純脂質分画および一定の構造のタンパク質を用いた無血清培地を開発して実用化してきたが、この単純脂質分画中の有効成分をさらに特定し、化学構造既知の物質から構成される増殖因子を作出した。本原虫の脂質を用いた培養には一定の構造のタンパクが必要である事から、構造の既知である組換えタンパクを使用し chemically defined medium を作製した。Chemically defined medium による *P. falciparum* の増殖は細胞増殖促進因子 GFS やヒト血清添加培養液を用いた場合と同等あるいはそれ以上であった。本法を用いる事によって、*P. falciparum* の増殖および抑制機序の解明が可能になり，それらに関連する因子，遺伝子，および分子を標的とした新規の治療薬の開発に極めて有用であると考えられた。
[朝日博子]

(2) 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が病原性に関与する役割を解明することを目的とし、宿主のコレステロール含量と貪食効率を検討した。コントロールの上皮細胞に CHO 細胞を使用し、コレステロール含量の高い細胞をハムスターの肝実質細胞を使用した結果、赤痢アメーバの貪食効率と宿主細胞のコレステロール量には高い相関が観察された（r=0.97)。このことは赤痢アメーバが組織侵入を開始し、肝臓に定着して膿瘍を形成する現象を説明している。次に細胞内への脂質成分の取り込みは貪食の他に、可溶性脂質の取り込み（エンドサイトーシス様経路）によっても担われている。赤血球の貪食時において filipin の蛍光は貪食開始５分後に前貪食胞上に観察され、EhRab5 との共局在が推測された。そこで EhRab5 優勢変異発現株を用いたところ FITC-dextran の取り込みは優勢変異発現株で阻害されないが、NBD-cholesterol の取込み速度が半分に低下した。よって、赤痢アメーバは可溶性因子（FITC-dextran）を EhRab5 に依存しない経路で取り込むが、コレステロールの取り込みと貪食効率は EhRab5 の機能に依存していることが分かった。以上の結果より、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]

(3) 住血吸虫症における病態の重症化抑制に有用な分子の探索と機能解析

マンソン住血吸虫（*Schistosoma mansoni*） 感染マウスモデルを用いた研究から、病態の重症度は $CD4^+$ T helper（Th）に関連することが明らかにされていることから、特異的 $CD4^+$ Th を刺激誘導する虫卵抗原(SEA)成分をこれまでにいくつか特定し、それらの分子特性、免疫学的特性を明らかにしてきた。しかし住血吸虫感染に伴って顕著に産生され、病態の重症化に関連すると考えられている強い Th2 応答を刺激誘導する因子（分子）は不明であった。今回、さらに SEA 中の 19 kDa 成分が $CD4^+$ Th 刺激抗原として特定できた。この成分は C57BL/6 マウスにおいてよくバランスのとれた Th1/Th2 応答を誘導し、マウス系統により特徴的に異なる免疫応答を誘導した。また内部アミノ酸配列から、この分子は SmVAL26（a venom allergen like protein）であると考えられた。SmVAL は SCP/TAPS gene family に包含され、現在のところ SmVAL1- SmVAL28 の 28 配列が報告され、宿主への侵入時に重要な役割を果たしていると考えられている。本症への密接な関連がそのアミノ酸配列からも推測される。
[朝日博子、Stadecker, M.J.（米国･タフツ大学）]

Ⅳ． 免疫

1．寄生原虫症に関する研究

(1) マウス抗 *Encephalitozoon cuniculi* PTP1 IgE モノクローナル抗体の反応特異性

Microsporidia の極管（polar tube：PT）は本病原体が宿主細胞に侵入感染する際に不可欠な器官である。前回、*E. cuniculi* 極管に対する 3 系統のマウスモノクローナル抗体を作製し、これらは何れも極管を構成する PTP1 上のタンパク質性エピトープを認識していること、また、イムノグロブリン・クラスはすべて IgE であるこ

とを明らかにした。今回はこれら抗体の特異性について分析を進め、*E. hellem* 及び *E. intestinalis* 胞子 PT に対する結合反応性を酵素免疫染色法によって、また *E. hellem* 及び *E. intestinalis* PT の可溶性抗原については SDS-PAGE―immunoblotting 法によって検討したが、属内交差反応性は認められなかった。また、Microsporidia が真菌類に近いとの最近の分子系統樹的研究から、ELISA 法によって *Candida albicans*、*Fusarium moniliforme*、*Eurotium*、*Aspergillus fumigatus*、*Curvularis*、*Aureobasidium pullulans*、*Trichoderma* sp.、*Chaetomium globosum*、*Rhizopus stolonifer* の 9 種類の精製胞子可溶性抗原との結合反応性を検討したが交差性は全く認められなかった。

[古屋宏二、小村麻子、朝倉登喜子、泉山信司、八木田健司、三和 茂（イムノバイオン社）、山野公明・　工藤伸一（北海道立衛生研究所）、高鳥浩介（国立医薬品食品衛生研究所）]

(2) Immunoproteomic 分析による Microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* に対するヒト IgM 抗体の認識部位と結合反応性

前報（Clin Vaccine Immunol 2007; 14: 168）では、マイクロプレート酵素免疫染色法により健常人のおよそ 36%、HIV 陽性者（CD4 細胞数 250/μL 以下）のおよそ 8% の血清に *E. cuniculi* 極管（polar tube: PT）と反応結合する IgM 抗体を検出したことを報告した。今回、このうちの力価の高い健常人血清 24 検体を用いて、１次元 immunoblot 分析による認識部位を検討したところ、主に結合するバンドは PT 由来の 52 kDa バンドであることが判明した。次に NaOH 処理後の 52 kDa バンドへの反応性から、11 例はタンパク質性、3 例は糖質性、10 例はタンパク質性＋糖質性の抗原決定基と反応していることが示唆された。更に二次元電気泳動後の proteomic 分析及び immunoblot 分析から、ヒト抗 *E. cuniculi* PT IgM 抗体が認識する極管タンパク質は PTP1 であることを明らかにした。

[古屋宏二、小村麻子、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）]

V. 検査・診断

1. 寄生原虫症に関する研究

(1)細胞培養法による Microsporidian *Encephalitozoon intestinalis* 胞子の感染価測定法の検討

Encephalitozoon intestinalis は水系感染性、腸管寄生性のミクロスポリジアであり、本原虫の予防・治療のための研究が最近欧米で行われている。我々は *E. intestinalis* 胞子に対する *in vitro* 感受性試験の確立のため、これまで 25 cm^2 フラスコを用いた RK-13 細胞、Vero 細胞などの細胞培養系について検討してきた。今回、BS-C-1 細胞を単層に伸展接着させた 24 穴プレートを利用した胞子接種感染実験系について適当な感染価が得られるか否か、細胞内感染の判定法を含め基礎的検討を行った。その結果、胞子接種後 6 日間の培養条件で産生されてきた胞子集族（spore foci）の検出に従来のギムザ染色の代わりに免疫染色を使うなどの改良工夫によって、3.5―4.5（対数）の TC ID_{50} 値が得られることが示された。D 値測定が比較的容易なことから、本法は *E. intestinalis* 胞子に対する抗原虫剤等の効果判定に有用と考えられた。

[朝倉登喜子、古屋宏二、泉山信司、八木田健司]

(2) 抗 *Encephalitozoon cuniculi* ポリクローナル抗体のビオチン化とその応用に関する検討

ビオチン化抗体（B-Ab）を利用したストレプトアビジン-HRP 複合体（SA-PO）による抗原あるいは抗体の検出は高感度である。生物材料あるいは環境材料中 *E. cuniculi* 胞子の高感度検出への応用目的のため、我々は自然感染ウサギのプール血清から γ-グロブリンを分離し、ビオチンを標識後、抗 *E. cuniculi* ポリクローナル抗体を affinity 精製した。算定された抗体１分子あたりのビオチン結合数は 5 であった。次に血清抗体陽性のペットウサギからの臓器抽出液を使って本 B-Ab の免疫反応性を検討した。適当濃度の B-Ab をペットウサギの臓器トリプシン消化物あるいは未消化残渣に添加し一次反応を起こさせ、続いて二次反応で標識された SA-PO を AEC 基質にて発色させた。顕微鏡下で、少数寄生例では分散状態の抗原抗体反応単個胞子として、多数寄生例では数個あるいは十数個の胞子の抗原抗体反応凝集物として観察された。最終的に免疫組織学的応用に向けて、特異性・感度・鮮明度等について更に検討していきたい。

[朝倉登喜子、古屋宏二、泉山信司、杉山 広]

(3) 免疫クロマト法による原因不明下痢症例からの原虫の検出

感染症法で第 5 類に定められるクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症の統計は、現行の検査法では原虫が検査対象とされにくい状況が背景にあり、実際の患者発生を反映しているとは言い難い。そこでより簡便迅速に患者発生を知る手段として免疫クロマト法（ImmunoCard STAT!, Meridian）の有用性を検討した。

感染症発生動向調査で感染性胃腸炎と診断され、原因不明検体（病原体検査でウイルス及び細菌のいずれも検出されなかったもの）となった227検体を調べ、クリプトスポリジウム陽性2例およびジアルジア陽性1例を検出した。原虫の検出率としては1.3%（3/227）であった。10歳以下の低年齢層の原因不明下痢症の中には原虫性のものが存在することが示され、ウイルスや細菌検査と同時に本法による原虫検査を行うことで、より迅速かつ的確に患者発生が感知可能であると考えられた。
[八木田健司、浅野由紀子（愛媛県衛生研究所）]

(4) 免疫クロマト法の原虫種および遺伝型に関する検出特性

クリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症における免疫クロマト検査法の有用性を明らかにするために、原虫の種類および遺伝型と反応性の関係を調べた。ImmunoCard STAT!（Meridian）について検討した結果、クリプトスポリジウムは*Cryptosporidium parvum*（genotype 1=*C. hominis*ならびにgenotype 2）および*C. meleagridis*が、またジアルジアは*Giardia lamblia*のassemblage AおよびBが検出可能であった。疫学的には殆どのヒト感染例がこれらの種類および遺伝型に起因するものであることから、Point of Care Test（POCT）として考える上で本検査キットの検出特性はその必要条件をみたすものと考えられた。
[八木田健司、浅野由紀子（愛媛県衛生研究所）]

(5) 環境水中の原虫類検出を目的としたLAMP法の検討

水道水中のクリプトスポリジウム等対策指針では、水中のクリプトスポリジウム等原虫類の検出法として、試料水を濃縮、精製後に蛍光抗体染色を行い、顕微鏡観察により行うことが示されている。しかし、顕微鏡観察には形態学的な知識と熟練が必要であり、状況によっては検査に長時間かかる等の問題が指摘されている。当該研究ではこれまで簡便・迅速な検査法を目指して、クリプトスポリジウムおよびジアルジアを対象としたLAMP法を開発してきたが、LAMP法の実用性を評価するために、種々の環境水（河川水、湖沼水、湧水等）を用いて原虫類を検査した。検鏡法による結果と比較し、LAMP法によるジアルジアの検出力が顕微鏡に比べて同等以上であるとの結果を得た。
[猪又明子(東京都健康安全研究センター)、百田 隆祥(栄研化学（株）生物化学研究所)、大谷喜一郎（神奈川県内広域水道企業団)、泉山信司、遠藤卓郎]

(6) RT-LAMPによるクリプトスポリジウムの検出

クリプトスポリジウムの検出は微分顕微鏡による形態観察を基本としているが、より簡便と思われる遺伝子検査法に期待が寄せられている。ところがDNAを標的とした検査では100万倍程度の濃縮が必要で、かつ、試料中に1個のオーシストを検出するためには1回の反応に規定量の試料水全量を使用する必要がある。この問題の解消には試験水量を増やすか核酸試験の検出感度向上が考えられるが、前者は労力の増大が著しく、後者方法による改善が必要であった。当該研究ではrRNAの逆転写反応による鋳型DNAの増幅に着目し、2ないし3桁程度の検出感度向上を確認した。
[泉山信司、遠藤卓郎]

(7) 粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮保存装置の開発

クリプトスポリジウムは強い塩素耐性を有することから水系感染が問題となるが、潜伏期間は中央値が6日で、4日～8日程度と長いことから、集団感染が疑われた場合に速やかに汚染源の特定ができる検水システムの構築を推進している。水道における耐塩素性病原微生物対策にかかる指針では「浄水を毎日1回 20L 採取し、水または採水した水から得られる検水試料を14日間保存する」ことを勧奨している。その一方、14日分の試料水280Lを冷暗所に貯め置くのは容易ではなく、これに代替する方法が要望されていた。そこで、当該研究では90%以上のオーシスト回収率が得られる小型の使い捨てプラスチック容器を用いたケーキろ過装置を開発した。今後、実用化に向けた改良を行なうとともに検水システムの普及に努める。
[泉山信司、大内一敏（東洋濾紙（株）技術センター)、遠藤卓郎]

(8) 寄生原虫類のPCR検出に使用する陽性対照の開発

PCR法は高感度かつ容易な手法として実験のみならず、検査診断に広く用いられるようになったが、実際の利用に当たっては高感度ゆえにPCR産物の汚染による偽陽性がしばしば問題となる。特に陽性対照として用いる鋳型は十分な量があり、多量な反応産物を確実に作りつづけることから、陽性対照を由来とした偽陽性の確率は必然的に高くなる。訓練や設備の充実により問題発生は低減されるが、陽性対照の汚染の恐れがあることに変わりは無い。そこで、万一陽性対照の汚染による偽陽性の反応

が生じても、偽陽性であることが直ちに判別できるよう、陽性対照の配列を改変し利用する方法を考案した。具体的には陽性対照（鋳型 DNA）によって得られる増幅産物は真の増幅産物のサイズと異なること、制限酵素切断部位が導入されていること、改変部位に署名となる配列を組み込むことを設計の基本とした。[泉山信司、遠藤卓郎]

(9) 社会不安を誘導することを目的とした故意の汚染に使用される可能性のある原虫類対策に関する研究

社会不安を誘導することを目的として使用される可能性のある原虫類として、原発性アメーバ性髄膜脳炎（Primary Amoebic Meningoencephalitis）の起因アメーバ *Naegleria fowleri* の管理は重要である。*N. fowleri* は自由生活性アメーバで、高温の水環境に適応したアメーバとして知られている。患者は世界各地から報告されているものの、研究用に確立されたアメーバ株は限られている。自然界からのアメーバの分離、培地への順化など株の確立には相当の専門知識が必要で、不穏当な目的に使用されるとすれば既存の株が使われる可能性が高いと考えられる。そこで、病原体の traceability を高めるために国内外の研究機関に保存・研究使用されている *N. fowleri* 主要株およびわが国の分離株の遺伝子解析を行い、それぞれの特異配列を明らかとした。あわせて、昨年度より準備してきたアメーバ性脳炎の鑑別診断法の充実に努めた。これまでに、病理組織標本上で *N. fowleri* とそれ以外の 3 種（*Acanthamoeba*、*Balamuthia*、*Entamoeba*）のアメーバの鑑別診断が可能となっている。
[小村麻子、山﨑 浩、泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎]

2．動物・食品由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) マルチプレックス PCR 法によるエキノコックス属条虫鑑別法の開発

犬のエキノコックス症（4 類）が届け出られる場合、虫卵検査によるテニア科条虫卵の検出が端緒となることが多い。しかしながら、エキノコックス属条虫の虫卵は他のテニア科条虫の虫卵と形態的に類似し、形態学的観察のみでは鑑別することができず、確定診断は遺伝子検査によらねばならない。この遺伝子検査として、これまでは nested PCR 法あるいは PCR-RFLP 法が主に用いられてきた。ところが、これらは 2 段階以上の反応を行わねばならないため、迅速な鑑別診断が行えるとは言いがたい。そこでミトコンドリアゲノムでコードされる *cox1* 領域を標的部位とするマルチプレックス PCR 法による分子同定の開発を試みた。
[森嶋康之、杉山 広、川中正憲、山﨑 浩]

(2) ミスマッチ・プライマーを用いた *Anisakis simplex* 同胞種の迅速鑑別

アニサキス症の主要原因虫である *A. simplex* は、同胞種、すなわち *A. simplex* sensu stricto（以下 As），および *A. pegreffii*（以下 Ap）などから構成される事が明らかにされてきた。両者の鑑別には，コンセンサス・プライマーで PCR 増幅した ITS 領域を制限酵素処理する方法（PCR-RFLP 法）が広く用いられてきた。そこで、種特異的プライマーを用いた PCR で、より迅速に両者を鑑別できないか検討した。As と Ap の ITS 1 領域には，そのほぼ中央部の 16 bp 離れた位置に 2 箇所、塩基の置換を認める。この 2 箇所の置換を共に反映させた種特異的プライマーをコンセンサス・プライマーと組み合わせて PCR 増幅した。しかしながら、標的種以外の DNA をテンプレートとした場合でも、増幅が見られた。そこで、種特異的プライマーの 3’末端の隣の塩基を更に意図的に置換したミスマッチ・プライマーを構築し、PCR の特異性を下げて検討した。その結果、各プライマーの標的種のみから PCR 産物が増幅され、標的種以外からは増幅がないという結果を得た。As と Ap のミスマッチ・プライマーを同時に用いるマルチプレックス PCR の系を構築し、更に迅速・簡便な鑑別法の確立を目指した検討を進めている。
[梅原梓里、杉山 広、川上 泰（麻布大学環境保健学部）]

(3) *Diphyllobothrium* 属条虫の遺伝子鑑別法の開発

ヒトの裂頭条虫症の原因となる種類として、わが国では日本海裂頭条虫 *D. nihonkaiense*、広節裂頭条虫 *D. latum*、太平洋裂頭条虫 *D. pacificum* などが知られているが、これらの条虫類を形態学的に鑑別することは容易ではない。そこで、これら裂頭条虫を正確に同定するために、ミトコンドリア DNA 解析に基づいた遺伝子鑑別法を開発するためには多くの裂頭条虫標本の収集を行う必要があるため、国内外の研究者との協力体制を構築した。
[山﨑 浩、長谷川英男（大分大学医学部）、倉持利明（国立科学博物館）、荒木 潤（目黒寄生虫館）、Hernan Sagua（チリ・アントファガスタ大学医学部）]

(4) 病理組織薄切標本を用いた寄生虫の遺伝子鑑別

摘出病巣部の病理組織切片中にしばしば認められる寄生虫を形態学的に鑑別することは困難な場合がある。そこで、臨床検体としての病理組織標本を用いて寄生虫種を正確に同定するための種々の遺伝子解析法を検討している。病理組織標本はホルマリン固定されていることが

ほとんどであるので、DNA が損傷を受け、したがって数百 bp 程度の短い遺伝子断片について鑑別法を検討した。実際、アニサキス幼虫、顎口虫幼虫、単包虫の種の鑑別法を確立した。
[山﨑 浩、杉山 広、森嶋康之、梅原梓里]

3．輸入寄生虫症に関する研究

(1) マラリア迅速診断キットの診断精度に関する研究

現在、アジア・太平洋地域において、マラリア流行の中心となっている低原虫密度の三日熱マラリアの検出に、どの程度マラリア迅速診断キット(Rapid diagnostic tests, RDTs)が利用できるか検討した。現在、わが国で入手しやすく利用されることが多い2種類のRDTsによる診断結果を顕微鏡的検査による結果と比較したが、熱帯熱マラリアでは 2 種類のキットの結果は一致した。一方、三日熱マラリアでは 2 種類のキットの結果は一致しなかった。検出限界と原虫密度については、熱帯熱マラリアの場合、標準的 RDTs により、原虫密度 1,000／μl を超える例は全例検出できたものの、100／μl に満たない例では、約半数の検出にとどまった。一方、三日熱マラリアに関しては、原虫密度 100／μl 以上の例について全例検出できる RDTs がある一方で、原虫密度の高低に関わらず、検出率が 30%程度にとどまるものもあり、キットによる違いが大きかった。
[大前比呂思、亀井喜世子（平成帝京大学）]

(2) ヒト住血吸虫症の診断法の開発

住血吸虫症は長期にわたる経過をたどり慢性化し、また流行地では再感染を繰り返すことから感染状況の把握が困難で疾病コントロールの障害になっている。尿を用いた簡便、迅速かつ非侵襲的な診断法の開発を目して、日本住血吸虫感染者の尿中に検出される特異抗体の特徴を明らかにした。抗原として日本住血吸虫(*Schistosoma japonicum*) 成虫(SWAP)および虫卵(SEA)の可溶性粗抗原を用いて ELISA 法で行った。その結果、特に、高い anti-SWAP および anti- SEA IgG 抗体、低い anti-SEA IgA 抗体が検出された。また、15 歳以下の感染者に高い anti-SWAP および anti-SEA IgM 抗体が検出された。糞便中の虫卵数(EPG) とはいずれの抗体クラスとも相関を認めなかった。また、尿中 IgG 抗体は投薬後比較的早期に低下することが判明した。
[朝日博子、大前比呂思、田邊将信(慶応義塾大学医学部)、山下隆夫（山形県立保健医療大学)、太田伸生（東京医科歯科大学大学院）]

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構築に関してフイールドモデル試験を行った。下水処理場の最終沈殿池に貝飼育槽を設置し、オーシストと同様に浮遊性粒子として存在する濁質及および微生物に関して、水の濁度および密度の変動を調べた。1 日のトラフ流入水量のおよそ 50%が貝によりろ過されるというモデルでは、最低限のろ過能力が発揮される水温 15℃前後となる 10～1 月の低水温期において濁度が 20～30%減少し、また水中の微生物類の密度に関しては 40～60%の減少が認められ、本水浄化システムによりオーシストの量的低減化の可能性が示された。生物機能を利用した環境調和型の浄化システムのひとつとして、小～中規模の下水処理場においてその有効性が発揮されると考えられた。
[泉 敏彦（北海道立衛生研究所)、八木田健司]

2．クロラミンによるアメーバの消毒

浴場施設におけるレジオネラ問題の対策として、浴槽水の塩素消毒が緊急避難的措置として指導されているが、高 pH の温泉等では有効ではなく、別の消毒方法が求められていた。当該研究ではクロラミン消毒に着目し、レジオネラ属菌の宿主アメーバに対する効果を評価した。pH 9 で 35℃の時、*Naegleria* 属アメーバは Ct 値 4,000 程度で 4-log 以上の不活化を得た。高 pH になるとアメーバに対する効果は低下したが、接触時間を確保することにより栄養型のアメーバに対する消毒が可能であり、増殖の抑制も期待される。
[泉山信司、小村麻子、八木田健司、遠藤卓郎]

3．温暖化に伴うマラリア再流行の可能性に関する研究

気温上昇によりマラリアの流行が拡大するというモデルは、温暖化に伴いマラリア媒介蚊の生息できる標高限界が上昇していくという、アフリカ高地での経験により作成されたが、他の地域に当てはめる場合、大きな修正を迫られる。熱帯熱マラリア原虫の媒介蚊であるコガタハマダラカは、日本でも八重山群島に生息しているが、温暖化に伴ってその生息範囲が拡大する傾向はみられない。しかし、このまま温暖化が進み降水量も変化すれば、現在の生息地において、しばらくの間幼虫密度は増加していくと推測される。そこで、1950 年代に八重山諸島でおきたマラリア流行を数理モデル化して検討したところ、現在のコガタハマダラカ生息地における、小規模なマラリア拡大の潜在的危険性が確認された。しかし、温暖化

が進んだとしても、熱帯熱マラリア原虫が日本に侵入・定着して再流行を起こすには、色々な条件が重なる必要がある。その可能性は非常に低いうえ、適切な対策をとれば、その流行は速やかに抑えられることが、モデル上も示された。
[大前比呂思、石川洋文（岡山大学大学院）]

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

衛生微生物技術協議会 第 28 回研究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。各種寄生虫症の血清･遺伝子診断､赤痢アメーバ症の現状と検査体制を中心に議論した。
[大前比呂思、山崎 浩、八木田健司]

2．原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関（医療機関、地方衛生研究所等）の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。[八木田健司、泉山信司]

3．平成 19 年度依頼検査

(1) 血清を用いた寄生虫抗体検査

線虫 8 種（ドロレス顎口虫、犬回虫、犬鉤虫、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫)、条虫 4 種（有鉤嚢虫、マンソン弧虫、多包虫、単包虫)、吸虫 5 種（ウェステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、日本住血吸虫、マンソン住血吸虫）の抗原を用いた抗体検査が可能であり、通常は酵素抗体法を実施しているが、寄生虫症によってはドットブロット、ウエスタンブロット（有鉤嚢虫症、エキノコックス症)、あるいは薄切切片標本を用いた免疫組織化学的検査（旋尾線虫症）を行っている。平成 19 年度には、計 38 件(36 症例)の依頼検査があり、うち 7 症例で特異抗体が検出された。内訳は顎口虫症(2 例)、　イヌ・ネコ回虫症(1 例)、 アニサキス症 (1 例)、マンソン弧虫症(1 例)、肺吸虫症 (2 例)であった。
[三澤由美子、杉山 広、森嶋康之、川中正憲、山崎　浩]

(2) 遺伝子検査による寄生虫鑑別

自然排出あるいは駆虫後に得られた虫体、あるいはパラフィン包埋切片内に見出された虫体の同定依頼があった。鑑別はミトコンドリア DNA あるいはリボソーム RNA 遺伝子 ITS 領域の塩基配列解析結果に基づいて行った。平成 19 年度には計 11 件の依頼検査があり、内訳は日本海裂頭条虫 (5 例)、無鉤条虫 (3 例)、単包条虫 (1 例)、二核顎口虫 (1 例)、アニサキス(1 例)であった。
[三澤由美子、杉山 広、梅原梓里、森嶋康之、山崎 浩]

国際協力関係業務

1．WPRO の Neglected Tropical Diseases (NTDs) 対策への貢献

WHO は、住血吸虫や消化管寄生蠕虫など、世界的にみて感染者が多いにも関わらず、今まであまり注目を集めてこなかった感染症を　顧みられなかった感染症 (Neglected Tropical Diseases, NTDs)とし、最近その対策に力を入れている。平成 19 年 12 月 5, 6, 7 日、主に NTDs 対策への実用的研究の活性化を目指して、WPRO が主催した Informal consultation for the regional research strategic plan in communicable diseases, including NTDs がマニラで開かれたので、WHO 短期専門家として招聘され参加した。多くの対象感染症で、治療的介入を中心とした成果があがる一方、軽症者が増加することによって、従来の疫学的指標の限界が明らかになっている現状を指摘した。さらに、今後のモニタリング手法に対する研究の重要性を確認して、他の参加者とともに報告書を作成した。
[大前比呂思]

2．アジアにおけるマラリアの疫学と対策に関する共同研究と情報共有の促進

平成 17 年度より、アジア・太平洋地域における、マラリア研究や対策のネットワーク作りを進めてきたが、その成果を確認し、次のステップにつなげるため、平成 19 年 11 月末、感染研において国際会議を行った。日本以外に、中国、フィリピン、タイ、カンボジア、ソロモン諸島の 5 カ国から 6 研究機関､さらに WPRO の担当者の出席を得た。WPRO では、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が多く、既存の疫学的指標では、流行の実態がわからないことも多い。また隣接した国であっても、島嶼部と大陸部では、マラリア原虫の変異速度も全く異なることが、分子疫学的共同研究で判明した。今後は、治療的介入を進める一方、マラリア流行と対策評価が的確にできるような分子疫学的指標の開発や標準化も望まれる。
[大前比呂思]

3．メコン川流域における住血吸虫症対策への協力

ラオス・カンボジア国境付近のメコン川中流域に拡がるメコン住血吸虫症対策に協力した。カンボジアの浸淫地であるストントレイン省とクラチエ省のうち、クラチエ省では、プラジカンテルの集団治療の継続の結果、2004年以降新規感染者がゼロの状態が続いている。しかし、カンボジアのメコン川中流域で採取される媒介貝(*Neotricula aperta*)のγ-strainは、メコン住血吸虫のラオス、コーン島strainに対しても高い感染性を持っている。今後、メコン川の開発が進み、カンボジア、ラオス間で国境を越えたヒトの往来が盛んになると、ラオスからのメコン住血吸虫の流入が問題になる可能性がある。
[大前比呂思、松田 肇・千種雄一（獨協医科大学）]

研修業務

1. 平成19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。その他、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、遠藤卓郎]
2. 中国アカデミアと国立保健医療科学院水道工学部の要請に基づき、Hongyan Li（中国アカデミア）に対して水道源水等からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の講義実習を行った。
[八木田健司、黒木敏郎（神奈川衛研）、泉山信司、遠藤卓郎]
3. JICA中米血液スクリーニングコースの受講生に対して、LAMP法による遺伝子検査法の講義と実演を行った。
[大前比呂思、泉山信司、布施 晃(血液・安全性研究部)]
4. 平成19年度JICA集団研修「国際寄生虫予防指導者セミナー」ならびに韓国国立保健社会研究院保健医療研究本部 食品栄養対策チームに対して「わが国における寄生虫感染症の現状について」セミナーを行った
[山崎 浩]
5. 厚生労働科学研究費補助金(地域健康危機管理研究事業)「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究（主任研究者：倉文明)」の分担・協力研究者に対して、レジオネラ属菌DNA抽出法とqPCRならびにLAMPによる遺伝子定量試験法の実習を行った。
[前川純子（細菌第一部)、倉 文明（細菌第一部)、泉山信司、遠藤卓郎]
6. 平成19年度希少感染症診断技術研修会において、わが国におけるクリプトスポリジウムの発生状況、並びに検査法について講義した。
[八木田健司、泉山信司、古屋宏二]
7. アライグマ糞便を材料とした虫卵検査の研修を行った：地研担当者（横須賀市）
[川中正憲、森嶋康之、杉山 広、山崎 浩]
8. アライグマ回虫卵とタヌキ回虫卵との鑑別の為の検査法の実習を行った：地研担当者（横須賀市）
[川中正憲、森嶋康之、杉山 広、山崎 浩]
9. 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラムに協力して、「臨床や公衆衛生の現場で問題となる寄生虫症の考え方」に関する研修を行った。 [大前比呂思]
10. 国際協力機構（JICA）の中南米向け研修コース、輸血血液の安全性に協力して、「Malaria and blood donor」に関する研修と実習を行った。
[大前比呂思、泉山信二]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Furuya K., Omura M., Kudo S., Sugiura W., Azuma H. Recognition profiles of microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tube protein 1 with human immunoglobulin M antibodies. Parasite Immunol., **30:** 13-21, 2008.
2) Kuroki T., Izumiyama S., Yagita K., Une Y., Hayashidani H., Kuroo M., Mori A., Moriguchi H., Toriba M., Ishibashi T., Endo T. Occurrence of *Cryptosporidium* sp. in snakes in Japan. Parasitol. Res., **102:** 2008 (in press).
3) Sugiyama H., Morishima Y., Binchai S., Rangsiruji A. Molecular discrimination between *Paragonimus heterotremus* and two forms of *P. westermani* occurring in Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **38**(Suppl 1)**:** 2008 (in press).
4) Umehara A., Kawakami Y., Araki J., Uchida A., Sugiyama H. Molecular analysis of Japanese *Anisakis simplex* worms. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **38**(Suppl 1)**:** 2008 (in press).
5) Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Sako Y., Ito A. Significance of molecular diagnosis for cestode zoonoses using histopathological specimens. Trop. Med. Health, **35:** 307-321, 2007.
6) Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Sako Y., Ito A. Mitochondrial DNA diagnosis for cestode zoonoses: application to formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **38**(Suppl 1)**:** 166-174, 2007.

7) Sako Y., Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Ito A. Cloning and characterization of cathepsin L-like peptidases of *Echinococcus multilocularis* metacestodes. Mol. Biochem. Parasitol., **37:** 181-189, 2007.

8) Nakao M., Abmed D., Yamasaki H., Ito A. Mitochondrial genomes of the human broad tapeworms *Diphyllobothrium latum* and *Diphyllobothrium nihonkaiense* (Cestoda: Diphyllobothriidae). Parasitol. Res., **101:** 233-236, 2007.

9) Narankhajid M., Abmed D., Wandra T., Tsogtsaikhan S., Purevdori I., Yamasaki H., Sako Y., Nakao M., Sato M. O., Nakaya K., Ito A. Taeniasis in Mongolia, 2002-2006. Am. J. Trop. Med. Hyg., **77:** 342-346, 2007.

10) Anantaphruti M.T., Yamasaki H., Nakao M., Waikagul J., Watthanakulpanich D., Nuamtanong S., Maipanich W., Pubampen S., Sanguankiat S., Muennoo C., Nakaya K., Sato M.O., Sako Y., Okamoto M., Ito A. Sympatric occurrence of *Taenia solium, T. saginata,* and *T. asiatica,* Thailand. Emerg. Infect. Dis., **13:** 1413-1416, 2007.

11) Ishikawa E., Komatsu Y., Kikuchi K., Yamasaki H., Kimura H., Osuka S., Tsurubuchi T., Ito A., Matsumura A. Neurocysticercosis as solitary parenchymal lesion confirmed by mitochondrial deoxyribonucleic acid sequence analysis. Neurol. Medico-Chirurg., **47:** 40-44, 2007.

12) Okamoto M., Nakao M., Tachi E., Sako Y., Sato O. M., Yamasaki H., Nakaya K., Ito A. Asian *Taenia*: species or subspecies? Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **38**(Suppl 1): 125-130, 2007.

13) Anantaphruti M.T., Waikagul J., Yamasaki H., Ito A. Cysticercosis and Taeniasis in Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **38**(Suppl 1): 151-158, 2007.

14) Ikuta K., Torimoto Y., Inamura J., Shindo M., Sato R., Kawamoto F., Yamasaki H., Kohgo Y. A case of imported tertian malaria occurred despite prophylaxis by mefloquine in East Timor. J. Brit. Travel Health Assoc., **10:** 50-52, 2007.

15) Inoue T., Nonaka N., Mizuno A., Morishima Y., Sato H., Katakura K., Oku Y. Mitochondrial DNA phylogeography of the red fox (*Vulpes vulpes*) in northern Japan. Zool. Sci. **24:** 1178-1186, 2007.

16) Yu S.H., Wang H., Wu X.H., Ma X., Liu P.Y., Liu Y.F., Zhao Y.M., Morishima Y., Kawanaka M. Cystic and alveolar echinococcosis: an epidemiological survey in a Tibetan population in southeast Qinghai, China. Jpn. J. Infect. Dis., **61:** 242-246, 2008.

17) Saito-Nakano Y., Mitra B.N., Nakada-Tsukui K., Sato D., Nozaki T. Two Rab7 isotypes, *Eh*Rab7A and *Eh*Rab7B, play distinct roles in biogenesis of lysosomes and phagosomes in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Cell. Microbiol., **9:** 1796-1808, 2007.

18) Mitra B.N., Saito-Nakano Y., Nakada-Tsukui K., Sato D., Nozaki T. Rab11B small GTPase regulates secretion of cysteine proteases in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Cell. Microbiol., **9:** 2112-2125, 2007.

19) Clark C.G., Hofer M., Alsmark U.C.M., Saito-Nakano Y., Ali V., Marion S., Weber C., Mukherjee C., Bruchhaus I., Tannich E., Leippe M., Sicheritz-Ponten T., Foster P.G., Noel C.J., Hirt R.P., Embley T.M., Samuelson J., Gilchrist C.A., Mann B.J., Singh U., Ackers J.P., Bhattacharya S., Bhattacharya A., Lohia A., Guillen N., Duchene M., Nozaki T., Hall N. Structure and content of the *Entamoeba histolytica* genome. Adv. Parasitol., **65:** 51-190, 2007.

20) Tanabe K., Sakihama N., Walliker D., Babiker H., Abdel-Muhsin A.M., Bakote' e B., Ohmae H., Arisue N., Horii T., Rooth I., Farner A., Bjorkman A., Ranford-Cartwright L. Allelic dimorphism-associated restriction of recombination in *Plasmodium falciparum* msp1. Gene, **397:** 153-160, 2007.

21) Shimada M., Kato-Hayashi N., Chigusa Y., Nakamura S., Ohmae H., Sinuon M., Socheat D., Kitikoon V., Matsuda H. High susceptibility of *Neotricula aperta* gamma-strain from Krakor and Sdau in Cambodia to *Schistosoma mekongi* from Khong Island in Laos. Parasitol. Int., **56:** 157-160, 2007.

2. 和文発表

1) 遠藤卓郎, 黒木俊郎, 泉山信司.「原虫・寄生虫－クリプトスポリジウム、ジアルジア」、食中毒予防必携第2版, (渡邉治雄 他 編), (社) 日本食品衛生協会,

pp. 268-279, 2007.
2) 遠藤卓郎, 八木田健司.「原虫・寄生虫－赤痢アメーバ」、食中毒予防必携　第2版, (渡邉治雄 他 編), （社）日本食品衛生協会, pp. 279-285, 2007.
3) 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:** 148-152, 2007.
4) 遠藤卓郎, 泉山信司, 八木田健司. 生活用水のアメーバ汚染. 化学療法の領域, **23:** 579-582, 2007.
5) 津田雅由, 峯 龍太郎, 喜友名正也, 山﨑 浩,　伊藤 亮. 臀部の皮下、筋層に多発した石灰化病変を有する有鉤嚢虫症の１例. 日本形成外科学会誌, **27:** 381-385, 2007.
6) 西村優子, 山口聡子, 佐原卓夫, 中崎康代, 鶴田せつ子, 藤森 勲, 記野秀人, 山﨑 浩, 中尾 稔,　伊藤 亮, 倉持利明. 遺伝子解析で確定診断された腸管条虫症の2例.　Clin. Parasitol., **18:** 46-48, 2007.
7) 村田知香代, 猪浦一人, 鈴木光江, 関口久男,　宮内優太, 並木 薫, 成富琢磨, 野登はるか. 片山 修, 山本徳栄, 近 真理奈, 八木欣平, 山﨑 浩,　荒木 潤. 裂頭条虫症の一例. Clin. Parasitol., **18:** 69-71, 2007.
8) 山本雅大, 徳差良彦, 山﨑 浩, 唐崎秀則, 石崎　彰, 葛西眞一.　腸管穿孔をきたした腸管赤痢アメーバ症の１例. 診断病理, **24:** 233-235, 2007.
9) 杉山 広. イノシシ肉を生で食べて感染する肺吸虫. 狩猟界, **51:** 88-91, 2007.
10) 杉山 広, 森嶋康之, 荒川京子, 木白俊哉, 川中正憲. 旋尾線虫をめぐる新しい展開. 寄生虫分類形態談話会会報, **25:** 4-7, 2007.
11) 杉山 広, アチャリア・ラングシルジ, シャンティクマール・シン. インドの肺吸虫：スクリアビン肺吸虫およびヒロクチ肺吸虫の形態観察と分子同定. 獣医寄生虫学会誌, **6:** 30, 2007.
12) 杉山 広, 小島荘明. アニサキス幼虫・旋尾線虫X型幼虫･旋毛虫･肺吸虫. 食中毒予防必携（第2版）, (渡邉治雄 他 編), 日本食品衛生協会, pp. 297-305, pp. 319-324, 2007.
13) 杉山 広, 川中正憲. 回虫. 食中毒予防必携 第2版, (渡邉治雄 他 編), 日本食品衛生協会, pp. 331-334, 2007.
14) 川中正憲. 人獣共通感染症の今日的な問題と取り組み、エキノコックス、JVPA DIGEST、(日本動物用医薬品協会会報、創立60周年記念特集号) **31:** 66-71, 2008.
15) 大前比呂思, 小島荘明.「原虫・寄生虫－顎口虫、横川吸虫と肝吸虫、日本海亀裂頭条虫と広節裂頭条虫、マンソン裂頭条虫、有鉤条虫と無鉤条虫」、食中毒予防必携　第2版, (渡邉治雄 他 編), （社）日本食品衛生協会, pp. 305-318, pp. 325-331, 2007.
16) 長谷山路夫, 飯塚信二, 大前比呂思, 津田良夫. 成田空港に到着する国際航空機内ならびに空港区域における蚊の採集. Med. Entomol. Zool., **58**: 191-197, 2007.
17) 大前比呂思, 亀井喜世子, 中澤 港, Bernard Bokote' e. マラリア対策の進捗による感染状況の変化とフィールドでの迅速診断キットの限界. Clin. Parasitol., **18:** 127-130, 2007.
18) 三浦彰子, 新妻 淳, 大前比呂思. マラリア感染蚊からの効率的な遺伝子検出の検討. 日本検疫医学会誌, **9:** 118-122, 2007.

Ⅱ学会発表

1. 国際学会

1) Endo T. What is learned from water-related outbreak of cryptosporidiosis – sign phenomenon and oocyst monitoring. Japan-US governmental conference on drinking water quality management and wastewater control. January, 2007, Okinawa, Japan
2) Yagita K., Izumiyama S., Omura M., Kameoka Y., EndoT. Genotyping of *Acanthamoeba* strains based on mitochondrial DNA RFLPs and 18S rDNA sequences. XIIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae (FLAM 2007), 27-30 Aug., 2007, Saitama, Japan
3) Omura M., Furushima-Shimogawara R., Yagita K., Izumiyama S., Endo T. 2D-Page protein profiles of pathogenic and non-pathogenic *Naegleria* species (II). XIIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae (FLAM 2007), 27-30 Aug., 2007, Saitama, Japan
4) Natividad F. F., Buerano C. C., Bon Siong R. L., Inovejas S.A.B., Bacani D. B., Izumiyama S., Yagita K., Matias R. R., Endo T. Characterization and identification of various *Acanthamoeba* isolates from the Philippines. XIIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-living Amoebae (FLAM 2007), 27-30 Aug., 2007, Saitama, Japan
5) Buerano M. T., Gonzales T., Inovejas S.A.B.,

Yagita K., Izumiyama S., Matias R. R. Endo T., Natividad F. F. Occurrence of *Acanthamoeba* spp. in the nasal cavity of selected human populations in Metro Manila, Philippines Corazon C. XIIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-living Amoebae (FLAM 2007), 27-30 Aug., 2007, Saitama, Japan

6) Suzuki-Hashimoto A., Amemura-Maekawa J., Kura F., Chang B., Izumiyama S., Ichinose M., Watanabe H., Endo T. The surveillance of *Legionella* from cooling towers between 2001 and 2006 in Japan. The 23rd Meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI), June, 2007, Stockholm, Sweden
7) Kura F., Amemura-Maekawa J., Suzuki-Hashimoto A., Chang B., Izumiyama S., Ichinose M., Endo T., Watanabe H. Surveillance of *Legionella* isolates from bathtub water in Japan: A increase of the rate of *Legionella pneumophila* serogroup 1 among *Legionella* isolates. The 23rd meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI), June, 2007, Stockholm, Sweden
8) Qian B-Z., Sugiyama H., Waikagul J., Zhu, Z-H. *Paragonimus* in Zhejiang, China: Morphology, Molecular Biology and Diagnosis. The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene Centenary Conference, 13-15 Sep., 2007, London, UK
9) Sugiyama H., Morishima Y., Binchai S., Rangsiruji A. Molecular discrimination between *Paragonimus heterotremus* and two forms of *P. westermani* occurring in Thailand. Joint International Tropical Medicine Meeting 2007, 29-30 Nov., 2007, Bangkok, Thailand
10) Umehara A., Kawakami Y., Araki J., Uchida A., Sugiyama H. Molecular analysis of *Anisakis simplex* isolated from Japan. Joint International Tropical Medicine Meeting 2007, 29-30 Nov., 2007, Bangkok, Thailand
11) Morishima Y. PCR technology applied in differentiating taeniid species. Seminar on epidemiology and control of echinococcosis, 12-14 Dec., 2007, Shanghai, China
12) Sugiyama H. Pathological findings observed in animals infected with *Echinococcus* spp.. Seminar on epidemiology and control of echinococcosis, 12-14 Dec., 2007, Shanghai, China
13) Kawanaka M. Western blotting as a back-up serology for ultrasonography in diagnosing echinococcosis. Seminar on epidemiology and control of echinococcosis, 12-14 Dec., 2007, Shanghai, China
14) Yamasaki H. Research progress in Taeniasis and Cysticercosis. Seminar on epidemiology and control of echinococcosis, 12-14 Dec., 2007, Shanghai, China
15) Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Sako Y., Ito A. Significance of molecular-pathological diagnosis in cestode zoonoses. 21st Pacific Science Congress, 12-18 June, 2007, Okinawa, Japan
16) Ito A., Wandra T., Nakao M., Sako Y., Yamasaki H., Nakaya K. The present situation of taeniasis/cysticercosis in Asia and the Pacific: The importance of molecular and immunological approaches. 21st Pacific Science Congress, 12-18 June, 2007, Okinawa, Japan
17) Anantaphruti T. M., Waikagul J., Yamasaki H., Ito A. Cysticercosis and taeniasis in Thailand. 21st Pacific Science Congress, 12-18 June, 2007, Okinawa, Japan
18) Okamoto M., Nakao M., Anataphruti T. A., Tachi E., Sako Y., Sato O.M., Yamasaki H., Nakaya K., Waikagul J., Ito A. Is Asian *Taenia* species or subspecies ? 21st Pacific Science Congress, 12-18 June, 2007, Okinawa, Japan
19) Ohmae H., Kirinoki M., Matsumoto J., Chigusa Y., Blas B.L., Ducusin B., Sinuon M., Socheat D., Matsuda H. Comparison of schistosomiasis control programs in Southeast Asia; Impact of rainfall on control of schistosomiasis japonica in Philippines and that of schistosomiasis mekongi in Cambodia. The 7th International Meeting of Regional Network on Asian Schistosomiasis +, 5-7 Sep., 2007, Lijiang, Yunnan, China
20) Ohmae H., Sinuon M., Kirinoki M., Matsumoto J., Chigusa Y., Sochet D., Tsuyuoka R., Matsuda H. Control of *Schistosoma mekongi* in Cambodia: result of ten years of control activities and the future. The 42nd US-Japan Parasitic Diseases Meeting, 16-18 Jan., 2008, Davis, California, USA

2. 国内学会

1) 鈴木敦子，前川 純，倉 文明，常 彬，泉山信司， 市瀬正之，渡辺治雄，遠藤卓郎． 冷却塔水からのレジオネラ属菌の検出状況 - 2001 年度から 2006 年度まで- 第 81 回日本感染症学会総会学術講演会， 2007 年 4 月，

京都

2) 倉 文明，前川純子，鈴木敦子，常 彬，泉山信司， 市瀬正之，遠藤卓郎，渡辺治雄． 浴槽水からのレジオネラ属菌の検出状況 - *Legionella pneumophila* 血清群 1 の増加． 第 81 回日本感染症学会総会学術講演会，2007 年 4 月，京都

3) 杉山寛治，大畑克彦，古澤亜紀，泉山信司，八木田 健司，遠藤卓郎． 循環式浴槽水の微生物制御手法としての珪藻土ろ過の有用性．日本防菌防黴学会，第 34 回年次大会， 2007 年 8 月，大阪

4) 神澤 啓，縣 邦雄，伊藤雅代，遠藤卓郎． 各種酸化性殺菌剤のレジオネラ属菌に対する効果．日本防菌防黴学会， 第 34 回年次大会，2007 年 8 月， 大阪

5) 荒井桂子，玉江紗百合，田中礼子，吉川循江，林 宏子，山口 正，遠藤 卓郎，泉山信司． 遺伝子を用いた迅速測定法による浴槽水中のレジオネラ属菌の検出．日本防菌防黴学会，第 34 回年次大会，2007 年 8 月， 大阪

6) 泉山信司，遠藤卓郎．浴槽水の溢水あるいはろ過による濁質と有機物除去に関する計算．第 7 回環境技術学会大会，2007 年 9 月，大阪

7) 高岡紀子，八木田健司，遠藤卓郎，松原正男． 角膜から得られたアカントアメーバを遺伝学的に同定した 1 症例．第 60 回日本臨床眼科学会，2007 年 10 月，京都

8) 遠藤卓郎．温泉施設におけるレジオネラ感染予防のための適切な衛生管理手法．第 66 回日本公衆衛生学会総会，2007 年 10 月，愛媛

9) 黒木俊郎，泉山信司，八木田健司，遠藤卓郎．クリプトスポリジウムおよびジアルジア感染症の感染経路の検討．第 67 回日本寄生虫学会東日本支部 大会，2007 年 10 月，東京

10) 八木田健司，泉山信司，小村麻子，亀岡洋祐， 遠藤卓郎．*Acanthamoeba* 分離株のミトコンドリア DNA および 18S rDNA による遺伝子型別．
第 40 回原生動物学会大会，2007 年 11 月，富山

11) 遠藤卓郎．水道システムにおける微生物モニタリングに求められるもの．第 10 回水環境制御研究センターシンポジウム， 2007 年 12 月，東京

12) 杉山 広，アチャリア・ラングシルジ，シャンティクマール・シン．インドの肺吸虫：スクリアビン肺吸虫およびヒロクチ肺吸虫の形態観察と 分子同定．第 143 回日本獣医学会学術集会，2007 年 4 月，つくば

13) 坂本晃子，増本久人，平野敬之，舩津丸貞幸， 池添博士，天草 務，杉元昌志，森田満雄，山中 和貴，川上 泰，杉山 広，森嶋康之，川中正憲．ウェステルマン肺吸虫による食中毒事例について（発生概要と原因に関する疫学調査）．平成 19 年度九州地区食品衛生監視員協議会研修会，2007 年 8 月，福岡

14) 坂本晃子，増本久人，平野敬之，舩津丸貞幸， 池添博士，天草 務，杉元昌志，森田満雄，山中 和貴，川上 泰，杉山 広，森嶋康之，川中正憲．ウェステルマン肺吸虫による食中毒事例について．平成 19 年度全国食品衛生監視員研修会，2007 年 10 月，東京

15) 梅原梓里，川上 泰，荒木 潤，内田明彦，杉山 広．ミトコンドリア *cox1* 遺伝子の塩基配列に基づく *Anisakis simplex* 同胞種の分類学的解析． 第 67 回日本寄生虫学会東日本支部大会，2007 年 10 月，東京

16) 梅原梓里，川上 泰，荒木 潤，内田明彦，杉山 広．日本産 *Anisakis simplex* の同胞種レベルでの分類学的解析．第 145 回日本獣医学会学術集会，2008 年 3 月，相模原

17) 中西啓司，堀越敬之，田中敏夫，太田 優，永田 秀明，木村明生，川中正憲，森嶋康之，杉山 広， 荒川京子．大阪府内における捕獲犬のエキノコックス及び腸管寄生蠕虫保有調査(第 1 報)．平成 19 年度日本獣医公衆衛生学会，2007 年 10 月，大阪

18) 山﨑 浩，中谷和宏，中尾 稔，迫 康仁，伊藤 亮．パラフィン包埋組織切片を用いた人畜共通条虫症の分子病理診断．第 76 回日本寄生虫学会大会，2007 年 4 月，大阪

19) Nkouawa A., EdingaE., Yamasaki H., Tachi E., Okamoto M., Shibahara T., Blair D., Moyou-Somo R., Ito A. Paragonimiasis in Cameroon: molecular analysis, serodiagnosis and clinical manifestations. 第 76 回日本寄生虫学会大会，2007 年 4 月，大阪

20) Sato O. M., Sako Y., Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Ito A. The role of apoptosis on proglottid development in *Taenia saginata*. 第 76 回日本寄生虫学会大会，2007 年 4 月，大阪

21) 岡本宗裕，中尾 稔，館 栄子，迫 康仁，Sato O. M.，山﨑 浩，中谷和宏，伊藤 亮．Asian *Taenia*（タイワンテニア）は 独立種か、それとも亜種か． 第 76 回日本寄生虫学会大会，2007 年 4 月，大阪

22) 中尾 稔，山﨑 浩，伊藤 亮．広節裂頭条虫と日本海裂頭条虫のミトコンドリアゲノム．第 76 回日本寄生虫学会大会，2007 年 4 月，大阪

23) 中谷和宏，佐藤大竹マルセロ，山﨑 浩，中尾 稔，

迫 康仁，伊藤 亮．NOD/Shi-*scid*とC.B-17/Icr-*scid*マウスにおける多包虫の増殖と原頭節形成． 第76回日本寄生虫学会大会，2007年4月，大阪

24) 迫 康仁，中谷和宏，山﨑 浩，中尾 稔，伊藤 亮．多包虫メタロプロテアーゼの遺伝子クローニング．第76回日本寄生虫学会大会，2007年4月， 大阪

25) 西村優子，山口聡子，佐原貞夫，中崎康代，鶴田せつ子，藤森 勲，記野秀人，山﨑 浩，中尾 稔，伊藤 亮．遺伝子解析で確定された腸管条虫症の2例．第18回日本臨床寄生虫学会，2007年6月， 東京

26) 中野由美子 赤痢アメーバの病原性におけるコレステロールの役割（Role of cholesterol for parasitic infection in *Entamoeba histolytica*）．第76回日本寄生虫学会大会 2007年3月29-30日， 大阪

27) 中野由美子、遠藤卓郎．わが国における最近のアメーバ赤痢発生動向．平成19年5月メディア情報交換会

28) Saito-Nakano, Y. Role of cholesterol for pathogenesis in protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 第40回日本発生生物学会・第59回日本細胞生物学会合同大会，2007年5月28-30日，福岡

29) 朝日博子．住血吸虫症におけるヘルパーT細胞応答と病態． 第一回蠕虫研究会，2007年11月， 宮崎

7．感 染 病 理 部

部 長　佐 多　徹 太 郎

概　要

１．人事等

平成 19 年度末の感染病理部の現員は 15 名で、戸山庁舎に 3 室 11 名、村山庁舎に 1 室 4 名が在籍している。平成 19 年 5 月 1 日にダブリン大学から辻　隆裕を研究員として採用し第二室に配属した。平成 20 年 3 月 31 日に第四室の小島朝人室長が定年退職となり、平成 20 年度の感染病理部の定員は 14 名で現員も 14 名である。内訳は、部長 1 名、室長 3 名、主任研究官 7 名、研究官 3 名である。定員削減のため第四室の後補充はない。平成 19 年 4 月に、岩田奈織子研究員および菅野隆行研究員が主任研究官に昇任した。非常勤職員の盛　公江は平成 19 年 6 月 30 日付けで都合により退職した。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、戸山では、ほかに松石みゆき、奥田 薫、天野朱実子、矢野辰江、村山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．ウイルス感染症の診断に関する研究
- ３．輸入狂犬病剖検症例の解析
- ４．鳥インフルエンザ剖検肺の病理学的解析

Ⅱ．ウイルス感染の発症機序に関する研究
- １．ヘルペスウイルスに関する研究
- ２．HTLV-1 に関する研究
- ３．マウス継代 SARS-CoV を用いた SARS 発症動物モデルの作製
- ４．ウエストナイルウイルスに対する治療法開発のためのウイルス高病原性機序の解明
- ５．狂犬病に関する研究
- ６．ウイルス肝炎・肝癌に関する研究
- ７．HIV/SIV に関する研究

Ⅲ．ワクチンに関する研究
- １．経鼻粘膜投与型新型インフルエンザ対応ワクチンの開発
- ２．ウエストナイルウイルスワクチンの開発
- ３．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
- ４．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
- ５．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
- ６．JEV のウイルス様粒子(VLP)持続産生細胞の樹立
- ７．ワクチン開発における BVDV 混入 FBS の検討
- ８．SARS-CoV のワクチンに関する研究

Ⅳ．プリオンに関する研究
- １．プリオン検出法
- ２．BSE 由来プリオンの感染性を評価する新規トランスジェニックマウスの開発
- ３．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の運用
- １．高分解能走査電子顕微鏡 S-5200

Ⅵ．機器管理運営委員会機器の運用
- １．戸山庁舎透過型電子顕微鏡
- ２．村山透過及び走査電子顕微鏡

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
- 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。2007 年度、人体由来の検体数は 83 例であった。検索の結果、EB ウイルス感染 7 例、ヒトヘルペスウイルス 8 型感染 5 例、パルボウイ

ルス感染、水痘ウイルス感染、JC ウイルス感染などを分子生物学的、免疫組織化学的に検索した。またロタウイルス感染では国内例では初めて組織上でウイルス抗原を証明することができた。(佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎)

２．ウイルス感染症の診断に関する研究

定量的 PCR による網羅的ウイルス検出法の開発とエイズ剖検例の各臓器におけるウイルス感染プロファイル

定量的 PCR は現在では最も感度の高いウイルス核酸検出法であり、多くのウイルスの検出や定量に用いられている。本研究では臨床検体においてヒトに病原性のある 163 種類のウイルスを同時に、かつ高感度に検出できる定量的 PCR を開発し、エイズ剖検 20 例の各臓器におけるウイルスの定量を行った。その結果、CMV, EBV, HHV-6 などのヘルペスウイルスが高頻度に検出され、他には JCV、BKV、HBV、パルボウイルス B19 などの DNA ウイルスが検出された。一方、HIV を除く RNA ウイルスの検出はまれであった。この結果は健常者の臓器における潜伏感染ウイルス量を考える上で参考になろう。ウイルスを網羅的に検出する定量的 PCR は不明疾患の原因究明に有用なツールとなるものと期待される。(片野晴隆、菅野隆行、佐多徹太郎、加納基史[研究生]、中村智之[実習生])

３．輸入狂犬病剖検症例の解析

2006 年 11 月に国内で発症した２例のフィリピンに由来する狂犬病患者剖検例において、体内での狂犬病ウイルス分布を RT-PCR 法および免疫組織学的方法を用いて検討した。結果、感染者体内のほぼすべての臓器より狂犬病ウイルス遺伝子を検出した。免疫組織化学的検討では、ウイルス抗原は各種臓器の神経組織に存在することが明らかとなった。また、中枢神経系ではほぼ全域に多量にウイルス抗原が存在するにも関わらず、炎症反応等の所見は非常に乏しかった。(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[感染病理部]、井上　智、山田章雄［獣医科学部］、中嶋健介[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-倉井華子、相楽裕子、藤田せつ子、林宏行、吉田幸子[横浜市立市民病院］)

４．鳥インフルエンザ剖検肺の病理学的解析

昨年度から引き続いて、ホルマリン固定パラフィン包埋したベトナム高病原性 H5N1 型鳥インフルエンザ感染症の肺標本の一部（下気道）を病理学的手法により解析した。蛍光二重染色法により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り、細気管支上皮細胞の一部においても抗原が検出されることがわかった。また肺胞マクロファージ、CD34 陽性の血管内皮細胞にも感染する可能性があることが示唆された。鳥型インフルエンザのレセプターの１つであるα-2,3 シアル酸の局在を調べたところ、肺胞上皮細胞に検出されたが、インフルエンザ A 型抗原陽性の細胞では検出感度以下であった。(中島典子、佐藤由子、佐多徹太郎)

Ⅱ.ウイルス感染の発生機序に関する研究

１．ヘルペスウイルスに関する研究

（１）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。いずれにおいても組換え HSV の作製が必須である。しかし、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 HSV 制御因子をターゲットとして様々な組換えウイルスを作製し解析中である。また、蛍光蛋白を融合した組換えウイルスを用いた生細胞の観察も試みている。(田中道子、川口寧[東大医科研・感染症国際研究センター]、佐多徹太郎)

（２）サイトカインによる HHV-8 遺伝子の誘導

カポジ肉腫などの HHV-8 関連疾患の発症･維持にサイトカインが深く関わっていると考えられている。本研究ではサイトカインによる HHV-8 遺伝子の誘導について検討した。HHV-8 感染リンパ腫細胞株を各種サイトカインで刺激したところ、IFN-γ は単独で、HHV-8 前初期遺伝子の発現を誘導しうることが明らかになった。この遺伝子発現誘導は IFN シグナルの特異的阻害剤である Jak 阻害剤 (25-125nM)により抑制され、HHV-8 の再活性化が阻害されることを見いだした。現段階で、Jak 阻害剤は HHV-8 再活性化の阻害剤として、HHV-8 関連疾患の治療薬の候補に挙げられる。(片野晴隆、菅野隆行、佐多徹太郎)

（３）HHV-8 再活性化機構についての研究

HHV-8 の再活性化を制御することはカポジ肉腫など疾患の予防や治療に重要と考えられるが、その再活性化

機構には不明な点が多い。HHV-8 感染 PEL 細胞株 TY-1 は、HHV-8 関連疾患の腫瘍細胞と同様にほとんど再活性化をおこさないが、われわれは HHV-8 の前初期タンパク RTA の発現細胞数を蛍光免疫染色でモニターすることにより、TY-1 から再活性化率の異なるクローンを樹立した。RTA 高発現細胞、低発現細胞は継代を繰り返しても、通常の TY-1 よりも高いあるいは低い RTA 陽性細胞率が保たれる。これらのクローンは HHV-8 の再活性化機序の解明に有用なツールとなることが期待される。（菅野隆行、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎）

２.HTLV-1 に関する研究

（１）成人 T 細胞白血病（ATL）モデル動物を用いた新規治療法の開発

ヒト ATL 細胞は TARC、MIP-1α、MIP-βなどのケモカインに対して走化性を示す。マウスのモデルを用いて浸潤と走化の関係を調べた。我々の研究室で開発された ATL モデル動物である Tax-transgenic mouse 由来の腫瘍細胞を用いて調べると SDF-1α に対して濃度依存的に非常に強い応答を示した。マウス ATL 細胞で発現している CXCR4 が機能的であるかを調べるため、SDF-1α の刺激時に働く主要なシグナル経路の解析を行った。マウス ATL 細胞では恒常的に ERK1/2 の活性化が認められた。マウス ATL 細胞の ERK1/2 活性化のメカニズムを明らかにするため MEK 阻害剤（U0126）を用い ERK1/2 のリン酸化に与える影響を調べた。すると SDF-1α により入る ERK1/2 のリン酸化は抑えられた。このことから SDF-1α による ERK1/2 のリン酸化の上流には MEK が関与し、マウス ATL 細胞内においても MEK-ERK 経路が働いている事が示唆された。また、U0126 での処理後の走化性の変化を調べた。すると 100μM の薬剤で 40%まで走化性を抑制しアポトーシスを誘導した。これらから MEK 阻害剤が ATL の新たな治療薬の候補となりうることが示唆された。（長谷川秀樹、川口晶 [研究生]、澤洋文[北海道大学]、辻隆裕、佐多徹太郎）

（２）HTLV-I Tax の核内移行メカニズムの解明

HTLV-I の Tax タンパク質は種々の遺伝子を転写活性化するが、そのためには Tax が感染細胞の核内、細胞質の両方に局在することが必要であると考えられている。我々は本研究で Tax の核局在と核移行に関わるメカニズムについて検討した。GFP 融合タンパク質を用いた解析では、TaxN 末の 60 アミノ酸とその領域に含まれる zinc finger motif が Tax の核局在に重要であった。in vitro nuclear transport assay では Tax の核移行にはエネルギーもキャリアも必要としないことが明らかとなった。核膜孔複合体の構成成分のひとつであり、Importin β family タンパク質が結合することで知られる p62 と Tax の間には特異的かつ直接的な結合がみられた。野生型と変異型 Tax を用いて、それぞれの p62 に対する結合能と核内移行活性を調べたところ、それらの間に明らかな相関がみられたため、Tax は核膜孔複合体と相互作用して核移行しているものと考えられた。また Tax の核外移行もエネルギーとキャリアタンパク質非依存性であった。これまで示した Tax の性質は、Importin β等がキャリアとして機能するために必要な性質と重複するが、実際 in vitro では Tax がキャリアとなり NF-ｋB の p65 サブユニットを核内に輸送することが確認された。以上の結果から、Tax が外来性キャリア蛋白質として機能して、細胞本来の核/細胞質タンパク質分布をかく乱し、HTLV-I による細胞機能の異常に関与している可能性が示唆された。（辻 隆裕、長谷川秀樹、佐多徹太郎、WW.Hall）

３. マウス継代 SARS-CoV を用いた SARS 発症動物モデルの作製

昨年度はラットを用いたが、より使いやすい動物モデルを作製する目的で、重症急性呼吸器症候群（SARS）の原因である SARS コロナウイルス（SARS-CoV）の病原性発揮機構を解明するために、マウス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、10 日以内に 30-50%の動物が致死的となった。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ラットと同様、マウスにおいても明らかとなった。さらに、肺乳剤中の TNF-α と IFN-γ の発現量に相違がみられ、感染後早期の免疫反応の相違がみられた。(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［ウイルス第一部］、西條政幸［ウイルス第一部］、森川 茂［ウイルス第三部］)

４. ウエストナイルウイルスに対する治療法開発のためのウイルス高病原性機序の解明

ウエストナイルウイルスの感染病態と開発中のワクチン、治療薬の効果を評価するための動物モデル系の作製を BALB/c マウスで試みた。BALB/c に NY99/6922 株を静脈内あるいは皮下に接種すると、弛緩性麻痺、脳炎症状、腹部膨満を伴う食欲低下あるいは一過性の体重減少、と種々の病態を示した。一過性の体重減少と神経症状を示した個体において、ウイルス感染に伴う軽度～重度の

脳炎あるいは脊髄炎、髄膜炎所見を病理学的に確認した。腹部膨満を示した個体では、腸管の神経叢に壊死とそれに伴う軽度な炎症所見が得られたが、ウイルス感染との関連は不明であった。さらに、リンパ系組織において感染性のウイルスの存在とアポトーシスの所見が得られ、感染に伴うリンパ系への病原性が示唆された。本モデルにおいてワクチン、治療薬の効果を評価するためには、経日的な体重、臨床症状の観察あるいは最終的な病理学的解析は有用な判定方法である。(岩田奈織子、永田典代、辻　隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎)

５. 狂犬病に関する研究

狂犬病ウイルスの病態を病理学的手法で解析している。ウイルス由来蛋白である、P 蛋白と N 蛋白の発現様式が異なることが免疫組織化学により明らかになったので、それぞれの mRNA およびゲノム RNA の病理組織上での局在を解析することにした。in situ hybridization AT tailing 法で検出を試みるために、両者の塩基配列結果をもとに、特異的なプローブを作製した。(中島典子、飛梅実、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎)

６. ウイルス肝炎・肝癌に関する研究

（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と病態解明に関する研究

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、150 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。今年度は、ゲノタイプ 6c, 6l, 6o, 6p, 6q バリアントに属す HCV ベトナム株の全長スークエンスを得た。得られた HCV の塩基配列情報は、データベースに登録・公開した。現在、ゲノタイプ 6 感染患者の病態と治療効果について、長期追跡調査を行っている。(阿部賢治、Phiet Hoang Pham [ホーチミン医科薬科大学病院消化器科：ベトナム]、Trinh Thi Ngoc[バックマイ病院熱帯医学臨床研究所消化器科：ベトナム]、Xuan Lien [パスツール研究所ホーチミン：ベトナム]、Ling Lu [ユタ大学医学部消化器病センター：米国])

（２）ベトナム小児における各種感染症および肝疾患に関する研究

ベトナムにおける各種感染症および肝疾患の特徴解明を目的に、同国南部地域最大の病院であるホーチミン第一小児病院と共同研究を実施している。各種ウイルス肝炎、新生児肝炎、胆汁うっ滞、肝腫瘍、Wilson 病、成因不明脳炎、デング熱などの症例を、病理・ウイルスの観点から検討している。(阿部賢治、Phuc Le Hoang [ホーチミン第一小児病院消化器科：ベトナム]、Khanh Huu Truong [ホーチミン第一小児病院感染症科：ベトナム]、Tung Thanh Tran [ホーチミン第一小児病院病理科：ベトナム])

（３）HBV pre-S 変異と肝発癌との関連に関する研究

HBV 発癌機構に関しては、諸説があるが、未だ不明な点が多い。我々は、HBV pre-S 領域の部分欠損と肝発癌との関連に注目して、研究を進めている。ウイルスゲノタイプ B と C 関連肝癌で変異が有意に高いこと、細胞 ER 関連ストレスシグナルや発癌関連シグナルが変異により活性化されていることなどの成績が得られている。特に小児肝癌の発生要因として、HBV pre-S 変異と signal pathway 変化との関連を現在検討中である。(阿部賢治、Ih-Jen Su [国立台湾衛生研究院臨床研究部、国立成功大学医学部：台湾])

７. HIV/SIV に関する研究

（１）in vitro 培養系での SIV 脳症の病態解析

サル胎仔脳より神経・グリア細胞培養系および神経・グリア・ミクログリア培養系を確立し実験に用いた。昨年度、SIVΔE/vsvg を感染させると p53 蛋白が神経・グリア細胞に有意に誘導されることを示した。p53 発現量はウイルス接種量に相関し、主に感染細胞の核に発現していることがわかった。SIV/17E-Fr を感染させた神経・グリア細胞培養系および神経・グリア・ミクログリア細胞培養系の培養上清中の SIVp27 抗原量、MCP-1、IP-10、IL-8、IL-6 を経時的に測定し、感染 41 日目の細胞中に発現している p53 関連蛋白、ERK シグナル伝達蛋白をウエスタンブロッテイン法で検出し、非感染培養系と比較した。SIV 感染神経・グリア細胞培養系ではリン酸化 ERK、リン酸化 p53 の発現が高く、Bcl-2/Bax 比が低かった。一方培養上清中の SIVp27 抗原量、MCP-1、IP-10、IL-8、IL-6 が高値をとった神経・グリア・ミクログリア培養系では SIV(+)でリン酸化 ERK、リン酸化 p53 の発現が高かった。また、Bcl-2 /Bax 比の差はなかったが、リン酸化 pCREB/CREB が低かった。今後さらに詳細に解析する予定である。(中島典子、佐多徹太郎)

（２）HIV-1 粒子成熟の解析

HIV-1 の出芽後、酸化により結びつき多量体を形成する Gag 蛋白が粒子成熟を通じてどのように成熟コアを形成していくか調べることを目的とした。精製度を上げてコアを調べると、成熟の前後において構成成分が変わっていないことが判明した。P17, P24 のシスチン残基にランダムなジスルフィド結合が形成され Gag 多量体が一体となっていること、免疫電顕上、外層の P17 は成熟により中心に移動し成熟したコアに含まれていたことから、成熟コアは Gag 多量体の収縮により形成されていると考えた。HIV-1 ワクチン開発のためにウイルス粒子抗原と免疫機構の関係を考える上で有用な情報である。(高橋秀宗、田中恵子、飛梅実)

（３）HIV-1 Vif のサブタイプ依存的抗 APOBEC3G 活性に関わる責任領域の決定

抗レトロウイルス宿主因子 APOBEC3G の活性を相殺する HIV-1Vif は、サブタイプにより遺伝子多様性があることから、昨年、我々がその生物学的活性の違いを検討した結果、Vif の抗 APOBEC3G 活性はサブタイプ依存的で、特にサブタイプ C 由来 Vif 蛋白でその活性が顕著であった。本年度、他のサブタイプ由来 Vif より高い抗 APOBEC3G 活性を示す C Vif の高活性規定領域を検討するため、サブタイプ間で vif 遺伝子の組換えを行い、更に Mutational analysis により絞り込んで解析した結果、責任部位として N 末の 2 アミノ酸が同定され、そのうちの一つは APOBEC3G との直接結合に関わることが示唆されている領域であることが明らかになった。(徳永研三、岩部幸枝[流動研究員]、木ノ本正信 [流動研究員]、巽正志[エイズ研究セ] 、石坂幸人[国立国際医療セ]、佐多徹太郎)

（４）HIV-1 Vpu と相互作用する宿主因子の検索

HIV-1 Vpu 蛋白は、Gag p6 同様、ウイルス粒子の放出促進機能を有するが、細胞種によってその要求性が異なる。Vpu 要求性細胞では、ウイルス粒子の放出抑制機能をもつ未知の宿主因子を Vpu が阻害している可能性が考えられ、また Gag p6 との機能的類似点から細胞内小胞輸送関連因子との相互作用が予想される。今回、Vpu 要求性細胞に、細胞内小胞輸送関連宿主因子群(Tsg101、Hrs、SKD1-binding protein [SBP]1、SBP2、または SBP3）を過剰発現させ、Vpu 発現の有無でウイルス粒子放出にどの程度影響を与えるかを検討した結果、Vpu の有無に関わらずこれら宿主因子はウイルス粒子放出には影響を及ぼさなかった。少なくとも今回用いた細胞内小胞輸送関連宿主因子群は、HIV-1 複製における Vpu 要求性には関係しないことが分かった。(岩部幸枝[流動研究員]、木ノ本正信[流動研究員]、徳永研三、石坂幸人[国立国際医療セ] 、藤本景子[九大院・薬・細胞生物]、藤田英明[九大院・薬・細胞生物]、田中嘉孝[九大院・薬・細胞生物]、佐多徹太郎）

（５）HIV-1 Vpr のゲノム DNA 二重鎖切断によるマクロファージでの HIV-1 感染効率促進

HIV-1 Vpr 蛋白が培養細胞に対して DNA 二重鎖切断（DSB）を誘導し、DNA 修復酵素である ATM に依存的に細胞シグナルを活性化することを昨年報告したが、今回我々は、Vpr 要求性であるマクロファージ（Mφ）において、Vpr 誘導性 DSB が HIV-1 感染に影響するか否かを検討した。その結果、HIV-1 の Mφ への感染には Vpr による DSB が ATM 依存的に感染効率の律速因子となっていることが明らかになった。(孫賓蓮[国立国際医療セ]、星野重樹[国立国際医療セ]、中井智嘉子[国立国際医療セ]、佐多徹太郎、徳永研三、石坂幸人[国立国際医療セ])

（６）HIV-1 感染細胞の Vpr による核膜異常

HIV-1 は非分裂細胞でも感染•増殖が可能であるが、核膜崩壊の無い非分裂細胞における、HIV-1 の巨大な前核移行複合体 (PIC)の核移行メカニズムについては未だ不明である。この点について、先頃報告された HIV-1 感染細胞核の異常（核膜ヘルニア）との関連を検討したところ、Vp r が核膜内膜に局在することでラミン B１等の喪失を伴う核膜の脆弱化を誘導し、結果として核ヘルニアが起きる可能性が示唆された。(志村まり[国立国際医療セ]、前島一博[理研•細胞核機能]、宮澤雅之[国立国際医療セ]、森美貴[日本医大•分子解剖]、徳永研三、今本尚子[理研•細胞核機能]、佐多徹太郎、瀧澤俊広[日本医大•分子解剖]、石坂幸人[国立国際医療セ])

（７）HPV 感染による尖圭コンジローマ及びボーエン様丘疹症における anti-apoptosis 遺伝子 IAP family の発現の検討

尖圭コンジローマは性行為による HPV6/11 型の感染で生じるが癌化することは通常ない。一方、HPV 16 型の感染によるボーエン様丘疹症は時に進行癌に移行する。これら皮膚疾患の癌化または自然消褪の可能性について、分子レベルでの診断の可否を検討した。その結果、anti-apoptosis 遺伝子である IAP ファミリーのいくつかの遺伝子の発現レベルが、ボーエン様丘疹症において有意

に高かったことから、この定量解析系が皮膚疾患の病態把握に役立つ可能性が示唆された。（鶴岡朝美[日本医大・皮膚科]、岩部幸枝[流動研究員]、徳永研三、佐多徹太郎、三石剛[日本医大・皮膚科]）

Ⅲ. ワクチンに関する研究

１．経鼻粘膜投与型新型インフルエンザ対応ワクチンの開発

抗原型の予測が不可能な新型インフルエンザの出現が危惧されており、それらに対応できる交叉防御能のあるワクチンの開発が急務である。本研究では感染防御及び変異株に対応できる交叉防御能を有するワクチンの開発を目的に高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 に対する経鼻ワクチンの開発を行った。アジュバントとしてヒトでの安全性が確認されている合成二本鎖 RNA である poly(I):poly(C12U) (Ampligen®) を用いた。皮下接種群ではワクチン特異的な血液中の IgG 抗体応答が、経鼻ワクチン接種群ではワクチン特異的な血清中の IgG 抗体に加え鼻腔洗浄液中の IgA 抗体応答が誘導された。高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)による攻撃感染に対しワクチン株と異なるウイルス株に対しても防御効果が認められた。流行株の予測が不可能な新型インフルエンザに対応したワクチンとして期待される。（長谷川秀樹、一戸猛志 [研究生]、相内章（協力研究員）、川口晶（研究生）、千葉丈（東京理科大学）、田村慎一、倉田毅、佐多徹太郎）

２．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)サブユニットワクチン開発のため、WNV 中和抗体誘導能を保持したウイルス様粒子(VLP)抗原を、大量に、かつ、持続的に産生する安定な細胞クローンの樹立を目的とした。ATCC より購入した CHO-K1 細胞に、最適な発現効率を示した WNV prM-E cDNA を導入し、薬剤選択と限界希釈法を組み合わせて、VLP を恒常的かつ高効率に産生するクローンを樹立した。VLP は、成熟した E、M 抗原から構成され、比重が 1.15g/mL であり、直径約 25～30 nm の球形粒子であることを確認した。中和抗体誘導サブユニットワクチンの構成抗原として有望であると思われる。（高橋秀宗、大滝尚広[HS 財団 RR]、田中恵子、田中道子、小島朝人、佐多徹太郎、高崎智彦[ウイルス 1 部]）

３．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—

マーモセット科サルに対し、ムンプスウイルス野外分離株の、Odate-C 株と 02-49 株および国内あるいは海外で使用している弱毒乾燥おたふくかぜワクチン株 2 種を脳内接種した。10 日目のウイルス感染・増殖部位とそれに伴う組織病変について病理学的に比較解析したところ、いずれの動物においても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。これらの炎症の程度は弱毒株二種で非常に弱く、02-49 株は中程度であり、Odate-C 株は最も強かった。今回、試みた試験法は、ムンプスウイルス感染・増殖後に引き起こされる炎症反応を主体とした、病原性を確認するための有用な感染モデル系と考える。（永田典代、原嶋綾子、佐多徹太郎、木所 稔［ウイルス第三部］、加藤 篤［ウイルス第三部］、斉加志津子［千葉県衛生研究所］）

４．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

不活化ポリオワクチン(IPV)の皮下接種では、ワクチン由来変異株に対する十分な防御免疫が得られない可能性がある。今年度は、現在開発中の Sabin 株由来 IPV の経粘膜ワクチンへの応用の可能性について基礎検討を行った。その結果、TgPVR21 において CTB アジュバントを加えた Sabin 由来 IPV の経鼻免疫によって強毒 Mahoney 株の経粘膜感染防御に十分な免疫が得られることが明らかとなった。経粘膜ワクチンへの応用も期待できる。(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］)

５．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た。化学及血清療法研究所との共同研究として、アトピー性様皮膚炎発症動物である NC/Nga マウスの本モデルへの有用性について病理学的基礎検討を行っているところである。（永田典代、佐多徹太郎)

６. JEV のウイルス様粒子(VLP)持続産生細胞の樹立

ウイルス大量培養不要で製造上安全な次世代 JE-VLP ワクチン開発のため、治療用バイオ医薬品製造に用いら

れる培養細胞株をベースに VLP 持続産生細胞の樹立を試みた。JEV の PrM-E cDNA を導入した CHO 細胞を薬剤選択と限界希釈法でクローニングし、中和エピトープ503-ELISA・細胞増殖速度・細胞形態を指標に高産生クローンを選別した。最終的なクローン#13, #16 は共に抗原発現 100%陽性で、培養上清中に比重　1.15 の JEV 抗原を産生し、粗精製抗原中には直径　25~30nm の球形粒子が観察された。（小島朝人、大滝尚広[HS 財団-RR]、石川豊数[阪大微研]、田中恵子、高橋秀宗、佐多徹太郎）

７．ワクチン開発における BVDV 混入 FBS の検討

培養細胞を用いたワクチン開発では、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)否定試験が必須なため、BVDV RNA 検出法を継続して検討した。本年度は簡便なリアルタイム PCR 法の確立を試みた。BVDV 特異的プライマーで非翻訳領域 cDNA を合成後、BVDV 及びペスチウイルス特異的プライマーと BVDV/ペスチウイルスプローベの組合せで、標的ウイルス RNA を網羅的に検出する TaqMan PCR 法を樹立した。（勇　史行[協力研究員]、小島朝人、佐多徹太郎）

８. SARS-CoV のワクチンに関する研究

SARS-CoV の S 蛋白と Mouse hepatic virus の E, M, N 蛋白を組み合わせたキメラのウイルス様粒子(Chimeric VLP)を作製し、それを免疫原としてマウスに免疫をした。二回免疫を行った後、SARS-CoV を感染させると Chimeric VLP で免疫したマウスは SARS-CoV に対し、高い中和抗体を産生し、肺で感染性ウイルスは検出されなかった。また肺の病理学的検索では、Chimeric VLP で免疫を行ったマウスには病変を認めなかった。これらの結果から Chimeric VLP は SARS-CoV 感染に対して効果的なワクチンであることが示された。（岩田奈織子、Lokugamage KG [University of Texas Medical Branch;UTMB]、Ito N. [UTMB]、Wyde P. [Baylor College of Medicine]、Watts DM. [UTMB]、Tseng CTK [UTMB]、Peters CJ. [UTMB]、Makino S. [UTMB])

Ⅳ.プリオンに関する研究

１．プリオン検出法

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）法を開発中である。今年度は AT 化した 2 次抗体（IgG、Fab’）をマウスモノクローナル一次抗体、ラビットポリクローナル一次抗体用にそれぞれ作製した。抗プリオン抗体に限らず、通常の LSAB 法では検出できない場合に AT 化２次抗体を使用することを考えている。（中島典子、佐藤由子、花木賢一[東大・疾患生命工学センター研究基盤部門]、佐多徹太郎）

２．BSE 由来プリオンの感染性を評価する新規トランスジェニックマウスの開発

ウシプリオン発現マウスプリオンノックアウトマウスを用いて BSE 由来サンプルの病原性を迅速にバイオアッセイできる系を開発し、さらに BSE 病態病理を解析することを目的とした。前回作製したウシ型プリオン・トランスジェニックマウスではプリオンの発現に CAG プロモーターを用いていた。この系では、ウシ型プリオンはマウスのほぼすべての細胞に発現する。しかし、生体でのプリオン蛋白の発現には臓器間に差異が存在する。このため新規のトランスジェニックマウスでは、マウスのプリオン遺伝子のプロモーター領域を用いた。クローニングしたマウス由来のプリオンプロモーターの活性は、ヒト・サイトメガロウイルスのプロモーター活性と比較しても、遜色無く蛋白の発現誘導を行えることを確認した。プリオン遺伝子上流 3.5kb のプロモーター領域において、最も発現効率がよく、神経細胞特異的発現を誘導できることが明らかとなった。（飛梅　実、高橋秀宗、佐多徹太郎）

３．ヒトプリオン病の早期診断系の開発

クロイツトフェルトヤコブ病（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、高橋秀宗、佐藤由子、佐多徹太郎）

Ⅴ．厚生労働省共同利用機器の運用

１．高分解能走査電子顕微鏡 S-5200

平成 19 年度も順調に運用された。本年度中に対応した検体数は 191 検体で、その内訳は感染研内部 108 検体、外部との共同研究 16 検体、外部のみ 67 検体であった。そのうち免疫電顕は 15 検体であった。試料調整に使用する臨界点乾燥装置が壊れたため、11 月に新たに BAL-TEC 社製 CPD 030 を導入した。また、見学者の対応は 3 回、

６名であった。（齋藤典子[臨時職員]）

Ⅵ. 機器管理運営委員会機器の運用

１．戸山庁舎透過型電子顕微鏡

総依頼件数１５件、EPON 包埋検体数４６検体（１８１ブロック）、ネガティブ染色検体数３２検体であった。ネガティブ染色としては主に HCV 粒子、HPV－VLP、WNV－VLP について行った。細菌では *Nocardia farcinica* が感染細胞で観察され、今後は細菌の経時変化を調べる予定である。PML 及び AIDS 患者の脳 JCV, HIV 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）を引き続き行った。（田中恵子[臨時職員]、佐多徹太郎）

２．村山透過及び走査電子顕微鏡

本年度の総依頼件数は 17 件であり、透過電子顕微鏡利用は 14 件、走査電子顕微鏡は 3 件であった（3 件重複）。うち、一件の行政検査の電子顕微鏡学的検査を含む。依頼者は感染病理部の他、ウイルス第一部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、エイズセンター、獣医科学部であり、昨年度と件数はほぼ変わらない。（片岡紀代[臨時職員]、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

（１）阿部賢治：ベトナムとタイの医療機関における病理、血清、ウイルス、遺伝子診断技術・研究指導およびセミナー開催、平成 19 年 8 月 15 日から平成 19 年 8 月 31 日、平成 20 年 3 月 15 日から平成 20 年 3 月 31 日

（２）長谷川秀樹、永田典代：Global Health Security Action Group Laboratory-Network 主催の Rapid Diagnostic EM in Suspected Bioterrorist Attacks and Infectious Diseases に関するワークショップ、2007 年 4 月 26-27 日 Robert Koch-Institute, ドイツ、ベルリン

Ⅷ. 品質管理に関する業務

（１） 検定検査

１）経口生ポリオワクチン神経毒力試験の病理試験を 1 ロット行い合格と判定した。（辻　隆裕、永田典代、長谷川秀樹、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎、ほか感染病理部員全員）

（２）行政検査

１）痘そうウイルス及び炭疽菌にかかる検査のうち、電子顕微鏡学的検査の行政検査依頼が一件あり、実施した。（辻隆裕、永田典代、長谷川秀樹、片岡紀代、佐多徹太郎）

２）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。（佐藤由子、飛梅　実、佐多徹太郎）

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ.誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Dewan MZ, Terunuma H, Takada M, Tanaka Y, Abe H, Sata T, Toi M, Yamamoto N.: Role of natural killer cells in hormone-independent rapid tumor formation and spontaneous metastasis of breast cancer cells in vivo. Breast Cancer Res Treat. 2007, 104:267-75.

2) Furuoka H, Yabuzoe A, Horiuchi M, Tagawa Y, Yokoyama T, Yamakawa Y, Shinagawa M, Sata T.: Species-specificity of a Panel of Prion Protein Antibodies for the Immunohistochemical Study of Animal and Human Prion Diseases. J Comp Pathol. 2007, 136:9-17.

3) Watanabe M, Dewan MZ, Taira M, Shoda M, Honda M, Sata T, Higashihara M, Kadin ME, Watanabe T, Yamamoto N, Umezawa K, Horie R.: IkappaBalpha independent induction of NF-kappaB and its inhibition by DHMEQ in Hodgkin/Reed-Sternberg cells. Lab Invest. 2007, 87:372-82.

4) Ishii K, Iijima S, Kimura N, Lee YJ, Ageyama N, Yagi S, Yamaguchi K, Maki N, Mori KI, Yoshizaki S, Machida S, Suzuki T, Iwata N, Sata T, Terao K, Miyamura T, Akari H.: GBV-B as a pleiotropic virus: distribution of GBV-B in extrahepatic tissues in vivo. Microbes Infect. 2007, 9:515-21.

5) Iwata N, Yoshida H, Tobiume M, Ono F, Shimazaki T, Sata T, Nakajima N.: Simian fetal brain progenitor cells for studying viral neuropathogenesis. J Neurovirol. 2007,13:11-22.

6) Ogawa-Goto K, Tanaka K, Ueno T, Tanaka K, Kurata T, Sata T, Irie S.: p180 is involved in the interaction between the endoplasmic reticulum and microtubules through a novel microtubule-binding and bundling domain. Mol Biol Cell. 2007, 18:3741-51.

7) Asanuma H, Fujihashi K, Miyakoshi T, Yoshikawa T, Fujita-Yamaguchi Y, Kojima N, Nakata M, Suzuki Y, Tamura SI, Kurata T, Sata T.: Long- and short-time immunological memory in different strains of mice given nasally an adjuvant-combined nasal influenza vaccine. Vaccine. 2007, 25:6975-80.

8) Kanai K, Satoh Y, Yamanaka H, Kawaguchi A, Horie K, Sugata K, Hoshikawa Y, Sata T, Sairenji T.: The vIL-10 gene of the Epstein-Barr virus (EBV) is conserved in a stable manner except for a few point mutations in various EBV isolates. Virus Genes. 2007, 35:563-9.

9) Yokoyama T, Masujin K, Yamakawa Y, Sata T, Murayama Y, Shu Y, Okada H, Mohri S, Shinagawa M.: Experimental transmission of two young and one suspended bovine spongiform encephalopathy (BSE) cases to bovinized transgenic mice. Jpn. J Infect Dis. 2007, 60:317-20.

10) Ichinohe T, Kawaguchi A, Tamura SI, Takahashi H, Sawa H, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T, Hasegawa H.: Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C(12)U, a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. Microbes Infect. 2007, 9:1333-40.

11) Abe K, Kiuchi T, Tanaka K, Edamoto Y, Aiba N, Sata T.: Characterization of erythrovirus B19 genomes isolated in liver tissues from patients with fulminant hepatitis and biliary atresia who underwent liver transplantation. Int J Med Sci. 2007, 4:105-9.

12) Lu L, Li C, Gao F, Abe K.: Complete genomes of hepatitis C virus (HCV) subtypes 6c, 6l, 6o, 6p and 6q: completion of a full panel of genomes for HCV genotype 6. J Gen Virol. 2007, 88: 1519-25.

13) Inui A, Komatsu H, Sogo T, Nagai T, Abe K, Fujisawa T.: Hepatitis B virus genotypes in children and adolescents in Japan: before and after immunization for the prevention of mother to infant transmission of hepatitis B virus. J Med Virol. 2007, 79:670-5.

14) 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. 2007, 35:281-8.

15) Hasegawa H, Ichinohe T, Tamura S, Kurata T.: Development of a mucosal vaccine for influenza viruses: preparation for a potential influenza pandemic. Expert Rev Vaccines. 2007, 6:193-201.

16) Ichinohe T, Nagata N, Strong P, Tamura S, Takahashi H, Ninomiya A, Imai M, Odagiri T, Tashiro M, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H.: Prophylactic effects of chitin microparticles on highly pathogenic H5N1 influenza virus. J Med Virol. 2007, 79:811-9.

17) Ichinohe T, Kawaguchi A, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T, Hasegawa H.: Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C12U, a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. Microbes Infect. 2007, 9:1333-40.

18) Ishak Mde O, Martins RN, Machado PR, de Souza LL, Machado LF, Azevedo VN, Katano H, Sata T, Hasegawa H, Vallinoto AC, Ishak R.: High diversity of HHV-8 molecular subtypes in the Amazon region of Brazil: evidence of an ancient human infection. J Med Virol. 2007, 79:1537-44.

19) Ichinohe T, Tamura S, Kawaguchi A, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Mitchell WM, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H.: Cross-protection against H5N1 influenza virus infection is afforded by intranasal inoculation with seasonal trivalent inactivated influenza vaccine. J Infect Dis. 2007, 196:1313-20.

20) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Sato Y, Morikawa S, Saijo M, Itamura S, Saito T, Ami Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T.: Pathology and virus dispersion in cynomolgus monkeys experimentally infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus via different inoculation routes. Int J Exp Pathol. 2007, 88:403-14.

21) Nakai-Murakami C, Shimura M, Kinomoto M, Takizawa Y, Tokunaga K, Taguchi T, Hoshino S, Miyagawa K, Sata T, Kurumizaka H, Yuo A, Ishizaka Y.: HIV-1 Vpr induces ATM-dependent cellular signal with enhanced homologous recombination. Oncogene. 2007, 26:477-86.

22) Kishigami S, Bui HT, Wakayama S, Tokunaga K, Van Thuan N, Hikichi T, Mizutani E, Ohta H, Suetsugu R, Sata T, Wakayama T.: Successful mouse cloning of an outbred strain by trichostatin A treatment after somatic nuclear transfer. J Reprod Dev. 2007, 53:165-70.

23) Kinomoto M, Kanno T, Shimura M, Ishizaka Y, Kojima A, Kurata T, Sata T, Tokunaga K.: All APOBEC3 family proteins differentially inhibit LINE-1 retrotransposition. Nucleic Acids Res. 2007, 35:2955-64.

24) Kameoka M, Kitagawa Y, Utachee P, Jinnopat P, Dhepakson P, Isarangkura-na-ayuthaya P, Tokunaga K, Sato H, Komano J, Yamamoto N, Oguchi S, Natori Y, Ikuta K.: Identification of the suppressive factors for human immunodeficiency virus type-1 replication using the siRNA mini-library directed against host cellular genes. Biochem

Biophys Res Commun. 2007, 359:729-34.

25) Hagiwara K, Yamakawa Y, Sato Y, Nakamura Y, Tobiume M, Shinagawa M, Sata T.: Accumulation of mono-glycosylated form-rich, plaque-forming PrPSc in the second atypical bovine spongiform encephalopathy case in Japan. Jpn J Infect Dis. 2007, 60:305-8.

26) Arita M, Nagata N, Iwata N, Ami Y, Suzaki Y, Mizuta K, Iwasaki T, Sata T, Wakita T, 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. 2007, 81:9386-95.

27) Ohka S, Igarashi H, Nagata N, Sakai M, Koike S, Nochi T, Kiyono H, Nomoto A.: Establishment of a poliovirus oral infection system in human poliovirus receptor-expressing transgenic mice that are deficient in alpha/beta interferon receptor. J Virol. 2007, 81:7902-12.

28) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Yokoyama M, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Morikawa S, Sata T.: Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome (SARS) in F344 rats infected with SARS coronavirus. J Virol. 2007, 81:1848-57.

29) Katano H, Sato Y, Hoshino S, Tachikawa N, Oka S, Morishita Y, Ishida T, Watanabe T, Rom WN, Mori S, Sata T, Weiden MD, Hoshino Y.: Integration of HIV-1 caused STAT3-associated B cell lymphoma in an AIDS patient. Microbes Infect. 2007, 9:1581-9.

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

31) Kuhara T, Yoshikawa T, Ihira M, Watanabe D, Tamada Y, Katano H, Asano Y, Matsumoto Y.: Rapid detection of human herpesvirus 8 DNA using loop-mediated isothermal amplification. J Virol Methods. 2007, 144:79-85.

32) Ueno T, Mitsuishi T, Kimura Y, Kato T, Hasegawa H, Katano H, Sata T, Kurane S, Kawana S.: Immune reconstitution inflammatory syndrome associated with Kaposi's sarcoma: successful treatment with interferon-alpha. Eur J Dermatol. 2007, 17:539-40.

33) 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. 2007, 56:113-8.

34) Kasai N,, Saito N, Komagata O, Mihara M, Sasaki T, Tomita T, Sasaki T, Kobayashi M.: Quantitative analysis of proliferation and excretion of Bartonella quintana in body lice, Pediculus humanus L. Am J Trop Med Hyg. 2007, 77:562-6.

2. 和文発表

1) 菅野隆行、片野晴隆：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス－ミニ解説 話題のウイルス－Drug Delivery System 22: 476-7, 2007

2) 佐多徹太郎、長谷川秀樹、飛梅 実、佐藤由子、片野晴隆、中島典子：狂犬病の病理と病態－免疫組織化学の必要性－。IASR 28:73-74, 2007

3) 佐多徹太郎：国立感染症研究所病原体等安全管理規程の改訂。IASR 28: 192-195, 2007.

4) 片野晴隆、佐多徹太郎：急性脳炎ないし脳症における病理診断の必要性と検体採取の注意点。IASR 28: 341-342, 2007.

Ⅱ.学 会 発 表

1. 国際学会

1) Yoshikawa-Iwata N, Lokugamage KG, Ito N, Wyde P, Watts DM, Chien-Te K Tseng, Peters CJ, and Makino S.: Chimeric coronavirus-like particles carrying severe acute respiratory syndrome coronavirus (SCoV) S protein protects mice against challenge with SCoV. American Society for Virology 26th annual meeting, July 2007, Oregon, USA.

2) Iha H, Taguchi S, Kawaguchi A, Kawashima T, Tanaka Y, Sawa H, Nishizono A, Sata T, Hall WW, Jeang, KT, Hasegawa H.: A water-soluble Hsp90 inhibitor 17-DMAG suppresses Tax-mediated oncogenic signaling both in vitro and in vivo. The 13th International Conference on Human Retrovirology HTLV and related Viruses, 2007, Hakone, Japan

3) Kawaguchi A, Orba Y, Sawa H, Sata T, Hall WW, Hasegawa H.:Adult T cell leukemia/lymphoma(ATLL): Exploitation of transgenic mouse model to understand disease pathogenesis and for the development of rational therapeutics. 13th International Conference on Human Retrovirology 21th-25h, May 2008, Hakone.

2. 国内学会

1) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐多徹太郎：SARS 発症動物モデルにおける肺病変。第 96 回日本病理学会総会（大阪）2007 年 3 月
2) 長谷川秀樹、一戸猛史、倉田毅、佐多徹太郎：高病原性鳥インフルエンザの粘膜ワクチンによる感染制御。第 96 回日本病理学会総会（大阪）2007 年 3 月
3) 佐々木年則、齋藤典子、伊澤晴彦、星野啓太、澤邉京子、小林睦生：オオクロヤブカ Armigeres subalbatus におけるネズミマラリア原虫 Plasmodium berghei の感染。第 59 回日本衛生動物学会大会（大阪）2007 年 4 月
4) 片野晴隆、加納基史、菅野隆行、佐多徹太郎：エイズ剖検例の各臓器におけるヒトヘルペスウイルスの定量.第 22 回ヘルペスウイルス研究会(福岡) 2007 年 6 月
5) 佐々木年則、星野啓太、齋藤典子、伊澤晴彦、澤邉京子、小林睦生：オオクロヤブカ Armigeres subalbatus のネズミマラリア Plasmodium berghei に対するメラニン化作用およびマラリア原虫の感染機構。日本比較免疫学会第 19 回学術集会（浜松）2007 年 8 月
6) 田中道子、川口寧、佐多徹太郎：HSV-1 UL7 の遺伝子と相互作用する新規宿主因子の同定．第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
7) 辻　隆裕、長谷川　秀樹、佐多　徹太郎、WW.Hall：HTLV-ITax タンパク質はキャリア非依存性に核移行する.第 55 回日本ウイルス学会学術集会(札幌) 2007 年 10 月
8) 伊波　英克、川口　晶、田口　慎也、川嶋　太郎、廣瀬　仁志、池辺　詠美、村上　真弓、田中　勇悦、澤　洋文、佐多　徹太郎、後藤　和代、西園　晃、Jeang Kuan-Teh、Hall William、長谷川　秀樹：水溶性ゲルダマイシン 17－DMAG による Tax 誘導性ガン化シグナルの遮断．第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
9) 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：SARS-CoA 感染動物モデルにおける加齢による免疫応答の相違． 第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
10) 西條政幸、網康至、須崎百合子、永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、飯塚愛恵、酒井宏治、佐多徹太郎、倉根一郎、森川茂：高病原性コンゴ盆地型サル痘ウイルス(MPXV)と低病原性西アフリカ型 MPXV の鑑別可能な定量的 PCR 法による MPXV 感染症の診断。第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
11) 飛梅実、長谷川秀樹、片野晴隆、佐藤由子、中島典子、佐多徹太郎：狂犬病ウイルスのヒト生体内分布。　第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
12) 山本典生、一戸猛志、長谷川秀樹、佐藤由子、永田典代、市野瀬志津子、吉仲由之、若林一夫、山名英明、本池紘一、田中千春、佐藤人美、山本陽子、佐多徹太郎、小田切孝人、田代眞人、伊藤壽啓、大槻公一、山本直樹：ドロマイトセラミックによる H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスと SARS コロナウイルスの不活性化。　第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
13) 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲郎、田代眞人、谷口文広 :高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討。　第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
14) 高橋秀宗、田中恵子、佐多徹太郎：HIV-1 粒子の酸化と成熟。　第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
15) 徳永研三、岩部幸枝、木ノ本正信、巽正志 、石坂幸人、倉田毅、佐多徹太郎：HIV-1 Vif のサブタイプ依存的抗 APOBEC3G 活性に関わる責任領域の決定。第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
16) 岩部幸枝、木ノ本正信、石坂幸人、藤本景子、藤田英明、田中嘉孝、佐多徹太郎、徳永研三：HIV-1 Vpu 蛋白に相互作用する宿主因子の検索。第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月
17) 孫賓蓮、星野重樹、中井智嘉子、佐多徹太郎、徳永研三、石坂幸人：Vpr によるゲノム DNA 二重鎖切断はマクロファージへの HIV-1 感染効率を上昇させる。第 55 回日本ウイルス学会学術集会(札幌) 2007 年 10 月
18) 亀岡正典、北川友紀子、川下理日人、徳永研三、生田和良：タイ国サラブリー県の薬剤未治療 HIV-1 感染者から分離した HIV-1 プロテアーゼの遺伝子型および表現型の解析。第 55 回日本ウイル

ス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月

19) 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：SARS-CoV 感染動物モデルにおける加齢による免疫応答の相違。 第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月

20) 片野晴隆、加納基史、菅野隆行、佐多徹太郎：エイズ剖検例の各臓器における DNA ウイルスの感染プロファイル。第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月

21) 菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆：サイトカインによるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)遺伝子の誘導。第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月

22) 中島典子、佐多徹太郎：ミクログリア細胞培養系および神経・グリア細胞培養系におけるサル免疫不全ウイルス（SIV）の感染動態。 第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月

23) 岡本成史、吉井洋紀、小島朝人、石川豊数、明石 満、高橋理明、山西弘一、森 康子：アジュバントとの併用による効果的な日本脳炎ワクチンの 1 回接種法の検討。第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌）2007 年 10 月

24) 孫賓蓮、星野重樹、中井智嘉子、佐多徹太郎、徳永研三、石坂幸人：Vpr によるゲノム DNA 二重鎖切断はマクロファージへの HIV-1 感染効率を上昇させる。第 21 回日本エイズ学会総会（広島）2007 年 11 月

25) 長谷川秀樹、一戸猛志、田村慎一、板村繁之、小田切孝人、田代眞人、佐多徹太郎、倉田毅：2005/2006 シーズナルインフルエンザワクチンの経鼻接種による高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)感染の交叉防御効果の検討。 第 11 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2007 年 12 月

26) 田村愼一、長谷川秀樹、佐多徹太郎、倉田毅：経鼻インフルエンザワクチン開発研究におけるモデルマウスの役割。 第 11 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2007 年 12 月

27) 永田典代、清水博之、安部 忍、長谷川秀樹、佐多徹太郎、倉田 毅：Sabin 株由来不活化ポリオワクチンの経粘膜ワクチンへの応用の可能性。第 11 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2007 年 12 月

28) 岡本成史、吉井洋紀、小島朝人、石川豊数、明石 満、高橋理明、山西弘、森 康子：ポリ-γ-グルタミン酸ナノ粒子の日本脳炎ワクチンアジュバントとしての可能性。第 11 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2007 年 12 月

29) 大滝尚広、高橋秀宗、田中恵子、石川豊数、東 雍、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 11 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2007 年 12 月

30) 片野晴隆：エイズ関連悪性腫瘍の感染病理に関する研究。 第 53 回日本病理学会秋期特別総会（東京）2007 年 12 月

31) 志村まり、前島一博、宮澤雅之、森美樹、徳永研三、佐多徹太郎、今本尚子、瀧澤俊博、石坂幸人：HIV-1 Vpr による核膜異常。第 30 回日本分子生物学会（横浜）2007 年 12 月

32) 中井智嘉子、峯本 譲、孫 賓蓮、徳永 研三、佐多徹太郎、石坂 幸人：HIV-1 アクセサリー遺伝子産物 Vpr はウイルスのセントロメア近傍への挿入効率を上昇させる。第 30 回日本分子生物学会年会（横浜）2007 年 12 月

33) 天野富美夫、西真由美、田村愛、斎藤典子、高橋徹成：マクロファージのサルモネラ感染に及ぼすキシロオリゴ糖の阻害効果。日本薬学会第 128 年会（横浜）2008 年 3 月

8．免　疫　部

部長　小林　和夫

概　　要

当部は感染症、すなわち、病原体—宿主関係を宿主応答の視点から感染症の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、免疫機能に関する研究、さらに、骨髄造血機構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．ヒト免疫不全ウイルス（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．重症急性呼吸器症候群（SARS）に関する研究

４．C 型肝炎ウイルス感染に関する研究

５．マウス肝炎ウイルス受容体に関する研究

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．類鼻疽の宿主防御に関する研究

５．細菌の運動性に関する分子機序

６．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．マラリア原虫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

２．高分子ポリフェノールによる異常プリオン蛋白質の形成抑制

V. 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．B細胞分化および粘膜免疫系における BILL カドヘリンの機能に関する研究

３．腸管粘膜ワクチンデリバリーシステムに関する基礎研究

VI. 骨髄造血機構に関する研究

１．骨髄幹細胞の自己複製に関する研究

２．骨髄不全症と炎症性蛋白に関する研究

品質管理に関する業務

国際協力関係業務

研修業務

共同利用機器管理

人事では、平成 19（2007）年 5 月に寺原和孝が東京大学医科学研究所から免疫部第一室研究員として採用された。また、平成 20（2008）年 3 月に谷山忠義　第二室長が定年退官した。

業　　績

調査・研究

I. ウイルス感染症

１．ヒト免疫不全ウイルス（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

我々が開発した 3’LTR/Nef 遺伝子の small hairpin 発現レンチウイルスは RNA 干渉により HIV 増殖を抑制する。フランスにおける血中ウイルス価の高い慢性 HIV 感染者で障害されている Gag 特異的 $CD4^+$T 細胞、特に中間分化段階の細胞はこのレンチウイルスの効果により増殖能を回復した。また、多種類のサイトカイン産生細胞は検出されないものの、これは HIV 抗原特異的な効果であり、$CD4^+$T 細胞のヘルパー機能保持におけるウイルス増殖制御の重要性が明らかとなった。[山本拓也（東大医科研博士課程・研究生）、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）、Brigitte Autran (パリ大学 Pitie Salpetriere Hospital、フランス共和国)、小林和夫、

井上純一郎（東大医科研）、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

Interferon (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β-lactamase を発現するレンチウイルスを作製し、生細胞で IFN-γプロモーター活性を FACS 解析するシステムの確立を試みた。このレンチウイルスに感染した CD4 陽性 T 細胞クローンでは IFN-γ持続産生を細胞内染色と同じ頻度で検出可能であったが、ヒトの末梢血細胞において抗原特異的に IFN-γを産生する T 細胞を検出するにはまだ感度的に問題があった。［山本拓也（東大医科研博士課程・研究生）、立川　愛・岩本愛吉（東大医科研・先端医療研究センター）、井上純一郎（東大医科研）、横田恭子］

（３）赤色蛍光を発する組換え HIV-1 の作製とその応用

プロウイルスクローン pNL432 をもとに HIV-1 の env の下流に Nef を保存した形で DsRed を発現する組換え HIV-1(X4)を作製した。更に env の部分を R5 型（AD8）に置き換え、HIV-1 感染細胞の蛍光を flow cytometry で検出可能な系を確立した。その応用として、green fluorescent protein（GFP）を発現する HIV-1(X4)と DsRed を発現する HIV-1 (R5)を同時に感染させた樹状細胞から CD4 陽性 T 細胞へのウイルス伝播・感染拡大における両ウイルスの増殖性の違いを解析している。［山本拓也（東大医科研博士課程・研究生）、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）、寺原和孝、稲垣好雄・井上純一郎（東大医科研）、山本直樹（エイズ研究センター）、小林和夫、横田恭子］

（４）HIV-Nef 発現による免疫不全発症の解明

HIVNef 発現による T 細胞免疫への影響を明らかにするため、卵白アルブミン（OVA）特異的 T 細胞抗原受容体トランスジェニックマウス（TGM）とコクサッキー・アデノウィルス受容体 TGM をかけあわせた double TGM を作成した。このマウスより精製した CD4+T 細胞に Nef 発現アデノウィルス、CD4 の発現抑制を起こさない Nef 変異体発現ウイルス（nefΔCD4）を感染させ、FACS を用いて Nef 発現、NefΔCD4 発現、および Nef 非発現 T 細胞を分離後、個体に移入し、T 細胞機能を検討した。その結果、Nef 発現細胞は、非発現細胞と比べ抗原刺激に対する活性化が低下し、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。しかし、活性化によるアポトーシス（AICD）に関しては nef 発現による影響は認められなかった。さらに、Nef 発現により、二次応答における CD4+T 細胞のヘルパー機能が低下することが示された。しかしこれらの T 細胞の異常は Nef による CD4 発現抑制とは無関係であった。これらの結果から、Nef 発現により CD4+T 細胞の抗原刺激に対する活性化が低下し免疫不全の要因の一つとなる可能性が示唆された。［藤猪英樹（協力研究員）、阿戸　学、高橋宜聖、竹森利忠（理研）］

（５）ワクチンに関する基礎的研究：酵母由来 HIV-1 Gag 粒子のマンノース量と樹状細胞による Cross-presentation 活性の関係

ヒト単球由来樹状細胞は外来抗原を cross-presentation する能力が高い抗原提示細胞であり、酵母由来 HIV-1 Gag ウイルス様粒子（VLP）を取り込んで Gag 特異的な CTL を活性化する。野生型 VLP（HmVLP）よりもマンノース量の低い変異型酵母（mnn9）由来 VLP（LmVLP）の方が CTL 誘導能が高い機構を解析した結果、個体差はあるものの LmVLP は IL-12 優位のサイトカインを誘導しやすいのに対し、高度にマンノース付加された HmVLP は糖鎖受容体シグナルを介して Th1 型の反応を抑制することが明らかとなった。［水越文徳（エイズ予防財団リサーチレジデント）、立川愛・岩本愛吉（東大医科研・先端医療研究センター）、森川裕子（北里大学北里生命科学研究所）、小林和夫、横田恭子］

２．インフルエンザに関する研究

（１）鳥インフルエンザ（H5N1）研究に有用なモノクローナル抗体の作製

鳥インフルエンザ（H5N1）のワクチン品質管理あるいは診断に有用なマウスモノクローナル抗体を作製した。最終的に H5 型 hemagglutinin（HA）に特異的に反応するクローン 6 個と neuraminidase（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、クレードの異なるインドネシア由来ウイルス株にも反応する 2 つの抗体を組み合わせてサンドイッチ酵素抗体法を確立し、H5N1 に対して特異性が高いことを確認した。［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)、高木弘隆（バイオセーフティ管理室)、小林和夫］

（２）プレパンデミックワクチンが惹起する中和抗体の認識分子に関する研究

新型インフルエンザの流行に備えるため、プレパンデミックワクチン（NIBRG-14）を接種したマウスでは、血清抗ヘマグルチニン（HA）抗体、あるいは抗ノイラミニダーゼ（NA）抗体が主要な感染防御因子であることを昨年度までに明らかにした。本年度の研究では、抗 HA 抗体と抗 NA 抗体の感染防御能をマウス移入実験により比較した結果、抗HA抗体と抗NA抗体は同程度の感染防御能を有し、両者が相乗的に作用して強毒 H5N1 ウイルスの排除に寄与する可能性が示唆された。［高橋宜聖、阿戸　学、小田切孝人・田代眞人（ウイルス第三部)、小林和夫］

（３）プレパンミックワクチンが惹起する感染防御抗体のウイルス中和メカニズムに関する研究

NIBRG-14 プレパンデミックワクチンが誘導する感染防御抗体は、赤血球凝集阻害（HI）活性や中和活性が低いことが報告されている。本年度の研究では、clade の異なるプレパンデミックワクチン（RG-Indonesia/5）について解析を進めた結果、NIBRG-14 と比べ HI 活性の上昇が認められたものの、他のサブタイプのワクチンに比べ依然 HI 活性の低いことが明らかとなった。しかし、補体因子 C1q の添加によって､抗血清の中和活性が部分的に増強したことから、プレパンデミックワクチンが誘導する感染防御抗体価の正確な測定には、C1q の添加が有効となる可能性が示唆された。［高橋宜聖、牛山義幸（実習生)、小田切孝人・田代眞人（ウイルス第三部)、小林和夫］

（４）インフルエンザウイルス経鼻感染に対する記憶 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、抗体産生の記憶応答が中心的な役割を担う。しかし、経鼻感染したインフルエンザウイルスの排除に必要な記憶 B 細胞サブセットは同定されておらず、その表現型や局在部位等の詳細はいまだ不明である。我々は、インフルエンザウイルスヘマグルチニンに特異的な記憶 B 細胞の同定技術を開発し、ウイルス感染マウスにおける局在性を解析した。その結果、肺に記憶 B 細胞が存在することを見いだし、脾臓記憶 B 細胞と表現型の異なることを明らかにした。［高橋宜聖、中村由里子（実習生)、小林和夫］

（５）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ヒト肺胞上皮由来 A549 細胞株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）をはじめ宿主由来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］

（６）ウイルス感染に有効なワクチン効果を賦与する生理活性物質の応用

感染症に対する個体の免疫応答能を高めると期待される天然の生理活性物質の経口摂取による免疫効果確認のため、マウスの食餌や飲料水にオリゴ乳酸や小麦胚芽抽出物を一定期間加え、不活化インフルエンザ（PR8）を皮下あるいは経鼻投与した。血中の PR8 特異的 IgG サブタイプの抗体価のうち､IgG2a サブタイプの抗体価が有意に増強あるいは低下していた。このことは食品として安全に摂取できる物質を利用した免疫応答制御の可能性を示唆する。［寺原和孝、光木裕也（東京医歯大博士課程・研究生)、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)、高橋宜聖、小林和夫、村上正裕（大阪大谷大学)、横田恭子］

（７）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末梢血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白血球動態と血中サイトカイン濃度を測定した。その結果、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。さらに、白血球減少の機序を調べる目的で、ワクチン投与後の白血球アポトーシスを解析したが、全粒子ワクチン投与後のアポトーシス細胞増加は認められず、白血球の生体内移動によって末梢血白血球の減少が起こることが考えら

れた。一方、IFN-α産生を誘導するウイルス分子の探索に関して、全粒子ワクチン中にIFN-α産生を引き起こす作用のあるRNAが検出されたことから、ウイルスRNAが白血球減少を引き起こす因子であることが示唆された。［論文投稿中］［阿戸　学、高橋宜聖、藤猪英樹・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)］

３．SARS-CoVの中和エスケープ変異の解析

SARS-CoV Spikeに対するモノクローナル中和抗体（SKOT3, 19, 20）抵抗性の変異SARS-CoV クローンをプラークにより精製した。得られたウイルスには S1 ドメインの angiotensin converting enzyme-2 (ACE-2) receptor binding domain (RBD) あるいはS2ドメインに1つまたは2つのアミノ酸置換をともなう変異があり、それぞれの中和抗体に抵抗性を獲得していた。SKOT19とSKOT20はS1にエピトープがあり、SKOT3のようなS2にエピトープを持つ抗体と組合せることにより、低濃度で確実な中和効果が得られた。［光木裕也（東京医歯大博士課程・研究生)、大島正道、大西和夫、山本拓也（東大医科研博士課程・研究生)、高木弘隆（バイオセーフティー管理室)、山本直樹（エイズ研究センター)、山岡昇司（東京医歯大)、小林和夫、横田恭子］

４．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た（J Viral Hepatitis 13: 746-55, 2006)。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の産生機構について検討中である。［大島正道、清水洋子（日大医学部・協力研究員)、土方美奈子（国立国際医療センター)、吉倉　廣（CODEX)］

５．腸管上皮におけるマウス肝炎ウイルス（MHV）レセプターの解析

MHVは腸管上皮に発現するCEACAM1^{a}を介して感染する。CEACAM1^{a}は選択的スプライシングにより4種類の受容体型構造をとるアイソフォームが知られているが、RT-PCRの結果、マウス小腸上皮層において新たに3種類の選択的スプライシングバリアント（CEACAM1^a-2、CEACAM1^a-2C1、CEACAM1^a-4C1）の発現を認め、そのいずれとも分泌型構造をとっていた。さらにタンパクレベルでの解析から腸管分泌液中にCEACAM1^a-4C1が認められ、MHVとの結合能を有していることも明らかとなった。現在、CEACAM1^a-4C1 による MHVの感染中和効果について解析を進めている。［寺原和孝、横田恭子、山本拓也（東大医科研博士課程・研究生)、田口文広（ウイルス第三部)、吉田理人・五十嵐脩・後藤義幸・野地智法・清野　宏（東大医科研)、Nicole Beauchemin（McGill大学、カナダ)］

II. 細菌感染症

１．抗酸菌感染症に関する研究

（１）抗酸菌におけるチミジル酸合成酵素の役割

チミン誘導体合成経路は生物にとって必須の代謝経路であり、チミジル酸合成酵素（thymidylate synthetase, TS）によるdUMPからdTMPへの過程を含む。抗酸菌はTSとしてThyAとThyXを持つ。ThyXの反応にはflavin adenine dinucleotide（FAD）を補酵素として必要とし、NADPH の酸化を伴う。BCGの*thyX*遺伝子欠損株を作製し、その性状を調べたところ、培地成分によりその増殖が顕著に抑制された。*thyX*遺伝子欠損株にNADPHの酸化活性にみ変異型*thyX*遺伝子を導入することにより増殖は相補された。このことからBCGのThyXは同菌の酸化還元電位の恒常性に寄与している可能性が示唆された。［大原直也、岡部真裕子、小林和夫、吉村満美子（大阪市立大学大学院医学研究科)、中山浩次（長崎大)］

（２）IL-15産生組換えBCGワクチン

IL-15はメモリーCD8 T細胞の維持に重要である。IL-15-Ag85Bを産生する組換えBCGを作製し、結核菌感染に対する効果を調べた。抗原特異的CD8 T細胞の産生するIFN-gamma量、精製ツベルクリン蛋白質（PPD）あるいはAg85B特異的CD4 T細胞が産生するIFN-gamma量ともにAg85B産生組換えBCG免疫マウスのT細胞よりも、IL-15-Ag85B産生組換えBCG免疫マウスのT細胞のほうが高かった。また CD8 T 細胞、CD4 T 細胞の反応性もIL-15-Ag85B産生組換えBCG免疫マウスのほうがよく、肺葉における結核菌に対する抵抗性も高か

った。［大原直也、唐　策・山田久方・柴田健輔・前田直良・吉田真一（九州大学）、木下タロウ(大阪大学)、Worawidh Wajjwalku（Kasetsart 大学、タイ王国）］

（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。さらに、*M. fortuitum* にトランスポゾン配列を導入し、細菌ゲノムの異なる部位にトランスポゾン配列が挿入されたことを確認した。現在、*M. fortuitum* で発現するペプチドの T 細胞免疫誘導能を確認中である。変異株のライブラリーを作成後、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・渡邉治雄（細菌第一部）、竹森利忠（理研）］

（４）潜在性結核菌感染

多くの活動性成人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。潜在性結核菌感染における休眠菌の制御系を分子生物学的に解析し、正の制御因子：mycobacterial DNA binding protein 1（MDP1）と負の制御因子：ß-ketoacyl- acyl carrier protein synthase（KasB）を解明した。

抗酸菌細胞質内 MDP1 の発現増強は休眠状態を誘導し、MDP1 は休眠における正の制御因子であることが判明した。さらに、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。細胞表層 MDP1 は結核菌の侵入における接着にも関与し、多機能分子である。［小林和夫、松本壮吉（大阪市立大学大学院医学研究科）］

Trehalose dimycolate（TDM）など糖脂質は結核菌に特徴的であるため、糖脂質関連酵素（KasB）の潜在性結核菌感染における役割の解明を研究目的とした。*kasB* 遺伝子欠損株の細菌学的性状として、１）小型集落形成、２）抗酸性の消失、３）紐状発育（病原性結核菌で増強）の消失や４）TDM 炭素鎖長の短縮（親株に比し＜10）が認められた。*kasB* 欠損株に対する宿主応答として、１）病理組織学的に肉芽腫形成の減弱・消失、２）組織内で抗酸性の消失、３）感染マウスの生存延長、４）肺の臓器内生菌数の定常的低下を示し、親株と対比的であった。結核菌糖脂質関連酵素（KasB）は「抗酸性」、「病原性」や「休眠および潜在性結核菌感染」に重要であり、KasB を標的とした抗結核化学療法薬の開発や免疫応答は潜在性結核菌感染対策に基盤を提供した。［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, Jr.（Albert Einstein College of Medicine、アメリカ合衆国）］

（５）*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。さらに、血清抗 GPL 抗体価は MAC 感染症の画像診断で評価された疾患活動性（病変の拡がり、結節陰影数など）を反映し、活動性の指標となることが判明した。すなわち、血清抗 GPL 抗体価の測定は、１）MAC 感染症の診断、加えて、２）疾患活動性の評価に有用である。［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）］

（６）MAC 特異的細胞壁糖脂質蛋白質（GPL）合成系の解明

GPL は MAC の 28 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* 血清型 7 由来 GPL は MAC 共通なコア部分（fatty acyl-D-Phe-D-allo-Thr-D-Ala-L-alanino 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 が豊富であり、GPL 糖鎖合成系に rhamnose 転移酵素（*rtfA* 遺伝子）群が関与していた。GPL 抗原に対し、感

染宿主は抗体産生など、液性免疫応答を示すことから、MAC 病原性における GPL の役割、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（結核研究所）］

（７）結核発生動向における新規分子疫学の応用

従来、結核菌の分子疫学に DNA 指紋法（restriction fragment length polymorphism：RFLP）が用いられてきたが、RFLP は多施設で得られた結果の比較や菌培養により多量の DNA を必要とすることなど、課題があった。ポリメラーゼ連鎖反応を利用した反復配列多型解析（variable number of tandem repeats：VNTR）は多施設比較が容易、かつ、培養不要で少量の DNA により解析可能である。大阪市域で得られた結核菌の RFLP と VNTR 解析結果を比較したところ、両者で良好な相関が認められた。今後、結核の分子疫学に「VNTR」が応用されることが期待される。［和田崇之・長谷　篤（大阪市立環境科学研究所）、前田伸司（結核研究所）、小林和夫］

２．歯周病菌（*Porphyromonas gingivalis*）の病原性因子に関する研究

（１）*Porphyromonas gingivalis* 33277 株ゲノムの解析

P. gingivalis 33277 株ゲノムの全塩基配列 2,354,886 塩基対を決定した。すでに決定されている W83 株ゲノムと詳細に比較、解析したところ、175 部位においてゲノムの再構成が見つかった。35 箇所は逆位あるいは転位であった。140 箇所は配列の挿入、欠損、あるいは入れ替りによるものであった。両株ともに多くの転位因子を有しており、これが頻繁なゲノムの再構成の原因と考えられた。またこの菌において特徴的な miniature inverted-repeat transposable element の存在が明らかになった。［大原直也、内藤真理子・庄子幹郎・雪竹英治・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、いずれの欠損株も野生株と同様の増殖量を示した。しかし、静止期から遅滞期への環境変化に対する適応能力が減少していた。また PG1318 遺伝子破壊株は染色体遺伝子の変異が高頻度に生じており、PG1318 が染色体の安定性に関与していることが示された。［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働く。*P. gingivalis* W83 株の TPR domain タンパク質のひとつ PG1385 の遺伝子破壊株は、マウスに対する病原性が顕著に低下した。PG1385 はペリプラズム画分を中心に局在し、PG1385 遺伝子欠損株と野生株では外膜画分のタンパク質電気泳動像が異なること、PG1385 と相互作用するタンパク質が膜画分に存在することから PG1385 は細胞膜あるいはペリプラズムに存在する病原性因子の制御に関わっていることが示された。［大原直也、吉村満美子（大阪市立大学大学院医学研究科）、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）］

（４）歯周炎発症における宿主の遺伝学的要因に関する研究

自然免疫発現に関与する Toll 様受容体（TLR）2 および TLR4 は歯周病原性細菌の認識において重要な役割を担う。*TLR2*、*TLR4* 遺伝子多型が慢性歯周炎の発症および進行に与える影響について臨床検体を用いて調べた。その結果、欧米において高頻度に出現することの報告された遺伝子多型は、全く検出されなかった。しかし、重度歯周炎患者から、*TLR2* に 5 ヵ所、*TLR4* に 4 ヵ所の遺伝子多型が検出された。この中で、*TLR4* +3725G>C は、全歯周炎患者群において健常対照者群よりも高頻度の C アレルを検出した（P=0.043）。また、中等度および重度歯周炎患者群と健常対照者群間の劣性効果危険率においても統計学的な有意差を認めた。［大原直也、福崎　毅・吉村篤利・原　宜興・吉浦孝一郎・山口竜亮・金子高士（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

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、いったん発病すると急速に進行し、ショック症状、多臓器不

全などを伴う、致死率の高い重篤な感染症である。本邦において、2000 年以降、劇症型感染起因菌として増加している emm49 型の *S. pyogenes* について、劇症感染患者分離株および非劇症感染患者分離株を収集し、それらに対するヒトの細菌感染防御機構の中心的役割を担う細胞群である好中球の防御能を解析した。その結果、劇症型分離株と非劇症型分離株に対する好中球貪食能に差異はなかったが、非劇症型分離株に比べて、劇症型分離株は好中球の殺菌に抵抗性を示すことが判明した。この機序として、劇症型分離株において高発現しているストレプトリシン O が、好中球にネクローシスを誘導することが原因と考えられた。好中球の直接障害に加えて、劇症株では、好中球の主要な走化因子インターロイキン 8 を分解するセリンプロテアーゼである *ScpC* の発現が増強し、非劇症株と比べて、好中球遊走を抑制することが判明した。さらに、これらの病原性因子の発現増強は、劇症型感染分離株のみに認められる遺伝子発現調節因子 *csrS* の変異によって生じていることが判明した。以上の結果から、劇症型 *S. pyogenes* 感染症では *csrS* の変異によって、病原因子ストレプトリシン O や *ScpC* の発現が増強し、感染局所への好中球走化抑制と好中球直接障害により、感染部位に好中球浸潤を伴わない特異な病態による宿主防御機構の破綻を招来し、劇症型感染を惹起する可能性が示唆された。［論文投稿中］［阿戸　学、池辺忠義・渡邉治雄（細菌第一部）、竹森利忠（理研）、小林和夫］

４．類鼻疽における糖尿病患者由来好中球防御機能異常

類鼻疽は *Burkholderia pseudomallei* によって起こる重篤で治療困難な感染症である。発症の主要な危険因子は糖尿病であるが、その発症機序に関する免疫学的検索はなされていない。本研究では、タイ人糖尿病患者および健常人より精製した好中球の *B. pseudomallei* に対する in vitro 防御機構を解析した。その結果、*B. pseudomallei* は他のグラム陰性菌であるサルモネラ菌や大腸菌に比べて好中球の貪食に対して抵抗性を示し、好中球内で２４時間以上生存することから、好中球の殺菌に対しても他の菌と比べて抵抗性を示すことが判明した。さらに、糖尿病患者由来好中球は、健常人由来好中球に比べて *B. pseudomallei* 貪食能の低下と、IL-8 に対する遊走能の低下が認められた。殺菌能に関しては、糖尿病患者と健常人の間で差が認められなかった。以上より、類鼻疽で糖尿病が発症危険因子である理由として、糖尿病患者における好中球機能障害が原因である可能性が示唆された。［論文投稿中］［阿戸　学、Sujin Chanchamroen, Ganjana Lertmemongkolchai（コンケーン大学、タイ王国）］

５．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。べん毛基部には６種の膜タンパク質から成る輸送装置が存在し、３種の細胞質タンパク質と共にべん毛を特異的に輸送する。この細胞質タンパク質とべん毛基部体を形成する C リングの構成タンパク質との間で相互作用を確認し、新たな輸送モデルを提唱した。一方、輸送装置を形成する膜タンパク質 FlhB の C 末ドメインが自動的に切断されることを明らかにした。FlhB は FliK と共に基質認識に関与しており、一定時間で自動的に切断されて輸送基質切り替えのタイミングを計る「分子タイマー」として機能することが示唆された。［岡部真裕子、Bertha González-Pedrajo（Universidad Nacional Autónoma de México、メキシコ合衆国）、Jonathan McMurry（Kennesaw State University、アメリカ合衆国）、Hedda Ferris（Max Planck Institute for Developmental Biology、ドイツ連邦共和国）、南野徹・難波啓一（阪大）、May Kihara（Yale University、アメリカ合衆国）］

６．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（tetanus toxin: T.Tn）は、破傷風菌の産生する毒素蛋白で、宿主が破傷風菌感染で死亡する原因物質である。その分子構造と神経細胞内での致死誘導メカニズムについては詳細が判明している。しかし、T.Tn が神経細胞と結合する受容体分子については、不明のままである。受容体分子同定の実験としては、T.Tn と結合するマウス脳組織由来蛋白質を部分精製し、この蛋白質のペプチドから、そのアミノ酸配列の１部を同定し、このアミノ酸配列と相同性を持つ分子をアミノ酸データーベースから求めた。その結果、イオンチャンネルを形成する蛋白の１つとホモロジーのあることが判明した。次に、この分子が受容体として機能しているか否かを調べるために、米国 Baylor 医科大学 W. J. Craigen 教授によって作成された同分子をコードする遺伝子欠損マウスを用いた実験を共同研究として計画した。遺伝子欠損マウスと、欠損のない同系マウスの分与を受け、T.Tn の感受

性が調べられた。結果は、T.Tn 感受性に、欠損、非欠損両マウス間で全く差が認められなかった。これは、当初に同定した T.Tn 結合分子が受容体として機能していないことを示唆するものであった。［平山中己、W. J. Craigen（Baylor 医科大学、アメリカ合衆国)］

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、大部分の原虫は脾臓周辺帯（MZ）マクロファージに貪食されるが、樹状細胞（DC）には貪食されない。しかし、DC は IL-12 を産生し感染特異的 T 細胞免疫を誘導する。これより、感染初期には、原虫を貪食したマクロファージが、脾臓 MZ において一部の樹状細胞に抗原および活性刺激を伝達していることが想定される。*L. donovani* 感染初期におけるマクロファージから樹状細胞への抗原情報の伝達機構を明らかにするため、マウスマクロファージに *L. donovani* を in vitro で感染させた後、非感染マウスに移入した。その結果、脾臓 DC から IL-12 産生が起こり、マクロファージから DC へ抗原が伝達されることを明らかにした。現在、DC 抗原の輸送がいかなる機構によるかを解析中である。［阿戸　学、Paul Kaye（University of York、英国)］

２．マラリア原虫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から確定された。今年度は、IL-10 と同様に抑制性サイトカインとして知られている TGF-beta について検索した結果、抗 TGF-beta 抗体を投与しても、死亡率の改善には繋がらず、また延命効果も見られなかったことから、UV 照射によるマラリア感染性亢進に拘る因子は、これら２つのサイトカイン以外の因子であることが考えられる。現在、UV による制御性 T 細胞活性化とマラリア感染感受性について検討を行っている。［山本紀一（協力研究員)、高橋宜聖、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

ヒトのマンソン住血吸虫（*Schistosoma mansoni*: S.m.）感染モデルとして、マウス S.m.感染系を用いて、これまでの実験で弱毒化幼虫感作による比較的強い感染防御効果が得られている。弱毒化幼虫は、セルカリアの in vitro 培養系に弱毒化試薬として DNA 合成阻害剤を加えて作成している。今回は、マウスへの感作回数と防御効果の関係を調べた。弱毒化幼虫によるマウスへの感作は、１回、３回、６回の３群に分けて行われた。感染防御効果は、感作後に対照としての非感作群を含む計４群に S.m.感染を行い、この感染が感作により、どの程度防御されたかで判定した。結果は、弱毒幼虫１回感作は、非感作群に対して強い防御効果が見られ、この１回感作よりも３回感作の方がマウス個体間での感染虫数のバラツキが小さく、かつ平均感染数も少なくなっていた。６回感作と３回感作とでは、防御効果に差が見られなかった。結論として、感作回数は３回が１回よりも安定かつ十分な防御効果を誘導し、それ以上の感作も不要であることが判明した。現在、この３回感作後、どの程度の期間防御効果が持続しているかを調べる実験が進行している。［平山中己、朝日博子（寄生動物部)、吉成正裕・南　陸彦（横浜市立大学)、金澤　保（産業医科大学)］

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

牛海綿状脳症（BSE）牛由来の食物を摂取することにより体内に侵入した異常型プリオン蛋白質が、長期潜伏期間ののち脳に伝達性海綿状脳症（TSE）を引き起こす過程で、免疫系細胞が重要な役割を担っていることが強く示唆されている。免疫系細胞における異常型プリオン蛋白質の伝播能を調べるため、各種免疫系細胞株に標識プリオン遺伝子を導入してそのプリオンの動態を観察する *in vitro* 実験系の構築を行った。その結果、プロＢ細胞株とマクロファージ前駆細胞株で高いプリオン蛋白質発現・保持能を認めた反面、濾胞性樹状細胞（FDC）様細胞株にはそれを認めなかった。この結果は、これらの細胞が局在する骨髄において異常プリオン蛋白質の伝播が進む可能性を示唆し、BSE 発症牛の骨髄が感染性部位であることの

説明の一つとなる。今後、骨髄における異常プリオン蛋白質の動態に着目する必要があると考える。［大西和夫、山口沙由里（非常勤職員）］

２．高分子ポリフェノール（MAF）による異常プリオン蛋白質の形成抑制

現在、プリオン病の発症を抑える技術は実現していない。異常プリオン蛋白質のアミロイド形成に関与するベータ・シート構造と相互作用する可能性のある物質として MAF（ミトコンドリア活性化因子；高分子ポリフェノール）に着目した。マウス神経芽細胞株である ScN2a を用いた異常プリオン蛋白質形成試験管内測定法により、MAF の異常プリオン蛋白質形成抑制能を検討した結果、非常に強い抑制効果があることが判明した。この効果は、既存ポリフェノールなどの効果と比較すると際立ったものである。また、MAF は食品（発酵茶）由来成分であるため毒性が非常に低いと考えられる。従って、MAF をプリオン病発症モデルマウスに投与して、プリオン病発症が抑制または阻害される方法を検討することにより、これまで実現されていないプリオン病治療法への応用が期待できる。［大西和夫、小澤哲夫・沼田　治（筑波大学大学院生命環境科学）］

V．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

獲得免疫系で抗原認識・感染防御に中心的な役割を担うＢ細胞受容体やＴ細胞受容体は、遺伝子再構成によって高度な抗原認識多様性を生み出す。膨大な数の抗原認識特異性を生み出し、管理する過程で中心的な役割を果たす要素の一つがプレＢ細胞受容体であり、遺伝子再構成に成功した抗体Ｈ鎖を温存し、それを効率よく利用して免疫系を構築して行く上で重要な役割を果たす。プレ B 細胞受容体は抗体Ｈ鎖と代替Ｌ鎖からなり、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。この分子の作用様式をホモロジーモデリングおよび分子動力学法によって解析している。これまでの結果は、Lambda5 と VpreB の non-Ig ドメインが形成する２つの突起状構造に局在する複数の荷電アミノ酸が受容体間の強い相互作用を誘導する可能性を示唆している。［大西和夫、Lill Martensson（Babraham Institute、英国）、Fritz Melchers（Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国）、藤本浩文（放射能管理室）］

２．抗体産生Ｂ細胞分化および粘膜免疫系における BILL カドヘリンの機能に関する研究

BILL カドヘリン（cadherin-17）は抗体産生 B 細胞分化の過程で spatiotemporal な制御を受けて発現する細胞接着因子である。この分子はまた腸管上皮細胞などの粘膜免疫組織にも発現する。粘膜免疫系における BILL カドヘリンの機能を知る目的で、腸管、肺などの粘膜免疫組織における発現パターンを、組織免疫染色法、ウエスタンブロット法、フローサイトメトリー法により詳細に検討した。その結果、腸管上皮細胞の頂側膜並びに側底膜に非常に強く局在していることが明らかになった。この結果は、腸管内腔の抗原取り込みや腸内細菌との相互作用にこの分子が関与している可能性を示唆する。特に腸内病原細菌の標的分子となる可能性について、BILL カドヘリン遺伝子欠損マウスや組換え遺伝子発現実験系を用いて検討を進めている。［傅　舟一・沼田　治（筑波大学大学院生命環境科学）、清水健之（札幌医科大学）、小林和夫、Fritz Melchers（Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国）、大西和夫］

３．粘膜ワクチンデリバリーシステムへの応用を見据えた M 細胞の免疫生物学的解析

腸管などの粘膜上皮層には抗原取り込み能を有する M 細胞が存在する。この M 細胞の発生・分化機構を解析した結果、パイエル板 M 細胞はその発生・分化が胎生期でプログラムされているのに対し、腸内細菌や炎症誘導剤による後天的腸内環境変動により、吸収上皮細胞が M 細胞様に分化することを見出した。パイエル板 M 細胞・M 細胞様細胞・吸収上皮細胞の 3 群について DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析、ならびに in situ ハイブリダイゼーション・免疫組織染色による mRNA・タンパクレベルでの発現解析の結果、glycoprotein 2（GP2）、および MARCKS-like protein がパイエル板 M 細胞に特異的に発現することが明らかとなった。特に GP2 はパイエル板 M 細胞の管腔面にも局在することから、ワクチンデリバリーの際の新たな標的分子になりうることが示された。［論文投稿中］［寺原和孝、五十嵐脩・野地智法、後藤義幸・吉田理人・幸　義和・清野　宏（東大医科研）、長谷耕二・大野博司（理研）］

VI．骨髄造血機構に関する研究

１．骨髄幹細胞の自己複製に関する研究

Translin 遺伝子欠損（TSN-KO）マウスの骨髄では、造血幹細胞の複製と分化の振り分けに異常が認められる。このメカニズムの詳細を明らかにするために、変異マウスの骨髄を 5-bromo-2-deoxyuridine（BrdU）標識し、幹細胞の細胞周期の変化を FACS によって解析した。その結果、変異マウスの骨髄では、造血幹細胞（Lin-, Sca1+, c-Kit+）と間葉系幹細胞（Lin-, Sca1+, c-Kit-）の S/G2/M 期における BrdU の取り込みが極めて低いという結果が得られた。細胞周期の S/G2/M 期は、幹細胞の均等、不均等分裂の決定に極めて重要な時期であるので、変異マウスの幹細胞における S/G2/M 期の遅延は、幹細胞の複製と分化の振り分け異常に関連していることを示している。［石田礼子・福田裕子（非常勤職員）、齋藤祐美・浅野茂隆(早稲田大学理工学術院)、葛西正孝］

２．骨髄不全症と炎症性蛋白に関する研究

骨髄不全症を呈する *Translin* 遺伝子欠損（TSN-KO）マウスの骨髄では、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。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、この現象は骨髄を取り囲む微小環境（Niche）の影響に起因するものであった。さらに、骨髄と骨画分から RNA を抽出して microarray 解析を行った結果、変異マウスの骨髄画分では骨芽細胞数の形成に係わる遺伝子、骨画分では炎症性蛋白の遺伝子の発現に大きな変動が認められた。以上の結果は、*Translin* 遺伝子が骨髄における炎症反応を感知して、造血幹細胞の複製と分化の振り分けを制御していることを示唆している。[石田礼子・福田裕子（非常勤職員）、大堀桃子・浅野茂隆(早稲田大学理工学術院)、葛西正孝]

品質管理に関する業務

I. 急性 A 型ウイルス（HAV）肝炎診断薬承認前審査業務

HAV 抗体体外診断薬の承認前検査に必要な HAV 抗体国内血清パネルの整備を進めている。2006 年７月末に滋賀県米原市で発生した急性 HAV 集団発生に際して滋賀県健康推進課の協力を得て収集した IgM 型 HAV 抗体陽性血清について抗体価を評価し血清パネルに組み入れた。HAV 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により、患者から提供を受け、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。この整備事業は「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：ウイルス感染症の体外診断薬の再評価に関する基盤整備に関する研究」（研究代表者：山口一成　血液・安全性研究部長）の支援により進めている。［大西和夫、山口沙由里（非常勤職員）、小林和夫］

国際協力関係業務

I. 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国際協力機構（JICA）研修員として１名（メキシコ合衆国）に「結核やHIV感染症」を2007年11月5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、2007 年 10 月 11 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、2007 年 12 月 10 日、講義した。［小林和夫］

Ⅲ. 高校生を対象としたシンポジウム：鳥インフルエンザ

独立行政法人科学技術振興機構「地域科学技術理解増進活動推進事業研究費」（研究代表者　桐野高明）によるアウトリーチ活動として国立感染症研究所において高校生を対象としたシンポジウム第 2 回箱根山周辺の身近な医療先端科学「鳥インフルエンザ」を 2007 年 11 月 17 日、主催した。[大島正道]

共同利用機器管理

機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存した。その結果、平成 19 年度細胞自動解析装置の使用は 591 回、1104 時間で、その内訳は感染研 551 回、994 時間、感染研以外の研究機関 40 回、110 時間であった。また、機器使用者が円滑に実験を遂行できるよう、機器の定期的な点検を行い、故障等のトラブルには早急に対処した。機器操作に不慣れな使用者や、特殊な操作法を希望する使用者に関しては、個別に技術指導を行った。［渡辺恵理（非常勤職員）、高橋宜聖、小林和夫］

発表業績一覧

I. 誌上発表

１．欧文発表

1) Tsunetsugu-Yokota, Y., M. Ishige, M. Murakami. 2007. Attenuated *Salmonella typhimurium* expressing codon-opitimized HIV-1 Gag potentiated Gag-specific CD8+ T cell-response in intestinal mucosa. AIDS Res. Hum. Retroviruses 23: 278-286.

2) Tsunetsugu-Yokota, Y., M. Ato, Y. Takahashi, S. Hashimoto, T. Kaji, M. Kuraoka, K. Yamamoto, Y. Mitsuki, T. Yamamoto, M. Oshima, K. Ohnishi, and T. Takemori. 2007. Formalin-treated UV-inactivated SARS coronavirus vaccine retains its immunogenicity and promotes Th2-type immune responses. Jpn. J. Infect. Dis. 60: 106-112.

3) Nitahara-Kasahara, Y., M. Kamata, X. Zhang, K. Muneta, Y. Miyamoto, T. Yamamoto, S. Iijima, Y. Yoneda, Y. Tsunetsugu-Yokota, and Y. Aida. 2007. A novel nuclear import of Vpr promoted by importin α is crucial for HIV-1 replication in macrophage. J. Virol. 81: 5284-5293.

4) Takayanagi, R., T. Ohashi, E. Yamashita, Y. Kurosaki, K. Tanaka, Y. Hakata, Y. Komoda, S. Ikeda, Y. Tsunetsugu-Yokota, Y. Tanaka, and H. Shida. 2007. Enhanced replication of human T-cell leukemia virus type 1 in T cells from transgenic rats expressing human CRM1 that is regulated in a natural manner. J. Virol. 81: 5908-5918.

5) Yamamoto, T. and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. Prospects for the therapeutic application of lentivirus-mediated gene therapy to HIV-1 infection. Curr. Gene Ther. 8: 1-8.

6) Nochi, T., Y. Yuki, A. Matsumura, M. Mejima, K. Terahara, D-Y. Kim, S. Fukuyama, K. Iwatsuki-Horimoto, Y. Kawaoka, T. Kohda, S. Kozaki, O. Igarashi, and H. Kiyono. 2007. A novel M-cell–specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. J. Exp. Med. 204: 2789-2796.

7) Mishima, T., K. Iwabuchi, S. Fujii, S. Tanaka, H. Ogura, K. Watano-Miyata, N. Ishimori, Y. Andoh, Y. Nakai, C. Iwabuchi, M. Ato, A. Kitabatake, H. Tsutsui, and K. Onoe. 2008. Allograft inflammatory factor-1 augments macrophage phagocytotic activity and accelerates the progression of atherosclerosis in ApoE-/- mice. Int. J. Mol. Med. 21: 181-187.

8) Fukuda, Y., R. Ishida, K. Aoki, T. Takahashi, K. Mochida, O. Suzuki, J. Matsuda, and M. Kasai. 2008. Contribution of translin to hematopoietic regeneration after sublethal ionizing irradiation. Biol. Pharm. Bull. 31: 207-211.

9) Ohataka-Maruyama C., A. Miwa, H. Kawano, M. Kasai, and H. Okado. 2007. Spatial and temporal expression of RP58, a novel zinc finger transcriptional repressor, in mouse brain. J. Comp. Neurol. 502: 1098-1108.

10) Takahashi, Y. 2007. Memory B cells in systemic and mucosal immune response; Implications for successful vaccination. Biosci. Biotech. Biochem. 71: 2358-2366.

11) Hotokezaka, H., E. Sakai, N. Ohara, Y. Hotokezaka, C. Gonzales, K. Matsuo, Y. Fujimura, N. Yoshida, and K. Nakayama. 2007. TNF-alpha, lipopolysaccharide, and peptidoglycan induce cell fusion independently of RANKL at the latest step of differentiation of RAW264.7 cells into osteoclast-like cells. J. Cell. Biochem. 101: 122-134.

12) Fukusaki, T., N. Ohara, Y. Hara, A. Yoshimura, and K. Yoshiura. 2007. Evidence for association between a Toll-like receptor 4 gene polymorphism and moderate/severe periodontitis in the Japanese population. J. Periodont. Res. 42: 541-545.

13) Tang, C., H. Yamada, K. Shibata, N. Maeda, S. Yoshida, W. Wajjwalku, N. Ohara, T. Yamada, T. Kinoshita, and Y. Yoshikai. 2008. Efficacy of recombinant BCG vaccine secreting IL-15/Ag85B fusion protein on protection against *Mycobacterium tuberculosis*. J. Infect. Dis. 197: 1263-1274.

14) Kondo, Y., M. Yoshimura, N. Ohara, M. Shoji, H. Yukitake, N. Naito, T. Fujiwara, and K. Nakayama. 2007. Involvement of a tetratricopeptide repeat-containing protein in the virulence of *Porphyromonas gingivalis*. *In* Interface Oral Health Science 2007 (W. Watanabe and O. Okuno eds.) Tokyo: Springer. 271-272.

15) Fujiwara, N., N. Nakata, S. Maeda, T. Naka, M. Doe, I. Yano, and K. Kobayashi. 2007. 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.

16) Katsube, T., S. Matsumoto, M. Takatsuka, M. Okuyama, Y. Ozeki, M. Naito, Y. Nishiuchi, N. Fujiwara, M. Yoshimura, T. Tsuboi, M. Torii, N. Oshitani, T. Arakawa, and K. Kobayashi. 2007. Control of cell wall assembly by a histone-like protein in mycobacteria. J. Bacteriol. 189: 8241-8249.

17) Bhatt, A., N. Fujiwara, K. Bhatt, S. S. Gurcha, L. Kremer, B. Chen, J. Chan, S. A. Porcelli, K. Kobayashi, G. S. Besra, and W. R. Jacobs, Jr. 2007. Deletion of *kasB* in *Mycobacterium tuberculosis* causes loss of acid-fastness and subclinical latent tuberculosis in immunocompetent mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104: 5157-5162.

18) Kitada, S., Y. Nishiuchi, T. Hiraga, N. Naka, H. Hashimoto, K. Yoshimura, K. Miki, M. Miki, M. Motone, T. Fujikawa, K. Kobayashi, I. Yano, and R. Maekura. 2007. Serological test and chest computed tomography findings in patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease. Eur. Respir. J. 29: 1217-1223.

19) Maeda, Y., T. Mukai, M. Kai, Y. Fukutomi, H. Nomaguchi, C. Abe, K. Kobayashi, S. Kitada, R. Maekura, I. Yano, N. Ishii, T. Mori, and M. Makino. 2007. Evaluation of major membrane protein-II as a tool for serodiagnosis of leprosy. FEMS Microbiol. Lett. 272: 202-205.

20) Wada, T., S. Maeda, A. Hase, and K. Kobayashi. 2007. Evaluation of variable numbers of tandem repeat as molecular epidemiological markers of *Mycobacterium tuberculosis* in Japan. J. Med. Microbiol. 56: 1052-1057.

21) Kasama, T., T. Isozaki, T. Odai, M. Matsunawa, K. Wakabayashi, H.T. Takeuchi, S. Matsukura, M. Adachi, M. Tezuka, and K. Kobayashi. 2007. Expression of angiopoietin-1 in osteoblasts and its inhibition by tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma. Transl. Res. 149: 265-273.

22) Takahashi, T., Y. Nishizawa, F. Hato, H. Shintaku, N. Maeda, N. Fujiwara, M. Inaba, K. Kobayashi, and S. Kitagawa. 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

２．和文発表

1) 寺原和孝、横田（恒次）恭子．2007．粘膜ワクチンの研究開発．ワクチンの展望４．ワクチン感染症のコントロールに向けて．治療学 4：67-70.

2) 大西和夫．2008．pre-B 細胞レセプターからのシグナル伝達．臨床免疫　49：121-127.

3) 松本壮吉、平山幸雄、小林和夫．2007．結核菌の潜伏感染と内因性再燃の分子機構．新感染症学（上）-新時代の基礎・臨床研究-　感染症学総論　IV．慢性化、潜伏化、再発再燃の機序．日本臨床　65（増刊号 2）：124-128.

4) 松本壮吉、尾関百合子、小林和夫．2007．結核菌の新規病原因子 MDP1 の感染病態への関わり．感染・炎症・免疫　37：98-101.

5) 岡田全司、小林和夫．2007．IV．抗酸菌研究の最前線．結核　82：783-799.

6) 松本壮吉、小林和夫．2007．IV．抗酸菌研究の最前線．結核菌病原因子による病変形成と感染防御．結核　82：786-789.

7) 岡部真裕子、大原直也、小林和夫．2007．結核．特集．新興・再興感染症の現状と予防．保健の科学　49：691-697.

II．学会発表

1．国際学会

1) Hori J, Wang MC, Taniguchi H, Kitahara Y, Takahashi H, Oshima M, Sakaguchi S, Azuma M. 2007. Role of Glucocorticoid-induced TNF receptor ligand in immune privilege of corneal allografts. ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology)（Fort Lauderdale, FL, USA, 5 月）.

2) Taniguchi T, Hori J, Wang MC, Kitahara Y, Takahashi H, Oshima M, Yagita H. 2007. B7-H3 is necessary for corneal allograft survival. ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology)（Fort Lauderdale, FL, USA, 5 月）.

3) Ato, M. 2008. Host immune responses to *Leishmania donovani* infection: change from acute phase to chronic phase. 16th International Symposium on Molecular Cell Biology on Macrophages（静岡、6 月）.

4) Terahara, K., Igarashi, O., Yoshida, M., Nochi, T., Gotoh, Y., Yuki, Y., Kiyono,. H. 2007. Villous M cells show an intermediate gene expression profile between Peyer's patch M cells and enterocytes. 13th International Congress of Mucosal Immunology（東京、7 月）.
5) Yoshida, M., Terahara, K., Igarashi, O., Nochi, T., Beauchemin, N., Kiyono, H. 2007. Role of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) expressed by intestinal villous M cells. 13th International Congress of Mucosal Immunology（東京、7 月）.
6) Nochi, T., Yuki, Y., Matsumura, A., Mejima, M., Terahara, K., Kim, D., Fukuyama, S., Igarashi, O., Kiyono, H. 2007. New generation of mucosal vaccine: Novel M cell specific carbohydrate-targeted vaccination is effective for the induction of antigen-specific immune responses. 13th International Congress of Mucosal Immunology（東京、7 月）.
7) Igarashi, O., Terahara, K., Nochi, T., Kurokawa, S., Yuki, Y., Domino, S.E., Kiyono, H. 2007. The (1,2)fucosyltransferase-1 (FUT1) identifies typical follicle-associated epithelium (FAE) M cells. 13th International Congress of Mucosal Immunology（東京、7 月）.
8) Yanagibashi, T., A. Hosono, M. Tsuda, S. Hachimura, Y. Takahashi, K. Hirayama, K. Ito, and S. Kaminogawa. 2007. *Bacteroides acidofaciens* induces differentiation of IgM+ cells into IgA-plasma cells from the large inestine. 13th International Congress of Mucosal Immunology（東京、7 月）.
9) Umeda, S., M. Kuraoka, K. Yamada, Y. Takahashi, N. Tsuji, M. Totsuka, K. Takatsu, S. Kaminogawa, R. Sato, and S. Hachimura. 2007. CD3-IL-2R+ Peyer's patch cells respond to TLR stimuli, secrete IL-5, and induce IgA production. 13th International Congress of Mucosal Immunology（東京、7 月）.
10) Hori J, Taniguchi H, Wang MC, Oshima M, Azuma M, Sakaguchi S. 2007. GITR-Lingand-induced regulatory T cells as a mechanism of immune privilege of corneal allografts. 9th international congress of IOIS（Paris, French Republic, 9 月）.
11) Ohara, N., M. Yoshimura, M. Okabe, K. Nakayama, and K. Kobayashi. 2007. Construction and characterization of the thymidylate synthase mutants derived from BCG. China-Japan-US tuberculosis seminar and forty-second tuberculosis and leprosy research conference: The United State-Japan Cooperative Medical Science Program（Zhengzhou, People's Republic of China, 9 月）.
12) Tang, C., H. Yamada, K. Shibata, N. Maeda, S. Yoshida, W. Wajjwalku, N. Ohara, T. Yamada, and Y. Yoshikai. 2007. Efficacy of recombinant BCG vaccine secreting IL-15/Ag85B fusion protein on protection against *Mycobacterium tuberculosis*. China-Japan-US tuberculosis seminar and forty-second tuberculosis and leprosy research conference: The United State-Japan Cooperative Medical Science Program（Zhengzhou, People's Republic of China, 9 月）.
13) Ohara, N. 2007. Recombinant BCG vaccines: current status. 2nd Nagasaki Symposium on tropical and emerging infectious diseases.（長崎、11 月）.
14) Chanchamroen, S., Susaengrat, W., Ato, M., Lertmemongkolchai, G. 2007. Human neutrophil responses to Burkholderia pseudomallei in healthy and diabetic subjects. The 5th World Melioidosis Congress（Khon Kaen, Kingdom of Thailand, 11 月）.
15) Kobayashi, K. 2007. Tuberculosis: Present and future perspectives. First China-Japan-Korea Forum on Communicable Disease Control and Prevention（Beijing, People's Republic of China, 11 月）.

2. 国内学会

1) 堀　純子、王　明聡、谷口ヒロ子、北原由紀、高橋　浩、大島正道、坂口志文、東みゆき. 2007. 前眼部の抗原特異的免疫応答における GITR - GITRL 経路 の役割. 第 111 回日本眼科学会総会（大阪、4 月）.
2) 谷口ヒロ子、堀　純子、王　明聡、北原由紀、高橋　浩、大島正道、八木田秀雄. 2007. 前眼部の抗原特異的免疫応答における B7-H3 の役割. 第 111 回日本眼科学会総会（大阪、4 月）.
3) 岡田全司、小林和夫. 2007. 抗酸菌研究の最前線（シンポジウム）. 第 82 回日本結核病学会総会（大阪、6 月）.
4) 松本壮吉、小林和夫. 2007. 結核菌病原因子

による病変形成と感染防御．抗酸菌研究の最前線（シンポジウム）．第 82 回日本結核病学会総会（大阪、6 月）．

5) 松本壮吉、藤原永年、吉村満美子、尾関百合子、西内由紀子、和田崇之、小林和夫．2007．結核菌糖脂質の合成制御における mycobacterial DNA-binding protein 1（MDP1）の役割．第 82 回日本結核病学会総会（大阪、6 月）．
6) 仁木　誠、吉村満美子、平山幸雄、松本壮吉、和田崇之、小林和夫．2007．抗酸菌の蛋白質発現と薬剤抵抗性における mycobacterial DNA-binding protein 1（MDP1）の役割．第 82 回日本結核病学会総会（大阪、6 月）．
7) 藤原永年、松本壮吉、前田伸司、矢野郁也、小林和夫．2007．ミコール酸分子種の異なる cord factor の宿主応答．第 82 回日本結核病学会総会（大阪、6 月）．
8) 平山幸雄、吉村満美子、仁木　誠、松本壮吉、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．2007．ヒアルロン酸の抗酸菌増殖に対する作用．第 82 回日本結核病学会総会（大阪、6 月）．
9) 尾関百合子、松本壮吉、小林和夫．2007．BCG 感染時における Th1/Th2 バランスへの STAT6 の役割．第 82 回日本結核病学会総会（大阪、6 月）．
10) 野地智法、幸　義和、松村亜紀子、目島未央、寺原和孝、五十嵐脩、清野　宏．2007．粘膜ワクチンの新世代、M 細胞標的型粘膜ワクチンは効果的に免疫応答を誘導する．第 44 回日本消化器免疫学会総会（東京、7 月）．
11) 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．2007．*Porphyromonas gingivalis* ECF シグマ因子群の遺伝子挿入変異株の作製．第 49 回歯科基礎医学会学術大会ならびに総会（札幌、8 月）．
12) 内藤真理子、大原直也、庄子幹郎、吉村文信、中山浩次．2007．*Porphyromonas gingivalis* ATCC33277 株の全ゲノム塩基配列決定．第 49 回歯科基礎医学会学術大会ならびに総会（札幌、8 月）．
13) Tsunetsugu-Yokota, Y. and T. Yamamoto.2007. Immune control of HIV-1 by restoring HIV-specific CD4+ T-cell function: a vaccine strategy against chronic HIV/SIV infection. The 8th Seminar in Kumamoto, Kumamoto, September （熊本、9 月）．
14) 高橋宜聖、阿戸　学、北原玄太、二宮　愛、小田切孝人、田代眞人、小林和夫．2007．H5N1 型プレパンデミックプワクチンによる感染防御メカニズムの解析．第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌、10 月）．
15) 山本拓也、光木裕也、水越文徳、小林和夫、井上純一郎、横田（恒次）恭子．2007．HIV 特異的な免疫担当細胞に HIV 抵抗性を賦与しうる RNAi 誘導型エイズワクチンの開発（ワークショップ）．第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌、10 月）．
16) 光木裕也、山本拓也、水越文徳、山岡昇司、山本直樹、横田（恒次）恭子．2007．マクロファージにおける Nef 蛋白質発現に伴う自然免疫機構異常に関する解析．第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌、10 月）．
17) 光木裕也、山本拓也、水越文徳、寺原和孝、稲垣好雄、山岡昇司、山本直樹、横田（恒次）恭子．2007．EGFP と DsRed を発現する X4 型及び R5 型 HIV-1 の作製とその応用．第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌、10 月）．
18) 石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川　茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲朗、田代眞人、田口文広．2007．高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討．第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌、10 月）．
19) 田村彰教、清水洋子、下平義隆、大島正道、森山光彦、清水一史．2007．C 型肝炎ウイルス感染に対する宿主細胞応答の解析．第 55 回日本ウイルス学会学術集会（札幌、10 月）．
20) 高橋宜聖、阿戸　学、小林和夫．H5N1 インフルエンザワクチンが惹起する防御抗体は中和に補体因子を必要とする．第 37 回日本免疫学会総会・学術総会（東京、11 月）．
21) Yamamoto, T., A. Tachikawa-Kawana, A. Iwamoto, K. Kobayashi, J. Inoue, A. Brigitte, and Y. Yokota-Tsunetsugu. 2007. Development of a novel IFN-gamma detection system of virus-specific T cell activation by flow cytometry. 第 37 回日本免疫学会総会・学術総会（東京、11 月）．
22) Tomizawa, K., T. Nagao, K. Saiga, M. Oshima, K. Kobayashi, T. Nakayama, and K. Suzuki. 2007. Decrease of MPO-ANCA involving risk epitopes by treatment with 15-deoxyspergualin in spontaneous MPO-ANCA-related vasculitis model

SCG/Kj mouse. 第 37 回日本免疫学会総会・学術総会（東京、11 月）.

23) Konno, H., T. Yamamoto, K. Yamazaki, J. Qin, J. Ghoda, T. Akiyama, Y. Yokota-Tsunetsugu, and J-I. Inoue. 2007. ウイルス感染時のインターフェロン及び炎症性サイトカイン産生に対する TRAF6 の役割. 第 37 回日本免疫学会総会・学術総会（東京、11 月）.

24) 野地智法、幸　義和、徳原大介、片岡伸浩、寺原和孝、五十嵐脩、清野　宏．2007．New generation of *Clostridium botulinum* oral vaccine: Novel M cell-targeted vaccination effectively induces protective immunity against the botulinum toxin challenge．第 37 回日本免疫学会総会・学術集会（東京、11 月）.

25) 阿戸　学、竹森利忠．2007．劇症型 A 群溶連菌は streptolysin O とセリンプロテイナーゼ ScpC 産生増強による好中球障害と遊走阻害を介して宿主防御から回避する．第 37 回日本免疫学会総会・学術総会（東京、11 月）.

26) 吉村篤利、山口竜亮、金子高士、大原直也．2007．日本人における TLR4 遺伝子多型と中等度および重度歯周炎との関連/Association between a *TLR4* gene polymorphism and moderate/severe periodontitis in the Japanese population. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会（東京、11 月）.

27) 大西和夫、藤本浩文．2007．プレＢ細胞レセプターのホモロジーモデリングおよび分子動力学シミュレーション（II）．第 37 回日本免疫学会総会・学術総会（東京、11 月）.

28) 梅田幸子、明間洋子、倉岡雅征、高橋宜聖、山田　潔、辻　典子、戸塚　護、高津聖志、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏志．2007．Intestinal CD3-IL-2R+ cells respond to poly I:C stimuli and influenza virus infection．第 37 回日本免疫学会総会・学術総会（東京、11 月）.

29) 加地友弘、高橋宜聖、竹森利忠．2007．IgG1 メモリーB 細胞産生における転写因子制御機序の解析．第 37 回日本免疫学会総会・学術総会（東京、11 月）.

30) 横田（恒次）恭子、山本拓也、Brigitte Autran. 2007．HIV 慢性感染期における HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞の機能障害―ワクチン開発に向けての考察．第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会（広島、11 月）.

31) 水越文徳、山本拓也、立川（川名）　愛、岩本愛吉、森川裕子、横田（恒次）恭子．2007．抗原の糖鎖による樹状細胞の cross-presentation の影響．第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会（広島、11 月）.

32) 野地智法、幸　義和、松村亜紀子、目島未央、寺原和孝、幸田知子、小崎俊司、五十嵐脩、清野　宏．2007．M 細胞標的型粘膜ワクチンは効果的に抗原特異的免疫応答を誘導する．「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第４回公開シンポジウム ポスター発表（東京、12 月）.

33) 五十嵐脩、寺原和孝、野地智法、吉田理人、後藤義幸、小幡高士、武富孝治、黒河志保、高山尚子、幸　義和、廣井隆親、Myong Ho Jang、Mi-Na Kweon、Steven E. Domino、清野　宏．2007．分子発現プロファイリングに基づいた抗原取り込み M 細胞の分類.「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第４回公開シンポジウム ポスター発表（東京、12 月）.

34) 大西和夫、山口沙由里．2007．異常型プリオン蛋白質の免疫系における増殖・伝播に関与する因子．第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会（BMB2007）（横浜、12 月）.

35) 阿戸　学、池辺忠義、竹森利忠、渡邊治雄．2008．劇症型溶血性レンサ球菌は好中球機能障害を介して宿主防御からエスケープする．第 6 回感染症沖縄フォーラム（沖縄、2 月）.

36) 岡部真裕子、大原直也、小林和夫．　2008. 実用化を目指した組み換え BCG ワクチンの開発. 第 6 回感染症沖縄フォーラム（沖縄、2 月）.

37) 阿戸　学、池辺忠義、渡邊治雄、小林和夫．2008．劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株による好中球機能障害を介する宿主防御修飾機構（Workshop）．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）.

38) 平山幸雄、吉村満美子、尾関百合子、菅原　勇、青木俊明、西内由紀子、小林和夫、松本壮吉．2008．結核病巣におけるヒアルロン酸の産生と局在．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）.

39) 中田　登、藤原永年、前田伸司、中　　崇、矢野郁也、小林和夫、牧野正彦．2008．*Mycobacterium intracellulare* 血清型 12 の glycopeptidolipid 生合成遺伝子領域の解析．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）.

40) 大原直也、吉村満美子、岡部真裕子、中山浩

次、小林和夫．2008．BCG チミジル酸合成酵素遺伝子欠損株の作製．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）．

41) 尾関百合子、小林和夫、松本壮吉．2008．結核菌感染に抑制性 T 細胞の役割．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）．

42) 池辺忠義、阿戸　学、川端寛樹、小林和夫、渡邊治雄．2008．劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株でみられる *csrS* 変異の病原性への影響．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）．

43) 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、小林和夫．2008．抗酸菌における増殖と細胞壁合成の同調機構．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）．

44) 仁木　誠、吉村満美子、和田崇之、小林和夫、松本壮吉．2008．抗酸菌の遺伝子発現および薬剤感受性における MDP1 の役割．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）．

45) 近藤好夫、吉村満美子、佐藤啓子、大原直也、庄子幹郎、雪竹英治、内藤真理子、藤原　卓、中山浩次．2008．*Porphyromonas gingivalis* の TPR ドメイン蛋白質 PG1385 の解析．第 81 回日本細菌学会総会（京都、3 月）．

46) 岡部真裕子、Bertha González-Pedrajo、Jonathan McMurry、Hedda Ferris、南野　徹、難波啓一、May Kihara．2008．べん毛輸送装置を構成するタンパク質の生化学的解析 (Biochemical analysis of flagellar export apparatus components)．第 14 回べん毛研究交流会　科学技術振興機構 ICORP 超分子ナノマシンプロジェクト終了報告会合同会議（京都、3 月）．

９．生 物 活 性 物 質 部

部 長　宮 崎　義 継

概　要

当部では難治性真菌感染症の制圧と感染症制御薬の創薬を目標として研究を推進している。難治性真菌症に関して、平成１２年度よりカンジダ属を対象として薬剤耐性や病原因子制御に関する研究と、４類感染症であるコクシジオイデス症を含む輸入真菌症の疫学研究を行っているが、カンジダ症と並ぶ二大深在性真菌症のひとつであるアスペルギルス症の制御を目的とした研究を平成１９年度から開始した。

第1 室ではカンジダ属の薬剤耐性機構や病原因子、並びに輸入真菌症に関する研究を中心に行っている。第2 室では微生物と宿主の細胞内シグナル伝達を応用した増殖制御に関する研究、並びに、新規抗微生物薬のスクリーニングと活性相関、第3 室は真菌感染症のレファレンス業務とアスペルギルス症制御、並びに、感染症難治化の宿主因子に関する研究をそれぞれ展開している。第４室は、放線菌の遺伝情報と二次代謝産物を応用して新規感染制御薬の創薬研究を行っている。

平成１９年度は以下の項目について研究が行われた。

Ｉ．真菌感染症の病態解明と新しい診断・治療法開発のための研究.

ＩＩ．深在性真菌症と輸入真菌症に関する疫学と新しい検査法開発のための研究

ＩＩＩ．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

ＩＶ．微生物の有用遺伝子探索による創薬と薬剤耐性機構に関する研究

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、難治性疾患対策事業）、ヒューマンサイエンス振興財団・政策創薬総合研究事業、文部科学省科学研究費補助金の支援を受けた。

今年度より、レファレンス業務を拡張し全国の病院、大学等の研究機関、報道機関からの真菌症および抗菌化学療法に関する問い合わせや検査依頼への随時対応を開始した。

宮崎は、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」（新興・再興感染症研究事業プログラム、主任 研究者：新見昌一）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「アスペルギルス症：真菌の薬剤耐性の克服」の共同研究を行い、同財団「外国人研究者招へい事業」によりオタゴ大学Dr Mikhail Keniyaを招へいして「真菌の薬剤耐性を克服するための新規阻害物質の探索系の導入-真菌の細胞膜P-タイプATPaseに対する阻害剤の探索」に 関する共同研究を行った。

人事異動では、平成１９ 年４ 月１日付で宮崎義継が部長に着任し、９月１日付で金子幸弘第２室研究員が採用された。高野幸枝主任研究官が平成２０年３月末日に定年退官した。

以下に本年度の主な調査・研究、レファレンス業務、品質管理業務の業績を記す。

業　績

調査・研究

Ｉ．真菌感染症の病態解明と新しい治療法開発のための基盤研究.

１．病原真菌の新規分子の探索

（１）病原真菌 *Aspergillus fumigatus* の細胞膜ある

いは細胞外に存在する蛋白質の網羅的同定

アスペルギルス症の診断に応用されている標的分子は、細胞壁の β-D-グルカンとアスペルギルス・ガラクトマンナン抗原であるが、感度と特異性に問題があり、より特異的かつ感度の高いアスペルギルス属の検出系が求められている。そこで、新しい検出系の確立のために、新たな標的となる細胞壁あるいは分泌される真菌由来蛋白質をコードする遺伝子をシグナルシークエンストラップ法により同定した。75 種類の細胞膜あるいは分泌されると推定される遺伝子を得ることができ、その中でこれまでに報告のあるものは 12 種類のみであった。今後、組換え体、抗体の作成等により診断応用性を検証するとともに、病原性についても検討する予定である。

[山越　智、大川原明子、橋本ゆき、石川 淳、宮崎義継]

(2)*Candida albicans* 細胞壁の表層のマンナンに関する研究.

病原性真菌 *C. albicans* の最表層を構成する N 結合型糖鎖は共通のコア構造を持っているが、コア構造から伸びた末端構造部分の糖鎖は、株によってさまざまな構造をしている。*C.albicans* マンノース転移酵素をコードしていると考えられる遺伝子を網羅的に破壊し、変異株の mannoprotein (MP)を解析することにより、炎症惹起に関与する MP の構造について検討を行った。ゲノム情報から 46 種類のマンノース転移酵素が MP 分画に影響すると予想されたが、論文等で報告のないものから遺伝子破壊を行い、11 種類のマンノース転移酵素破壊株を作製し、増殖速度、菌糸形成など基本的な性質について検討を行った。また、それらの株から MP を精製し、抗体を用いて表面の抗原性を解析すると共に炎症の指標として単球系培養細胞(J774A.1 cell line)による IL-6 と TNF-α の産生誘導能について基礎検討を行った。

[大川原明子、山越 智、臺 由紀、橋本 ゆき、宮崎義継]

(3) *Candida albicans* の biofilm についての検討

Candida albicans は、日和見感染症の重要な原因微生物であり、抗菌薬無効の感染症として治療が困難である。また、近年 biofilm がその難治性と関連していることが知られるようになった。特に in vitro での検討では、アゾール系抗真菌薬は biofilm に対して無効である。また、amphotericinB や micafungin など、単剤では biofilm に対する MIC が、planktonic の状態と比較して 4-8 倍程度上昇する。そこで、biofilm 感染症に対する有効な治療方法について探索するため、現在 in vitro でのアッセイを検討している。

［金子幸弘、宮崎義継］

２．抗真菌薬に対する感受性と耐性に関する研究

(1) *Candida glabrata*のCalcineurinを介するストレス応答と薬剤耐性に関する研究.

Calcineurinは病原真菌で広く保存されており、その阻害により病原性の低下やアゾール系抗真菌薬耐性化と関連することが知られている。今回、カンジダ属におけるCalcineurin pathwayの解明の目的でCalcineurin破壊株を作成し、抗真菌薬治療の有効性に影響する新たなpathwayが存在することを示した。

[宮崎義継、金子幸弘、石川　淳；宮崎泰可、河野 茂（長崎大・感染免疫学講座）]

(2) 病原真菌 ABC タンパク質と機能阻害物質との相互作用部位の検討

ABC タンパク質は、ATP の加水分解エネルギーによって立体構造を変化させて、様々な生体異物を細胞外に排出する。病原真菌において ABC タンパク質は、アゾール系抗真菌薬を排出して真菌を薬剤耐性化するため、抗真菌薬による真菌症治療を困難にしている。本研究では、病原真菌 *Candida albicans* の ABC タンパク質 Cdr1p (CaCdr1p)とその阻害剤として働く FK506 との相互作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。

CaCDR1 遺伝子上の FK506 非感受性化変異をこれまで

に 17 種類同定した。FK506 非感受性化変異をもつ *CaCDR1* 遺伝子を出芽酵母に発現させた株を作製し、薬剤感受性試験および阻害剤感受性試験を行った。ほぼすべての変異株は、fluconazole、rhodamine 6G、cycloheximide に対する耐性を保持していた。しかし、8 番目の膜貫通 α ヘリックスに N1240D 変異を有する株はローダミン６G に対する耐性度が著しく低下し、1 番目の膜貫通 α ヘリックスに N535I 変異をもつ株は fluconazole に対する耐性度が特異的に低下した。この結果は、CaCdr1p における FK506 による阻害効果と CaCdr1p の薬剤輸送との間に相関があることを示唆している。さらに、変異株は構造の異なる阻害剤、enniatin B と beauvericin に対しては野生型 CaCdr1p 発現株と同程度の感受性を示したことから、本研究で同定した遺伝子変異は FK506 に対する感受性を特異的に低下させるものであると考えられた。

[田辺公一、臺　由紀、高野幸枝、新見昌一]

(3) ステロールトランスポーターと抗真菌薬耐性

ステロール合成阻害剤であるアゾール系抗真菌薬は、深在性真菌症治療薬として優れた薬効を持つが、耐性化を引き起こすことが知られている。アゾール耐性株の多くは ATP-binding cassette (ABC) タンパク質による薬剤の細胞外排出能の亢進に起因する。一方で我々は、*Candida glabrata* の ABC タンパク質 CgAus1p が細胞外から代替ステロールを取り込んで、アゾール剤によるエルゴステロール合成阻害を回避することを明らかにした。血清や胆汁存在下では *C. glabrata* はアゾール剤に低感受性になる。しかし、*CgAUS1* が欠失すると真菌へのステロールの取り込みが低下し、アゾール剤に高感受性となった。宿主体内は比較的嫌気性であるため、酸素を必要とする真菌のステロール合成は抑制される。従って、*C. glabrata* の CgAus1p による代替ステロール供給メカニズムが宿主体内での病原真菌の増殖に関与していることが示唆された。

[田辺公一、臺　由紀、新見昌一]

(4) 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。キメラタンパク質発現株の解析から、oligomycin や nigericin、monensin、bafilomycin A1 の基質認識部位が N 末端側の transmembrane domain（TMD1）に存在することを明らかにした。さらに、膜貫通ドメインをより狭い領域で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。その結果、TMD2 の中央部分（膜貫通 α ヘリックス９番から１１番）が rhodamine 6G の基質認識にかかわることを明らかにした。しかしながら、発現させたキメラタンパク質の中には薬剤排出活性が大幅に低下したものが複数認められ、上記の基質認識にかかわる領域をさらに詳細に限定することはできなかった。この結果は、膜貫通ドメインの複数の領域が複雑に相互作用することで立体構造、基質認識部位が構成されていることを示唆している。

[田辺公一、臺　由紀、新見昌一]

(5) アスペルギルス属の膜輸送蛋白質と薬剤耐性.

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。それぞれの耐性遺伝子発現株の抗真菌剤感受性を測定し、細胞膜画分における各タンパクの発現レベルを比較した。その結果、AfuMdr1p がアゾール耐性に最も寄与していると推測された。これら遺伝子の GFP 付加発現株を作製し、タンパクの局在を観察した。AfuMdr1p、AfuMdr4p は細胞膜に、AfuMdr2p はミトコンドリア膜に、またアゾール剤標的酵素（AfuErg11Ap、AfuErg11Bp）は細胞内小胞体に局在することが証明された。

[田辺公一、新見昌一；Erwin Lamping、Richard D. Cannon（オタゴ大学）]

（６）*C. albicans* の脂肪酸不飽和化酵素の解析

脂肪酸は細胞膜の主たる構成要素である。大部分の真菌は脂肪酸不飽和化酵素を複数有し、多価不飽和脂肪酸を産生するが、*S. cerevisiae* 等一部例外もある。*C. albicans* の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子（*CaFAD2* および *CaFAD3*）の機能を明らかにする目的で、破壊株の表現型と転写レベルでの変化を解析した。PI 核染色を行うと、破壊株の蛍光強度は相補株の 1/3 であった。*CaFAD2* 破壊株のアレイ解析では４倍以上の発現の差があった遺伝子が 15、1.5 倍以上の遺伝子が 34 あり、real-time PCR で確認した。転写因子 *EFG1* など、13 遺伝子の発現が低下していた。

[新見昌一；山口正視、川本進（千葉大・医真菌医学研究センター；梶原　将（東工大院・生命理工）；村山琮明（北里大・北里生命科学研究所））

ＩＩ．深在性真菌症と輸入真菌症に関する疫学と新しい検査法開発のための研究

１．深在性真菌症の疫学ならびに臨床病態に関する研究.

（１）造血幹細胞移植患者における糸状菌感染症疫学研究.

侵襲性アスペルギルス症は造血幹細胞移植患者におけるもっとも頻度が高いと推定されるが、我が国では前向きの疫学研究のデータは無い。そこで、米ＣＤＣとデータの共同利用が可能なプロトコルを作成した。平成２０年度より、前向き疫学研究を開始予定である。

［宮﨑義継、金子幸弘；吉田 稔（帝京大・血液内科）、Park B（米ＣＤＣ・真菌疫学部門）］

（２）抗菌薬による肝傷害とN-acetyltransferase 2 遺伝子.

抗菌薬投与による肝機能傷害の出現頻度と、患者の遺伝子多型に関して解析したところ、N-acetyltransferase 2 遺伝子との優位な相関が認められた。

［宮﨑義継；塚元和弘（長崎大・臨床薬学講座）］

（３） 副腎皮質ステロイド剤とクリプトコックス症.

副腎皮質ステロイド剤投与中に出現した肺病変に対して気管支鏡を試行した際に気管粘膜の白斑を認め、クリプトコックスによる気管支病変を証明した。クリプトコックスの粘膜病変は希であり、その発症因子について解析を行っている。

［宮﨑義継；井上祐一（健康保険諫早病院）、泉川公一、河野 茂（長崎大）］

２．感染症における免疫制御分子の研究

（１） *Candida albicans* 感染に対する生体防御における LECT2 の機能

昨年度に引き続き LECT2 遺伝子欠損マウスにおける感受性を調べた。尾静脈からの *C. albicans* の接種により感染させ、野生型との生存率を比べたところ *C. albicans* 感染に抵抗性を持つこと示唆され、LECT2 が *C.albicans* 感染防御に関与することが考えられた。

[金子幸弘、山越　智、宮崎義継]

(2) Staphylococcal enterotoxin A により誘導されたエンテロトキシンショックにおける LECT2 の役割の解析

サイトカイン LECT2 遺伝子欠損マウスを使い、staphylococcal enterotoxin A によりエンテロトキシンショックを惹起した。その結果、LECT2 の抑制効果を示唆する結果が得られた。

[山越　智；加藤秀人、Dang Hung MINH、八木淳二（東京女子医大）]

(3)造血における LECT2 の役割の解析

造血機能における LECT2 の作用を調べるために、

LECT2 遺伝子欠損マウスの骨髄、肝臓、脾臓での造血幹細胞の指標とされるＳＰ細胞についてフローサイトメーターにより存在量について調べた。また、ヒト臍帯血由来 CD34 陽性細胞を用いた in vitro 培養系にて LECT2 の作用を検討した。

[山越　智、岡部智也、奥村彰典；水上拓郎、倉光　球、浜口　功（血液・安全性研究部）]

３．深在性真菌症と輸入真菌症に関する新しい検査法と抗真菌薬の開発、並びに病原因子の解明に向けたポストゲノムの基盤的研究

(1) 輸入真菌症の国内発生状況については、ヒストプラズマ症が増加傾向にあった。潜在的ヒストプラズマ症患者を検索する目的で肺線維症（3 例）の抗ヒストプラズマ抗体検査を行ったが、陽性症例はなかった。ヒストプラズマ症血清診断法の開発については抗原抽出法を確立し、新規抗原候補タンパク質の検索を行った。

(2) LAMP 法を用いたニューモシスチス症遺伝子診断法および主要マラセチア症起因菌の表現形質による同定法を開発し、臨床的有用性が示唆された。

(３) 真菌症の病理診断において、PCR 法に加えて形態診断の補助診断法である ISH 法を併用すると、診断精度が向上することが示唆された。

(４) 臨床応用可能なマルネッフィー型ペニシリウム症起因菌の非培養系定量検出法を開発し、また新規抗真菌薬の開発を目指し子嚢菌および担子菌の両方に抗真菌活性を有する海生菌由来のエキスを見出した。

(５) 臨床背景の明らかな 1200 臨床分離株をデータベース化した。*Candida* 属の遺伝的多様性をしらべ、新菌種の可能性が示唆される菌株も見出された。本データベースは疫学的解析などに有用であると考えられる。

(６) 海洋微生物由来の化合物および培養ろ液をスクリーニングし、その中から真菌の薬剤耐性に関わる ABC トランスポーターを阻害する新規物質 unnarmicin A および unnarmicin C を見出した。

(７) 炎症惹起に関与する *C. albicans* の mannoprotein を解析するためマンノース転移酵素遺伝子の破壊株作製に着手した。１１ 種類のマンノース転移酵素破壊株を作製し、基礎検討を行った。

(８) 患者側の真菌症に対する認知度の調査および情報入手経路の調査を行った。その結果、認知度が低いことが分かり、医学雑誌などのメディアを用いることが認知度向上のために有効であると思われた。

[新見昌一、大川原明子、宮崎義継；亀井克彦（千葉大学真菌医学研究センター)、菊池　賢（順天堂大学医学部・感染制御科学)、槙村浩一（帝京大学医真菌研究センター)、渋谷 和俊（東邦大学医学部・病院病理学研究室)、上 昌広（東京大学医科学研究所）杉田 隆（明治薬科大学・微生物学教室)、上原至雅（岩手医科大学薬学部・微生物薬品創薬学講座]

ＩＩＩ．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．宿主および病原微生物の細胞内シグナル伝達制御に関する研究

（１）プロテインキナーゼ阻害物質の検定

文部科学省がん特定領域研究・統合がん「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いる。今年度は 167 検体の評価を行った。また平成 20 年度より評価系を変更することになり、新たに血小板由来増殖因子(platelet-derived growth factor, PDGF) 刺激により活性化される PDGF レセプターチロシンキナーゼおよび主要な細胞内シグナル伝達経路（PI3 kinase-AKT pathway、classical MAP kinase pathway、PLC-PKC pathway）に対する阻害効果を評価する系を作成した。

［福山まり、矢守隆夫（癌研）、深澤秀輔］

２．新規抗ＨＣＶウイルス薬の探索と作用機序に関する研究

（１）ビスインドリルマレイミドによるＣ型肝炎ウイルス(HCV)の阻害作用の解析

培養細胞の HCV(JFH1) 感染系を用いたスクリーニングにより見いだした既知化合物のうち、未だ報告のないビスインドリルマレイミドⅠ(BIM Ⅰ) の HCV の阻害作用について検討を加えた。BIM Ⅰは IC_{50} 0.1 μg/ml および TC_{50} 30 μg/ml で dose-dependent に培養液中および細胞内の HCV RNA、core 蛋白質を阻害した。また、遺伝子型 2a および 1b の HCV レプリコン細胞の NS5A 蛋白質も阻害した。さらに BIM Ⅰは感染 24 時間後に添加すると効果が少ないことから、主にウイルスの複製に作用すると考えられた。BIM Ⅰはプロテインキナーゼ C(PKC)の阻害剤であり類似構造の誘導体を調べたが、PKC 活性のないものも BIM Ⅰと同等以上の阻害活性があったので、PKC は HCV 複製に関わっていないと思われる。

［村上裕子、鈴木哲朗・脇田隆字（ウイルス第二部）、深澤秀輔］

(2)新規天然物由来の化合物のＣ型肝炎ウイルス(HCV)の阻害作用の解析

天然物およびその誘導体からなる化合物ライブラリーより IC_{50} が約 1.0 μg/ml 以下の HCV 阻害活性のある物質を数個見いだした。これらについて、レプリコン細胞での阻害活性および作用の時間等を調べたところ、レプリコン細胞には効かない化合物がいくつか見つかり、これらはこれまでは知られていない、ウイルスの侵入および遊離の過程を阻害している可能性があるので、さらに解析を進めている。

［村上裕子、鈴木哲朗・脇田隆字（ウイルス第二部）、深澤秀輔］

(3) 抗 EB ウイルス剤の探索

昨年度確立した ELISA 系を用い *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行った。AnalytiCon 社微生物代謝産物、植物代謝産物、化学合成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、村上裕子、深澤秀輔]

(４) 持続性感染に関わる蛋白質の同定

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を行った。

昨年に引き続き、ピトープ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した。LC-MS/MS により NS5A から１６９種類の蛋白質、NS4B から２０２種類の膜由来蛋白質を同定した。その中には、すでに報告のある AmphophysinII, hVAP-33 等も含まれていた。

[山越　智、橋本ゆき、村上裕子、深澤秀輔；鈴木哲郎（ウイルス二部)、鈴木健裕（理研）]

ＩＶ．微生物の有用遺伝子探索による創薬と薬剤耐性機構に関する研究

１．創薬に関する研究

(1) *Nocardia farcinica* IFM 10152 の nocobactin 生合成遺伝子クラスターの同定

Nocobactin 生合成遺伝子クラスターと推定される *nbtA-H* と *nbtS-T* のうち、*nbtA*、*nbtE* および *nbtS* の遺伝子破壊を行った結果、各破壊株では nocobactin の生産性が大幅に減少あるいは消失し、さらに破壊した遺伝子の相補によって生産性が回復した。このことから、これらの遺伝子を含むふたつのクラスターは、nocobactin 生合成遺伝子クラスターであることが明らかとなった。

［千葉和宏、星野泰隆、石川　淳］

(2) Nocobactin の *Nocardia* 病原性への関与

N. farcinica IFM 10152 の野生株と nocobactin 生合成遺伝子の破壊株である Δ*nbtA*、Δ*nbtE* および Δ*nbtS* をマウス培養細胞 J774A.1 に感染させた結果、野生株は細胞死をもたらしたが、Δ*nbtA* および Δ*nbtS*

の殺細胞活性は大幅に減弱し、Δ*nbtE*の殺細胞活性は消失した。さらに、破壊した遺伝子を相補した株では、殺細胞活性が野生株と同等までに回復したことから、nocobactin は *N. farcinica* の病原性に関与していることが示唆され、nocobactin 生合成経路がノカルジア症治療薬のターゲットとなる可能性が考えられた。
［石野敬子、千葉和宏］

(3) *Nocardia* 感染マクロファージの遺伝子発現変化の検討

N. farcinica IFM 10152 を感染させたマウスマクロファージ様細胞 J774A.1 の遺伝子発現変化を感染後 1 時間から 24 時間まで経時的に検討した。マイクロアレイは Agilent 社 GE カタログアレイ whole mouse genome を用いた。その結果、炎症系サイトカイン誘導関連、ケモカイン関連、細胞死関連遺伝子等の発現変化が認められた。これらの発現に関わる *Nocardia* 側因子を探索中である。
［石野敬子、石川　淳］

(4) *Nocardia* の高コピープラスミドベクターの開発

pNV18 および pNV19 は、当部第四室で開発された *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、*repA* 遺伝子に 3 塩基の欠失を導入し、コピー数が約 5 倍に上昇した pNV118 および pNV119 を開発した。これにより、*Nocardia* 属における有用遺伝子の大量発現等への利用が可能となった。
［石川　淳］

(5) *Kitasatospora setae* NBRC 14216 のゲノム塩基配列の決定

Bafilomycin B1（setamycin）を生産する *K. setae* の全ゲノム配列（8.8 Mb）を決定した。遺伝子予測の結果、ポリケチド合成酵素、ペプチド合成酵素、ポリプレニル合成酵素、シトクロム P450 遺伝子などの、創薬に有用な遺伝子が多数見出された。
［石川　淳、高橋洋子（北里生命研）、池田治生（北里生命研）、製品評価技術基盤機構］

(6) リファンピシン変換物の構造解析

N. farcinica IFM 10152 においてリファンピシン耐性因子として見出された、リファンピシンモノオキシゲナーゼを大腸菌にて発現させ、リファンピシンの変換反応を行った。変換反応によって得られた化合物の構造解析を質量分析および NMR によっておこなった。質量分析の結果から、分子量が 16 増加しており酸素原子 1 個付加されていることが判明し、NMR の結果から、リファンピシンに酸素原子が付加している構造であることが確かめられた。変換物は依然として抗菌活性を有していることから、新たな誘導体作製のためのシードとなる可能性が考えられた。
［星野泰隆、篠永英樹（大正製薬）、宮崎義継、石川　淳］

２．薬剤耐性機構に関する研究

(1) *N. farcinica* IFM 10152 のアミノグリコシドリン酸化酵素（APH）遺伝子

N. farcinica において APH 遺伝子とアノテーションされた *nfa31340*、*nfa38480* および *nfa38620* 遺伝子を *E. coli* で発現させ、生産されたタンパク質の各種アミノグリコシドに対するリン酸化活性を測定した結果、それらのすべてに APH 活性が認められた。さらに、基質特異性およびリン酸化物を既知の APH のそれらと比較した結果、それぞれ新規な APH(2”)、APH(3’)あるいは APH(6)であることが明らかとなった。
［藤井匠子、千葉和宏、石野敬子、星野泰隆、石川　淳］

レファレンス業務

病院や研究機関、報道機関からの真菌感染症に関する各種質問や診断依頼に関する対応を行った。主な内

容は、アスペルギルス症、カンジダ症や接合菌症などの疑診例など個々の深在性真菌症例に関する診断支援、分離された真菌の原因菌同定、報道機関に対する真菌感染症や難治性感染症に関する情報提供等であった。延べ２４回の依頼に対応した。

［宮﨑義継、新見昌一、金子幸弘］

品質管理に関する業務

収去検査５品目に関して含有量の測定を、細菌第２部と共同で実施した。

［村上裕子、金子幸弘、石川　淳、石野敬子］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kohno Y, Ohno H, Miyazaki Y, Higashiyama Y, Yanagihara K, Hirakata Y, Fukushima K, Kohno S. In Vitro and In Vivo Activities of Novel Fluoroquinolones Alone and in Combination with Clarithromycin against Clinically Isolated Mycobacterium avium Complex Strains in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 51(11):4071-6. 2007.

2) Imamura Y, Yanagihara K, Fukuda Y, Kaneko Y, Seki M, Izumikawa K, Miyazaki Y, Hirakata Y, Sawa T, Wiener-Kronish JP, Kohno S. Effect of anti-PcrV antibody in a murine chronic airway Pseudomonas aeruginosa infection model. Eur Respir J.;29(5):965-8. 2007.

3) Nakamura S, Yanagihara K, Seki M, Izumikawa K, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Hirakata Y, Mizuta Y, Kohno S. Clinical characteristics of pneumonia caused by beta-lactamase negative ampicillin resistant Haemophilus influenzae (BLNAR). Scand J Infect Dis. 39(6-7):521-4. 2007.

4) Izumikawa K, Morinaga Y, Kondo A, Hara K, Izumikawa K, Miyazaki Y, Kohno S, Igari N, Akaboshi M, Kawakami J, Eguchi K. Adult Still's disease associated with cytomegalovirus infection. J Infect Chemother. 13(2):114-7. 2007.

5) Nakamura S, Yanagihara K, Izumikawa K, Seki M, Miyazaki Y, Hirakata Y, Soejima Y, Mizuta Y, Kohno S. Leukocytoclastic vasculitis after pneumococcal pneumonia in an elderly adult. Intern Med. 46(8):487-90. 2007.

6) Inoue Y, Miyazaki Y, Izumikawa K, Yanagihara K, Kakeya H, Sawai T, Hirakata Y, Kohno S. Pulmonary cryptococcosis presenting as endobronchial lesions in a patient under corticosteroid treatment. Intern Med. 46(8):519-23. 2007.

7) Seki M, Kosai K, Yanagihara K, Higashiyama Y, Kurihara S, Izumikawa K, Miyazaki Y, Hirakata Y, Tashiro T, Kohno S. Disease severity in patients with simultaneous influenza and bacterial pneumonia. Intern Med. 46(13):953-8. 2007.

8) Higuchi N, Tahara N, Yanagihara K, Fukushima K, Suyama N, Inoue Y, Miyazaki Y, Kobayashi T, Yoshiura K, Niikawa N, Wen CY, Isomoto H, Shikuwa S, Omagari K, Mizuta Y, Kohno S, Tsukamoto K.. NAT2 6A, a haplotype of the N-acetyltransferase 2 gene, is an important biomarker for risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Japanese patients with tuberculosis. World J Gastroenterol. 7;13(45):6003-8. 2007.

9) Lamping E, Monk BC, Niimi K, Holmes AR, Tsao S, Tanabe K, Niimi M, Uehara Y, and Cannon RD. Characterization of three classes of membrane proteins involved in fungal azole resistance by functional hyperexpression in *Saccharomyces cerevisiae.* Eukaryotic Cell, 6, 1150-1165, 2007.

10) Cannon RD, Lamping E, Holmes AR, Niimi K, Tanabe K, Niimi M, and Monk BC. *Candida albicans* drug resistance - another way to cope with stress. Microbiology, 153, 3211-3217, 2007.

11) Tanabe K, Lamping E, Adachi K, Takano Y, Kawabata K, Shizuri Y, Niimi M and Uehara Y. Inhibition of fungal ABC transporters by

unnarmicin A and unnarmicin C, novel cyclic peptides from marine bacterium. Biochemical and Biophysical Research Communications, 364, 990-995, 2007.

12) Nakayama H, Tanabe K, Bard M, Hodgson W, Wu S, Takemori D, Aoyama T, Kumaraswami N, Metzler L, Takano Y, Chibana H, Niimi M. The *Candida glabrata* putative sterol transporter gene *CgAUS1* protects cells against azoles in the presence of serum. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 60, 1264-1272, 2007.

13) Asano R, Watanabe Y, Kawaguchi H, Fukazawa H, Nakanishi T, Umetsu M, Hayashi H, Katayose Y, Unno M, Kudo T, Kumagai I. Highly effective recombinant format of a humanized IgG-like bispecific antibody for cancer immunotherapy with retargeting of lymphocytes to tumor cells., Journal of Biological Chemistry 282: 27659-27665, 2007.

14) Noguchi K, Fukazawa H, Murakami Y, Takahashi N, Yamagoe S, Uehara Y. Gamma-herpesviruses and cellular signaling in AIDS-associated malignancies., Cancer Science 98: 1288-1296, 2007.

15) Okumura A, Saito T, Otani I, Kojima K, Yamada Y, Ishida-Okawara A, Nakazato K, Asano M, Kanayama K, Iwakura Y, Suzuki K, Yamagoe S. Suppressive role of leukocyte cell-derived chemotaxin 2 in mouse anti-type II collagen antibody-induced arthritis. Arthritis Rheum. 58: 413-421, 2008.

16) Nagao T, Matsumura M, Mabuchi A, Ishida-Okawara A, Koshio O, Nakayama T, Minamitani H, Suzuki K. Up-regulation of adhesion molecule expression in glomerular endothelial cells by anti-myeloperoxidase antibody Nephrology Dialysis and Transplantation, 22, 77-87, 2007

17) Ishida-Okawara A, Nagi-Miura N, Oharaseki T, Takahashi K, Okumura A, Tachikawa H, Kashiwamura S, Okamura H, Ohno N, Okada H, Ward PA, Suzuki K.

18) Neutrophil Activation and Arteritis Induced by *C. albicans* Water-soluble Mannoprotein-β-glucan Complex (CAWS) Experimental Molecular Pathology, 82, 220-6, 2007

19) Ramadan MM, Tachikawa H, Kodama M, Okawara A, Mitsuma W, Ito M, Kashimura T, Ikrar T, Hirono S, Okura Y, Suzuki K, Aizawa Y. A pilot-controlled study of myeloperoxidase-specific anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody (MPO-ANCA) in the coronary circulation International Journal of Cardiology, 2007, in press

20) Hoshino A, Nagao T, Ito-Ihara T, Ishida-Okawara A, Uno K, Muso E, Nagi-Miura N, Ohno N, Tokunaka K, Naoe S, Hashimoto H, Yasuhara M, Yamamoto K, Suzuki K. Trafficking of QD-conjugated MPO-ANCA in murine systemic vasculitis and glomerulonephritis model mice. Microbiol Immunol. 51(5):551-66 2007

21) Hoshino A, Nagao T, Nakasuga A, Ishida-Okawara A, Suzuki K, Yasuhara M, Yamamoto K. Nanocrystal Quantum Dot-Conjugated Anti-Myeloperoxidase Antibody as the Detector of Activated Neutrophils. IEEE TRANSACTIONS ON NANOBIOSCIENCE, 6, 341-45, 2007

22) Hoshino Y, Watanabe K, Iida S, Suzuki S, Kudo T, Kogure T, Yazawa K, Ishikawa J, Kroppenstedt RM, Mikami Y. *Nocardia terpenica* sp. nov., isolated from Japanese patients with nocardiosis. Intl. J. Syst. Evol. Microbiol. **57:**1456-60, 2007

2．和文発表

1) 中村茂樹，宮崎義継，三原智，関雅文，泉川公一，柳原克紀，大野秀明，東山康仁，平潟洋一，副島佳文，田代隆良，河野茂:シェーグレン症候群に合併し多発性肺結節影を呈した肺アミロイドーシスの1例 日本呼吸器学会雑誌，45(4): 356-360，2007.

2) 宮崎義継：日和見真菌感染症 1）*Candidiasis, Cryptococcosis* 2）Aspergillosis,接合菌症．病原真菌ハンドブック 医薬ジャーナル社 宮治誠編

3) 宮﨑義継：慢性壊死性肺アスペルギルス症の診断は 改訂版　深在性真菌症Q&A　医薬ジャーナル社　河野茂編

4) 宮崎義継、河野茂：深在性真菌症の治療　臨床環境医学会雑誌16(1):17-20, 2007.

5) 井上祐一、澤井豊光、土井誠志、大野秀明、泉川　公一、柳原克紀、東山康仁、宮崎義継、平潟洋一、田代隆良、河野茂：肺野孤立結節影を呈した肺非結核性抗酸菌症（NTM）の検討　日本呼吸学会雑誌45(9):655-660, 2007.

6) 宮崎義継、河野茂：肺クリプトコックス症～画像による他疾患との鑑別は可能か SFI Forum 深在性真菌症;0ct.:40-41, 2007.

7) 岩田敦子、泉川公一、関田孝晴、石本裕士、坂本　憲穂、中山聖子、宮崎義継、迎寛、河野茂：ステロイド投与が臨床的に有効であったマイコプラズマ細気管支炎・肺炎の１例　感染症学雑誌;81(5):586-591,2007.

8) 柳原克紀、森永芳智、福島和子、中村茂樹、栗原慎太郎、関雅文、泉川公一、掛屋弘、山本善裕、宮崎義継、平潟洋一、田代隆良、河野茂:高齢者市中肺炎に対する最適なキノロン薬と投与法の検討―Monte Carlo Simulationを用いて― Japanese Journal of Antibiotics;60(5):251-256, 2007.

9) 宮崎義継: 中枢神経系の深在性真菌症に対する治療の進歩 神経治療学 Vol.24, No.6, 659-661,2007.

10) 宮崎義継：敗血症　今日の治療指針　第50巻（2008年版）医学書院

11) 新見昌一：真菌学総論 戸田新細菌学 改訂33版 南山堂 pp.293-315, 2007.

12) 深澤秀輔：プロテインキナーゼ阻害物質の探索　文部科学省がん特定研究・統合がん・ 化学療法基盤情報支援班の活動　化学工業 58: 295-299, 2007.

Ⅱ. 学　会　発　表

1. 国際学会

1) Miyazaki, Y. Management of Invasive fungal infections in Japan. 14th AnnualMeeting of Korean Society of Mycology. June 23 2007, Seoul.

2) Tanabe K, Tomiyama S. Lamping E. Takano Y, Uehara Y, Niimi M. Novel mutations in a *Saccharomyces cerevisiae* ABC protein, Pdr5p, result in insensitivity to the efflux pump inhibitor FK506. 2nd Advanced Lecture Course Human Fungal Pathogens: Molecular Mechanisms of Host-Pathogen Interactions and Virulence, 11-17 May, 2006, La Colle sur Loup, France.

3) Niimi M, Tanabe K, Lamping E, Niimi K, Holmes AR, Monk BC and Cannon RD. Mechanisms of drug resistance in pathogenic fungi. The 7th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, 1-5 September, 2007, Hyogo, Japan.

4) Niimi M, Tanabe K, Niimi K, Lamping E, Takano Y, Holmes AR, Monk BC, Cannon RD, Uehara Y. Characterization of drug efflux pump inhibitors that chemosensitize fungal ABC transporters. 9th ASM conference on *Candida* and Candidiasis 24-28 March, 2008, New York, USA

5) Niimi K, Monk BC, Maki K, Hatakenaka K, Ikeda F, Niimi M, Nakayama H, Cannon RD. Clinically significant micafungin resistance in *Candida glabrata* requires mutations in both *FKS1* and *FKS2.* 9th ASM conference on *Candida* and Candidiasis. 24-28 March, 2008, New York, USA.

6) Keniya MV, Holmes AR, Niimi M, Cannon RD Monk BC. Heterologous expression of the *Candida albicans* plasma membrane proton pump in *Saccharomyces cerevisiae*. 9th ASM conference on *Candida* and Candidiasis. 24-28 March, 2008, New York, USA

7) Kaneko, Y., Yanagihara, K. and Miyazaki, Y.: New strategies for control of chronic respiratory infections - focusing on microbial biofilms-. First Indo-Japanese International Joint Symposium on Overcoming Intractable Infectious Diseases Prevalant in Asian Countries. November 6, 2007, Tokyo.

8) Ishikawa, J., Chiba, K., Hoshino, Y., Ishino, K., Kogure, T., and Mikami, Y.: Development of a genetic analysis system for *Nocardia* species.

International Symposium on the Biology of Actinomycetes, Aug. 26-30, 2007, Newcastle upon Tyne, U. K.

9) Hoshino, Y., Chiba, K., Fukai, T., Igarashi, Y., Mikami, Y., and Ishikawa, J.: Identification of the salicylate synthase gene of *Nocardia farcinica* and its role in the biosynthesis of nocobactin. International Symposium on the Biology of Actinomycetes, Aug. 26-30, 2007, Newcastle upon Tyne, U. K.

2．国内学会

1) 宮﨑義継：改正・深在性真菌症ガイドライン、呼吸器領域　第47回日本呼吸器学会学術講演会　平成19年5月10-12日 東京

2) 宮﨑義継：感染症におけるDDSの現況 第23回日本DDS学会総会　平成19年6月14日-15日　熊本

3) 宮﨑義継：神経感染症の治療の進歩と将来の展望. 第 25 回日本神経治療学会総会　平成 19 年 6 月 21 日-22 日　仙台

4) 宮崎義継：アスペルギルス症への挑戦～診断から治療まで～　真菌症フォーラム第 9 回学術集会 平成 20 年 2 月 9 日　東京

5) 宮崎義継：バイオセキュリティとバイオセーフティ　第 23 回日本環境感染学会総会　平成 20 年 2 月 22 日　長崎

6) 田辺公一、新見昌一 病原真菌ABCタンパク質と基質の相互作用 第4回真菌分子細胞研究会 平成19年8月26，27日 千葉

7) 新見昌一 医真菌学の現状と将来：私の専門分野から、抗真菌薬耐性機構 第 15 回医真菌学セミナー 平成 19 年 10 月 6 日 東京

8) 田辺公一、冨山　進、上原至雅、新見昌一出芽酵母 ABC タンパク質 Pdr5p の阻害剤 FK506 非感受性化変異 第 51 回日本医真菌学会総会 平成 19 年 11 月 9-10 日 高山

9) 中山浩伸、田辺公一、知花博治、青山俊弘、新見昌一 *Candida glabrata* のステロールトランスポータ *AUS1* の機能発現 平成 19 年 11 月 9-10 日 第 51 回日本医真菌学会総会（高山）

10) 新見京子、牧克之、畠中千明、石川嵩彦、高田徹、田村和夫、新見昌一、中山浩伸、BC Monk, RD Cannon. Clinical micafungin resistance required functional homozygosity in *Candida glabrata* glucan synthase 第 51 回日本医真菌学会総会 平成 19 年 11 月 9-10 日 高山

11) 村山そう明、山口正視、川本　進、新見昌一、梶原　将 *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 51 回日本医真菌学会総会 平成 19 年 11 月 9-10 日 高山

12) 三好薫治、田辺公一、臺 由紀、高野幸枝、宮崎義継、新見昌一 病原真菌 ABC タンパク質の FK506 による阻害メカニズムの解明 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 平成 19 年 12 月 11-15 日 横浜

13) 名木　稔、田辺公一、臺 由紀、高野幸枝、宮崎義継、新見昌一 ドメイン置換解析による *Candida albicans* ABC タンパク質の基質認識メカニズムの解明 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 平成 19 年 12 月 11-15 日 横浜

14) 田辺公一、名木稔、新見昌一、宮崎義継：病原真菌 *Candida albicans* ABC タンパク質の基質認識メカニズムに関する研究　第 6 回　感染症沖縄フォーラム　2008 年 2 月 14-16 日 沖縄

15) 田辺公一、中山浩伸、知花博治、新見昌一、宮崎義継：病原真菌 ABC タンパク質の抗真菌薬耐性との関わり　第 81 回日本細菌学会総会　2008 年 3 月 24-26 日 京都

16) 深澤秀輔、上原至雅：Cell-based screening approaches for identification of signal transduction inhibitors.　第 66 回日本癌学会学術総会　シンポジウム　分子標的としてのシグナル伝達　平成 19 年 10 月 3-5 日、横浜

17) 村上裕子、山越智、鈴木哲朗、脇田隆字、深澤秀輔：培養細胞をもちいた C 型 肝炎ウイルス（HCV）の阻害剤のスクリーニング。第 55 回日本ウイルス学会学術集会　平成 19 年 10 月 21-23 日、札幌

18) 金子幸弘、柳原克紀、宮﨑義継、河野茂、Pradeep Singh：ガリウム(Ga)の抗菌及び抗バイオフィルム作用についての検討。第 36 回薬剤耐性菌研究会 平成 19 年 11 月 16-17 日、伊香保

19) 金子幸弘、柳原克紀、宮﨑義継、河野茂、Pradeep Singh：緑膿菌バイオフィルムに対するガリウム（Ga）の作用についての検討。第 42 回緑膿菌感染症研究会学術集会　平成 20 年 2 月 1 日、東京

20) 池田好美、鈴木岳之、上原至雅、深澤秀輔：Hypothemycin による MEK-ERK 経路の選択的阻害。日本薬学会第 128 年会、平成 20 年 3 月 26-28 日、横浜

21) Dang Hung MINH, 加藤秀人、上芝秀博、今西健一、鈴木和男、山越　智、内山竹彦、八木淳二：Role of leukocyte cell-derived chemotaxin 2 in the toxic shock caused by staphylococal enterotoxin A、第 37 回　日本免疫学会総会・学術集会、平成 19 年 11 月 20-22 日、東京.

22) 加藤秀人、Dang Hung MINH、山越　智、鈴木和男、上芝秀博、今西健一、内山竹彦、八木淳二：新規ケモカイン LECT2 のトキシックショック抑制作用の解析、第 81 回　日本細菌学会総会、平成 20 年 3 月 24－26 日、京都.

23) 高橋俊二、豊田　敦、鈴木龍一郎、関山恭代、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 22 回日本放線菌学会大会、平成 19 年 5 月 30-6 月 1 日、広島

24) 五ノ井　透、星野泰隆、矢沢勝清、石川　淳、三上　襄：病原性放線菌 *Nocardia* 属 64 種が産生するシデロフォアの多様性の解析. 第 22 回日本放線菌学会大会、平成 19 年 5 月 30-6 月 1 日、広島

25) 小暮高久、島田玲緒奈、矢沢勝清、石川　淳、三上　襄：*Nocardia farcinica* におけるアミノグリコシド高度耐性化機構の解析. 第 22 回日本放線菌学会大会、平成 19 年 5 月 30-6 月 1 日、広島

26) 千葉和宏、星野泰隆、石野敬子、石川　淳：病原性放線菌 *Nocardia farcinica* におけるシデロフォア nocobactin の生合成遺伝子の同定. 第 81 回日本細菌学会総会、平成 20 年 3 月 24-26 日、京都

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、オートファジーに関する研究、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、プリオン病の発症過程におけるマウス脳のプロテオーム変動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ている。

また、膜脂質解析や質量分析器を用いた蛋白質解析を通じて、他部との共同研究も積極的に進めている。

人事面では、平成１９年４月１日付けで原英之が第一室に任期付研究員として採用され、同年１０月１日付けで熊谷圭悟が第四室研究員として採用された。臨時職員として大内史子、佐藤慈子が在籍し、実験補助に従事した。

本年度も当研究部の研究に対し、経常研究費に加え、厚生労働省、文部科学省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）近交系マウスへの非定型的 BSE プリオンの伝達

我が国で確認された BSE 罹患ウシのうち 24 例目（BSE/JP24）は、脳内に蓄積した異常型プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）の生化学的・病理学的特徴が典型 BSE とは異なる（Jpn. J. Infect. Dis., 60,305（2007）。この非定型 BSE プリオンの性状解析のため、BSE/JP24 の脳ホモジネートを近交系マウス３系統へ脳内接種（C57、SJL、RIII：2006 年秋）し、現在、経過を観察中である。これまでに採材した脳、脾臓、回腸遠位部についてウエスタンブロット（WB）／免疫組織化学染色法により PrP^{Sc} を検索したところ、非定型 BSE プリオンを接種した個体は接種 500 日以上経過しても PrP^{Sc} の蓄積は認められなかった。一方、典型 BSE のプリオン接種群では、接種後 250 日以降に殆どの個体において PrP^{Sc} の蓄積が検出された。

［萩原健一、山河芳夫、中村優子、大内史子、佐藤由子・佐多徹太郎（感染病理部）］

（２）ウシ・プリオン蛋白質を発現するトランスジェニックマウス（boTg-マウス）への非定型 BSE プリオンの伝達

BSEJP/24 例において見出された非定型 BSE プリオンの伝達性を検証するため，ウシ・プリオン蛋白質を発現するトランスジェニックマウス(boTg-マウス)への伝達を試みた。その結果、初回接種の boTg-マウスは 199.7±3.4 日の潜伏期間を経て発症した。一方、従来株（典型）プリオンを接種した同マウスは、潜伏期間が 233.5±13.5 日であった。このことから、BSEJP/24 の非定型プリオン株は、欧州で発見されている非定型 BSE-L 型株と同様に、従来株に比べてウシに対して強い感染性を持つ新規株であると推定される。

［山河芳夫、萩原健一、佐多徹太郎（感染病理部）、舛甚賢太郎・岩丸祥史・今村守一・岡田洋之・毛利資郎・横山隆（動物衛生研究所）］

（３）BSE 接種サルの脳脊髄液中の 14-3-3 蛋白質の変動

脳脊髄液中の 14-3-3 蛋白質の検査は、孤発性 CJD（sCJD）の鑑別診断法として重要である。しかし変異型 CJD（vCJD）に対しては、有効ではないと報告されている。これは、sCJD に比して病態の進行が緩徐な vCJD では神経細胞の変性死が長期間にわたって進行するために、14-3-3 蛋白質の濃度変化を捕捉し難いためと考えられる。本研究では、ヒト vCJD のモデルとして BSE プリオンをカニクイザルに接種し（2006 年度年報参照）、経時的に採取した脳脊髄液中の 14-3-3 蛋白質の変動を WB 法で検討した。その結果、２頭の 14-3-3 蛋白質は、神経症状を呈する 800 日前後に急速に増加していた。興味深いことに、接種後 500 日（＝発症の約１年前）から極めて微量の 14-3-3 蛋白質が検出された。このことは、14-3-3 蛋白質の検査が vCJD の生前診断に使える可能性を示唆するものである。

［山河芳夫、大内史子、萩原健一、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）］

（４）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

スクレーピー病原体（Obihiro I 株）を接種したマウスにおいて、PrP^{Sc} の蓄積に伴って変動する脳内の蛋白質の同定・解析を進め、CRMP-2 のＣ末端領域を欠失したアイソフォーム（CRMP-2-ΔC）が増加することを明らかにしてきた。欠失領域は CRMP-2 の神経軸索の伸展活性を調節するリン酸化部位を含む。そこで CRMP-2-ΔC およびリン酸化部位へ変異を導入した CRMP-2 の cDNA を作成し、これらを神経細胞に強制発現させて細胞の形態への影響を検討した。その結果、CRMP-2-ΔC は、リン酸化型 CRMP-2（不活性型）を模倣した変異体の発現細胞と比較して、非リン酸化型（活性型）変異体の発現細胞に認められるような多分岐の神経突起を生じることがわかった。

［大内史子、萩原健一、花田賢太郎、山河芳夫］

（５）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

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るため、ガングリオシド生合成酵素遺伝子のノックアウト・マウス 2 系統に対して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、昨年度から観察を続けた。その結果、野生型マウスがプリオン病の終末期症状を呈するまでの期間（脳内接種＝約 180 日、腹腔内接種＝約 280 日）と比べて、２系統のノックアウト・マウスは同程度あるいはやや早期に症状を示した。現在、安楽殺に処したマウスから採材した組織の生化学的・病理学的解析を進めている。

［萩原健一、山河芳夫、原英之、花田賢太郎、佐藤由子・佐多徹太郎（感染病理部）、山下匡（北大・先端生命科学研究院）］

（６）P9 ペプチドによる PrP^{Sc} 蓄積の阻害活性と構造活性相関

正常型プリオン蛋白質に由来するペプチド P9（アミノ酸 18 残基）は、プリオンを感染させた神経芽腫細胞（ScN2a 細胞）での PrP^{Sc} の蓄積を顕著に阻害する。今回、17 種の P9 アナログ・ペプチドを新規合成し、P9 の活性発現に必要な最小鎖長の検索および構造活性相関を検討した。特に興味深い点として、P9 と同一の鎖長・アミノ酸組成を有し、かつ N 末端あるいは C 末端に Lys 残基を有するアナログは、P9 と同等の活性を発揮するという結果を得た。このアナログでは、末端 Lys を Arg に置換すると活性が減弱した。よって、末端の正電荷が活性発現の必要十分条件ではなく、むしろ末端に Lys 残基が必要とされる何らかの物性的・構造的理由があると考えられる。

［中村優子、山河芳夫、萩原健一］

（７）P9 ペプチドの作用機作の解析

P9 がどのような作用機序で ScN2a 細胞で PrP^{Sc} の産生・蓄積を阻害するのかについて解析した。リソソームの蛋白質分解能の指標としてカテプシン D 活性を測定したところ、ScN2a 細胞のカテプシン D 活性の強弱と P9 および P9 アナログ・ペプチドの活性との間には明確な相関は認められなかった。一方、細胞の免疫蛍光染色像から、ペプチドの活性の強弱に応じて、細胞内の PrP^{Sc} 蓄積部位へカテプシン D が集積することが明らかとなった。こ

のことから、P9 はリソソームの蛋白質分解能を活性化させるのではなく、リソソームおよび PrP^{Sc} の主たる蓄積部位である後期エンドソームの分布や両オルガネラ間の輸送に影響を与えて、PrP^{Sc} の分解を促進すると予想された。

［中村優子、山河芳夫、谷田以誠、花田賢太郎、萩原健一、田中恵子（感染病理部）］

（８）PrP^{C}→PrP^{Sc} 構造変換の分子機構に関する研究

PrP^{Sc} は正常型プリオン蛋白質（PrP^{C}）の構造変換により生じるが、この変換機構には不明な点が多い。今回、マウス・プリオン蛋白質のオクタペプチド・リピート領域付近の配列（アミノ酸９残基）をニワトリ PrP^{C} の対応領域の配列で置換すると、このキメラ蛋白質は ScN2a 細胞で強制発現させても proteinase K（PK）抵抗性の PrP^{Sc} へ変換されないことを見出した。この領域は、Wüthrich らによる PrP^{C} の NMR データでは柔軟な構造と解釈されているが、PrP^{Sc} においては PK 抵抗性の断片として残るという特徴をもつ。この領域が PrP^{C}→PrP^{Sc} 変換の効率を規定する一領域である可能性が予想され、現在、アミノ酸 9 残基に変異を導入することにより詳細を解析中である。

［原英之、中村優子、萩原健一］

（９）固相化法による PrP^{Sc} の高感度検出法の開発

食肉衛生検査所での BSE スクリーニング検査では、国内外で認証済みの検査キットが使われている。これらはサンドイッチ ELISA 法に基づくが、凝集体である PrP^{Sc} は抗原部位が露出し難い。そこで PrP^{Sc} を還元・変性させた後にチオール基を介して固相に固定化し、これを検出する方法を検討した。「チオール基を有する」こと、および「固相化後、不要な配列を切断・除去する」ことにより検出の選択性の向上を図った結果、実験的発症マウス（終末期）の脳ホモジネートに対しては PrP^{Sc} の高感度検出が達成できた。しかし、食肉衛生検査所で摘発された BSE 罹患ウシの脳ホモジネートに対しては、夾雑成分が固相化反応を妨害し、高感度検出に至らなかった。

［萩原健一、山河芳夫］

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分子メカニズム

オートファジーは細胞内免疫システムとして細菌感染・ウィルス感染に関与している。オートファジーを評価するために、蛍光タンパク質に LC3 を結合した融合タンパク質が用いられるが、幾つかの問題点があり、その問題点を解決するために、適切な陰性コントロールを作成した。また、２大タンパク分解系（オートファジー系とユビキチン・プロテアソーム系）におけるオートファジー分子とユビキチン化の関係について研究した。異常型プリオンを含む凝集体を形成する細胞毒性を持つタンパク質におけるオートファジー・リソソーム系の関与について、研究を展開しつつある。

[谷田以誠、山地俊之、花田賢太郎]

（２）シンドビスウィルス感染時における細胞内オートファジーの関与

シンドビスウィルス感染時における細胞内オートファジーの動態を調べている。シンドビスウィルスを CHO 細胞に感染しても誘導性オートファジーはあまり顕著に起こらない。今後の検討が必要である。

[齊藤恭子、谷田以誠、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．スフィンゴ糖脂質と細菌毒素に関する研究

（１）遺伝子トラップ法を用いた志賀毒素耐性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、遺伝子トラップ法を利用した志賀毒素耐性株単離のスクリーニングを行った。まず Gb3 を発現させた CHO 細胞を親株とし、UPA Trap 法によりランダムな遺伝子破壊を行った。これら変異株ライブラリーに志賀毒素を処理したところ耐性を示すいくつかのクローンの単離に成功した。そのうちの１つは UDP-Galactose transproter の変異株であり、Gb3 発現量の低下を示した。

[山地俊之、花田賢太郎、西川喜代孝（同志社大院）、石田靖雅（奈良先端科技大院）]

（２）cDNA 過剰発現系を用いた志賀毒素耐性遺伝子のスクリーニング

（１）と同様の目的で、上記とは逆に cDNA ライブラリーを HeLa 細胞（志賀毒素に感受性）にレトロウイルスを用いて導入することにより、過剰発現によって志賀毒素に耐性を示す遺伝子のスクリーニングを行った。一次スクリーニングで単離された志賀毒素耐性株より挿入遺伝子を同定し、再び HeLa 細胞に導入することで 2 種類の耐性遺伝子を得ることに成功した。そのうち１つは Gb3 と同じくラクトシルセラミドを基質とするガングリオシド GM3 の合成酵素であり、もう１つは機能未知の遺伝子であった。現在後者の遺伝子に関し、志賀毒素に耐性を示す原因を解析中である。

[山地俊之、花田賢太郎]

２．C 型肝炎ウイルスに関する研究

（１）　Ｃ型肝炎ウイルスコアタンパク質に対する宿主タンパク質ビメンチンの影響

Ｃ型肝炎ウイルス(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。これまでに宿主ビメンチン発現量が HCV コアタンパク質量に影響を与えることで HCV 産生量にも影響を与えることを示してきた。ビメンチンのコアタンパク質発現に対する作用メカニズムとして、今回プロテアソーム依存的なコアタンパク質の分解系が関与してい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・脇田隆宇（ウイルス２部)、宮村達男(所長)］

（２）　Ｃ型肝炎ウイルス産生のスフィンゴミエリン合成酵素阻害剤による阻害

Ｃ型肝炎ウイルス(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。我々は培養細胞を用いた HCV 感染系において、スフィンゴミエリン合成酵素阻害剤が有意に HCV 産生を阻害することを見いだした。

［深澤征義、富重斉生、花田賢太郎、西島正弘、鈴木哲朗・脇田隆宇（ウイルス２部)、宮村達男(所長)、］

（３）　C 型肝炎ウィルス（HCV）NS4B 蛋白質誘導発現細胞の構築

HCV の RNA 複製に関与する NS4B 蛋白質は、膜のリアレンジメントを引き起こす蛋白質である。我々は Huh7 細胞を用いて、ドキシサイクリンの有無により HA タグを付加した NS4B 蛋白質の発現を誘導することができる細胞を構築した。今後この細胞を用いて、NS4B 蛋白質に結合する細胞因子を生化学的に探索する予定である。

[齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎]

（４）HCV 感染におけるイノシトールリン脂質動態の解析

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シグナル分子として極めて重要な役割を担っている。我々は前年度の研究で、HCV 感染に伴うイノシトールリン脂質群の空間的変化を細胞内蛍光プローブ（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）を用いて解析した。今回我々は放射標識法を用いて Huh-7 細胞における HCV 感染に応答したイノシトールリン脂質群の量的変動を解析し、その結果感染後 2 時間まではイノシトールリン脂質群の変化を検出できないことが明らかとなった。これは昨年度の結果、すなわち HCV 感染初期においてイノシトールリン脂質群の細胞内における空間的変化が認められなかったことと併せて、HCV 感染がその初期応答においてはイノシトールリン脂質群の量的・空間的変化を伴わないことを示している。そこで HCV 感染中期および後期におけるイノシトールリン脂質群の変動を解析するため、より細胞傷害性の低いテトラサイクリン誘導性の低発現型ベクターを用いてイノシトールリン脂質群に対する細胞内蛍光プローブを発現する実験系を新たに開発した。現在、この系を用いて感染応答におけるイノシトールリン脂質動態解析を進めている。

［前濱朝彦、花田賢太郎］

（５）HCV 複製に関与するイノシトールリン脂質群の解析

イノシトールリン脂質群はそれぞれのイノシトールリン脂質に特異的な脂質キナーゼ・ホスファターゼによっ

てその産生・分解が制御されている。本項では、Huh-7 細胞における HCV 産生をモデル実験系として用い、HCV 複製時におけるこれらの代謝酵素群の役割を逆遺伝学的手法によって解析した。その結果、INPP4A の発現阻害が細胞内における HCV タンパク質（NS3、NS5）の産生および HCV ゲノム RNA の産生量を増加させることを見いだした。この結果は HCV の複製過程において INPP4A によって代謝されるイノシトールリン脂質（群）が重要な役割を担っていることを示している。現在は、前項で新規開発したイノシトールリン脂質プローブを用いて HCV 感染の中期・後期における当該イノシトールリン脂質解析系の開発を試みるとともに、INPP4A およびその代謝産物がどのように HCV 複製に関与するのか、その分子レベルでの作用機序解析を進めている。

［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動する。このタンパク質合成活性の制御にはタンパク質キナーゼ mTOR が重要な役割を担っているが、細胞がどのように細胞外栄養素を感知して mTOR を活性化するのか、その分子機構には不明な点が多い。今回我々は mTOR 活性化に関与する低分子量 G 蛋白質およびその活性化因子群の同定を目的とした RNAi スクリーニングを行い、Ras ファミリーに属する低分子量 G タンパク質（ここでは Smg と表記）およびその活性化因子 Smg-GEF が細胞外栄養素（アミノ酸、グルコース）感知システムの必須因子であることを見いだした。また細胞外栄養素に応答して Smg の活性化が起こること、活性化型（GTP 結合型）Smg を特異的に阻害する RBD タンパク質の強制発現が mTOR 活性化を抑制することから、細胞外栄養素に応答した mTOR 活性化は Smg の活性化を介して引き起こされることが示唆された。さらに Smg のノックダウンが活性化型 Rheb によって惹起される mTOR 活性化を抑制すること、活性化型 Smg の発現がドミナントネガティブ型 Rheb による mTOR 抑制を解除することから、Smg は Rheb 下流で mTOR 活性化に関与していると考えられた。現在は Smg の作用機序および Smg 活性化機構の解析を行っている。

［前濱朝彦、田中正彦、花田賢太郎］

V. 細胞内セラミド輸送に関する研究

（１）CERT の脱リン酸化に関する研究

CERT はセラミドの小胞体-ゴルジ体間輸送を司る蛋白質である。CERT は、通常の細胞培養条件下でリン酸化修飾を受けて不活性化されているが、　細胞をスフィンゴミエリナーゼで処理すると脱リン酸化されてセラミド輸送能が活性化される。　この脱リン酸化現象にはホスファターゼによる脱リン酸化が関与していることが明らかになった。　一方、新規リン酸化の抑制はあまり顕著ではない。　更に検討を行い、CERT のリン酸化を制御するメカニズムを解明していく予定である。

[熊谷圭悟、花田賢太郎]

（２）CERT をリン酸化するキナーゼ

昨年度までに、スフィンゴミエリン(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。本年度は、CKIγ2 を安定導入した CHO 細胞において、野生型 CERT はリン酸化を受けて SM 合成が抑制されるが、CKI の認識コンセンサス配列に変異を持つ CERT ではリン酸化を受けずに SM 合成抑制が解除されることなどを見出した。これらの結果から、CKIγ2 は CERT のリン酸化を介して SM 合成を制御していることが明らかとなった。

[冨重斉生、熊谷圭悟、花田賢太郎、楠田潤（医薬基盤研）]

（３）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相互作用しているのかを明らかにした。セラミドとの水素結合に関わるアミノ酸を他のアミノ酸に置換したところ、START ドメインの膜間セラミド転移活性は減少した。また、三次元構造の表面に位置する特異的なトリプトファン残基をアラニンに置換すると膜間セラミド

転移活性はほぼ完全に失われたことから、このトリプトファン残基は脂質膜との相互作用することを示唆した。
[熊谷圭悟、山地俊之、冨重斉生、西島正弘、花田賢太郎、工藤紀雄・加藤龍一・若槻壮市（高エネ研）]

Ⅵ．病原体感染における抗炎症性脂質に関する研究

（１）インフルエンザ感染における抗炎症性脂質の影響

炎症後期に高度不飽和脂肪酸（n-3 系列脂肪酸）から合成されるレゾルビン等の脂質は炎症を収束させる抗炎症性脂質である。　感染症によって誘発される炎症とこれらの抗炎症性脂質の関係を調べるための動物実験を開始した。　インフルエンザウィルス H1N1 PR-8 株をマウスに鼻腔内感染させると、肺に激しい炎症を惹起し個体を死に至らしめるが、n-3 脂肪酸欠乏食を与え続けて体内の n-3 脂肪酸が著しく低下した個体は、コントロールの個体に比べて感染に対する抵抗性が若干下がる傾向が確認された。　現在、条件の至適化などを行っている。
[熊谷圭悟、花田賢太郎、山本紀一（免疫部）、有田誠（東大院薬）]

VII.　行政検査実績

項目：プリオン行政検査（ウエスタンブロット法による確認検査）
期間：１９年４月１日～平成２０年３月３１日
検体数：　ウシ１件（うち０件陽性）
　　ヤギ１件［規格外検体］（うち０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）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 75 時間（Voyager-DE STR）および約 110 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)　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. 30, 835-838, 2007

2)　Hagiwara, K., Yamakawa, Y., Sato, Y., Nakamura, Y., Tobiume, M., Shinagawa, M., Sata, T.: Accumulation of mono–glycosylated form–rich, plaque–forming PrP^{Sc} in the second atypical bovine encephalopathy case in Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 60, 305–308, 2007

3)　Ishii Y., Kondo K., Matsumoto T., Tanaka K., Shinkai-Ouchi F., Hagiwara K., Kanda T.: Thiol-reactive reagents inhibits intracellular trafficking of human papillomavirus type 16 pseudovirions by binding to cysteine residues of major capsid protein L1. Virol J. 4, 110, 2007

4)　Yokoyama, T., Masujin, K., Yamakawa, Y., Sata, T., Murayama, Y., Shu, Y., Okada, H., Mohri, S., Shinagawa, M.: Experimental transmission of two young and one suspended bovine spongiform encephalopathy (BSE) cases to bovinized transgenic mice. Jpn. J. Infect. Dis. 60, 317-320, 2007

5)　Yamamoto, T., Ushiki, Y., Hara, S., Hall, W. W., Tsukagoshi-Nagai, H., Yokoyama, T., Tagawa, Y., Sata, T., Yamakawa, Y., Kinoshita, N., Tamura, F., Hattori, S., Irie, S.: An advantageous method utilizing new homogenizing device BioMasher and a senstitive ELISA to detect bovine spongiform encephalopathy accurately in brain tissue. J. Virol. Methods 149, 316-325, 2008

6)　Tanida, I., Yamaji, T., Ueno, T., Ishiura, S., Kominami, E., and Hanada, K.: Consideration about negative controls for LC3 and expression vectors for four colored fluorescent protein-LC3 negative controls. Autophagy 4, 131-134, 2008

7)　Klionsky, DJ., Abeliovich, H., Agostinis, P., Agrawal, DK., Aliev, G., Askew, DS., Baba, M., Baehrecke, EH., Bahr, BA., Ballabio, A., Bamber, BA., Bassham, DC., Bergamini, E., Bi,

X., Biard-Piechaczyk, M., Blum, JS., Bredesen, DE., Brodsky, JL., Brumell, JH., Brunk, UT., Bursch, W., Camougrand, N., Cebollero, E., Cecconi, F., Chen, Y., Chin, LS., Choi, A., Chu, CT., Chung, J., Clarke, PG., Clark, RS., Clarke, SG., Clave, C., Cleveland, JL., Codogno, P., Colombo, MI., Coto-Montes, A., Cregg, JM., Cuervo, AM., Debnath, J., Demarchi, F., Dennis, PB., Dennis, PA., Deretic, V., Devenish, RJ., Di Sano, F., Dice, JF., Difiglia, M., Dinesh-Kumar, S., Distelhorst, CW., Djavaheri-Mergny, M., Dorsey, FC., Droge, W., Dron, M., Dunn, WA Jr., Duszenko, M., Eissa, NT., Elazar, Z., Esclatine, A., Eskelinen, EL., Fesus, L., Finley, KD., Fuentes, JM., Fueyo, J., Fujisaki, K., Galliot, B., Gao, FB., Gewirtz, DA., Gibson, SB., Gohla, A., Goldberg, AL., Gonzalez, R., Gonzalez-Estevez, C., Gorski, S., Gottlieb, RA., Haussinger, D., He, YW., Heidenreich, K., Hill, JA., Heuyer-Hansen, M., Hu, X., Huang, WP., Iwasaki, A., Jaattel, M., Jackson, WT., Jiang, X., Jin, S., Johansen, T., Jung, JU., Kadowaki, M., Kang, C., Kelekar, A., Kessel, DH., Kiel, JA., Kim, HP., Kimchi, A., Kinsella, TJ., Kiselyov, K., Kitamoto, K., Knecht, E., Komatsu, M., Kominami, E., Kondo, S., Kovacs, AL., Kroemer, G., Kuan, CY., Kumar, R., Kundu, M., Landry, J., Laporte, M., Le, W., Lei, HY., Lenardo, MJ., Levine, B., Lieberman, A., Lim, KL., Lin, FC., Liou, W., Liu, LF., Lopez-Berestein, G., Lopez-Otin, C., Lu, B., Macleod, KF., Malorni, W., Martinet, W., Matsuoka, K., Mautner, J., Meijer, AJ., Melendez, A., Michels, P., Miotto, G., Mistiaen, WP., Mizushima, N., Mograbi, B., Monastyrska, I., Moore, MN., Moreira, PI., Moriyasu, Y., Motyl, T., Munz, C., Murphy, LO., Naqvi, NI., Neufeld, TP., Nishino, I., Nixon, RA., Noda, T., Nurnberg, B., Ogawa, M., Oleinick, NL., Olsen, LJ., Ozpolat, B., Paglin, S., Palmer, GE., Papassideri, I., Parkes, M., Perlmutter, DH., Perry, G., Piacentini, M., Pinkas-Kramarski, R., Prescott, M., Proikas-Cezanne, T., Raben, N., Rami, A., Reggiori, F., Rohrer, B., Rubinsztein, DC., Ryan, KM., Sadoshima, J., Sakagami, H., Sakai, Y., Sandri, M., Sasakawa, C., Sass, M., Schneider, C., Seglen, PO., Seleverstov, O., Settleman, J., Shacka, JJ., Shapiro, IM., Sibirny, A., Silva-Zacarin, EC., Simon, HU., Simone, C., Simonsen, A., Smith, MA., Spanel-Borowski, K., Srinivas, V., Steeves, M., Stenmark, H., Stromhaug, PE., Subauste, CS., Sugimoto, S., Sulzer, D., Suzuki, T., Swanson, MS., Tabas, I., Takeshita, F., Talbot, NJ., Talloczy, Z., Tanaka, K., Tanaka, K., Tanida, I., Taylor, GS., Taylor, JP., Terman, A., Tettamanti, G., Thompson, CB., Thumm, M., Tolkovsky, AM., Tooze, SA., Truant, R., Tumanovska, LV., Uchiyama, Y., Ueno, T., Uzcategui, NL., van der Klei, I., Vaquero, EC., Vellai, T., Vogel, MW., Wang, HG., Webster, P., Wiley, JW., Xi, Z., Xiao, G., Yahalom, J., Yang, JM., Yap, G., Yin, XM., Yoshimori, T., Yu, L., Yue, Z., Yuzaki, M., Zabirnyk, O., Zheng, X., Zhu, X., and Deter, RL.: Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes. Autophagy 4, 151-175, 2008

8) Uchio, N., Oma, Y., Toriumi, K., Sasagawa, N., Tanida, I., Fujita, E., Kouroku, Y., Kuroda, R., Momoi, T., and Ishiura, S.: Endoplasmic reticulum stress caused by aggregate-prone proteins containing homopolymeric amino acids. FEBS J. 274, 5619-5627. 2007

9) 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. 27, 3008-3022, 2007

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) Maehama, T.: PTEN: its deregulation and tumorigenesis. Biol. Pharm. Bull. 30, 1624–1627, 2007

12) Malchinkhuu, E., Sato, K., Maehama, T., Mogi, C., Tomura, H., Ishiuchi, S., Yoshimoto, Y., Kurose, H., and Okajima, F.: S1P2 receptors mediate inhibition of glioma cell migration through Rho signaling pathways independent of PTEN. Biochem. Biophys. Res. Commun. 366, 963–968, 2007

13) Hanada, K., Kumagai, K., Tomishige, N., and Kawano. M.: CERT and intracellular trafficking of ceramide**.** Biochim. Biophys. Acta 1771, 644-653, 2007

14) Nagao, K., Takahashi, K., Hanada, K., Kioka, N., Matsuo M., and Ueda, K.: Enhanced apoA-I-dependent cholesterol efflux by ABCA1 from sphingomyelin-deficient CHO cells. J. Biol. Chem. 282, 14868-14874, 2007

15) Kumagai, K., Kawano, M., Shinkai-Ouchi, F., Nishijima, M., and Hanada, K.: Inter-organelle trafficking of ceramide is regulated by phosphorylation-dependent co-operativity between the PH and START domains of CERT. J. Biol. Chem. 282, 17758-17766, 2007

16) Separovic, D., Hanada, K., Maitah, MYA., Nagy, B., Hang, I., Tainsky, MA., Kraniak, JM., Bielawski, J.: Sphingomyelin synthase 1 suppresses ceramide production and apoptosis post-photodamage. Biochem. Biophys. Res. Commun. 358, 196-202, 2007

17) Sano, O., Kobayashi, A., Nagao, K., Kumagai, K., Kioka, N., Hanada, K., Ueda, K., and Matsuo, M.: Sphingomyelin-dependence of cholesterol efflux mediated by ABCG1. J. Lipid Res. 48, 2377-2384, 2007

18)Haberkant, P., Schmitt, O., Contreras, FX., Thiele, C., Hanada, K., Sprong, H., Reinhard, C., Wieland, FT., and Brügger. B.: Protein-sphingolipid interactions within cellular membranes**.** J. Lipid Res. 49, 251-262, 2008

19)Shi, L., Bielawski, J., Mu, J., Dong, H., Teng, C., Zhang, J., Yang, X., Tomishige, N., Hanada, K., Hannun, YA., and Zuo, J.: Involvement of sphingoid bases in mediating reactive oxygen intermediate production and programmed cell death in *Arabidopsis.* Cell Res. 17, 1030-1040, 2007

20)Giussani, P., Colleoni, T., Brioschi, L., Bassi, R., Hanada, K., Tettamanti, G., Riboni L., and Viani, P.: Ceramide traffic in C6 glioma cells: Evidence for CERT-dependent and independent transport from ER to the Golgi apparatus. Biochim. Biophys. Acta 1781, 40-51, 2008

21)Kudo, N., Kumagai, K., Tomishige, N., Yamaji, T., Wakatsuki, S., Nishijima, M., Hanada, K., and Kato, R.: Structural basis for specific lipid recognition by CERT responsible for nonvesicular trafficking of ceramide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 488-493, 2008

22)Saito, S., Matsui, H., Kawano, M., Kumagai, K., Tomishige, N., Hanada, K., Echigo, S., Tamura, S., and Kobayashi, T.: Protein phosphatase 2Cε is an endoplasmic reticulum integral membrane protein that dephosphorylates the ceramide transport protein CERT to enhance its association with organelle membranes. J. Biol. Chem. 283, 6584-6593, 2008

23)Separovic, D, Semaan, L, Tarca, AL, Maitah, MYA., Hanada, K., Bielawski, J., Villani, M., and Luberto. C.: Suppression of sphingomyelin synthase 1 by small interference RNA is associated with enhanced ceramide production and apoptosis after photodamage. Exp. Cell Res. 314, in press

24)Charruyer, A., Bell S.M., Kawano, M., Douangpanya, S,, Yen, T.Y., Macher, B.A., Kumagai, K., Hanada, K,, Holleran, W.M., and Uchida, Y.: Decreased ceramide transport protein, cert, function alters sphingomyelin production following UVB irradiation. J. Biol. Chem. in press, 2008

25) Yamaji, T., Kumagai, K., Tomishige, N., Hanada, K.: Two sphingolipid transfer proteins, CERT and FAPP2: Their roles in sphingolipid metabolism. IUBMB Life in press, 2008

26) Aizaki, H., Morikawa, K., Fukasawa, M., Hara, H., Inoue, Y., Tani, H., Saito, K., Nishijima, M., Hanada, K., Matsuura, Y., Lai, MMC., Miyamura, T., Wakita, T., and Suzuki, T.: Critical role of virion-associated cholesterol and sphingolipid in hepatitis C virus infection. J. Virol. in press, 2008

２．和文発表

１） 前濱朝彦、岡原史明、金保安則：あらたな癌抑制遺伝子 PICT-1/GLTSCR2、医学のあゆみ、224，172–173，2008

II. 学 会 発 表

1.国際学会

1) Ono, F., Terao, K., Tase, N., Hiyaoka, A., Ohyama, A., Tezuka, Y., Wada, N., Sato, Y., Tobiume, M., Nakamura, Y., Hagiwara, K., Yamakawa, Y., Sata, T.: Transmission of BSE to Cynomolgus Macaque, a non human primate; Development of clinical symptoms and tissue distribution of PrP^{Sc}. Prion 2007, September 26-28, 2007, Edinburgh, UK

2) Hagiwara, K.: Atypical BSE cases in Japan. Taiwan and Japan BSE Prevention and Control Conference、October 29-31, 2007, Tansui, Taiwan

3) Tanida, I., Komatsu, M., Iwata, J., Ueno, T., Kominami, E., and Hanada, K.: GABARAP-lipidation during differentiation and Visualization of GABARAP in mice. Keystone Symposium “Autophagy in Health and Disease”. 2007.

4.15-21, Monterey, CA, USA

4) Tanida, I., Haruna, K., Suga, Y., Muramatsu, S., Komatsu, M., Tanaka, K., Ueno, T., Kominami, E., Ikada, S., and Hanada, K.: Autophagy during keratinization in the normal human epidermis and of the psoriatic epidermis characterized by incomplete keratinization. 47th Annual meeting of the American Society for Cell Biology, 2007.12.1-6, SanFrancisco, CA, USA

5) Tanida, I.: Autophagy in the normal human epidermis and of the psoriatic epidermis characterized by incomplete keratinization. Gordon Research Conferences "Autophay in Stress, Development and Disease", 2008.1.6-11, Ventura, CA, USA

6) Fukasawa, M., Nitahara-Kasahara, Y., Shinkai-Ouchi, F., Sato, S., Suzuki, T., Murakami, K., Wakita, T., Hanada, K., Miyamura, T., and Nishijima, M.: Cellular vimentin content affects the protein level of Hepatitis C virus core protein and the activity of Hepatitis C virus production in cultured cells. The 14th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2007.9.10, Glasgow, UK

7) Hanada, K.: Regulation of CERT-mediated trafficking of ceramide, 48th International Conference on the Bioscience of Lipids, 2007.9.4-8, Turku, Finland.

8) Hanada, K.: Regulation of nonvesicular trafficking of ceramide in mammalian cells, 2nd Asian Symposium on Plant Lipids, 2007.12.1, Tokyo

9) Tomishige, N., Kumagai, K., Kusuda, J., Nishijima, M., and Hanada, K.: Casein kinase Iγ2 down-regulates CERT-mediated trafficking of ceramide in the synthesis of sphingomyelin, Gordon Research Conference on Glycolipid & Sphingolipid Biology, 2008.2.17-22, Lucca, Italy

２．国内学会

1) 大内史子、山河芳夫、萩原健一：プリオン病発症に伴い増加する CMRP-2 アイソフォームの神経細胞への影響 2007 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） 2007.8.25-26、津南、新潟

2) 小野文子、寺尾恵治、田勢直美、冷岡明雄、大山篤史、手塚行雄、和田直己、佐藤由子、飛梅実、中村優子、萩原健一、山河芳夫、佐多徹太郎：霊長類（カニクイザル）への BSE の伝播 (I) 脳内接種による発症とそれに伴う行動解析及びプリオンの生体内分布 2007 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） 2007.8.25-26、津南、新潟

3) 松浦雄一、石川有紀子、萩原健一、山河芳夫、佐多徹太郎、横山隆、北本哲之、毛利資朗：迅速バイオアッセイ法による国内非定型 BSE の感染性検出 2007 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） 2007.8.25-26、津南、新潟

4) 進藤亮、山河芳夫、佐多徹太郎、横山隆、古岡秀文、堀内基広：日本で発生した BSE 由来の PrP^{Sc} の生化学的性状の解析 2007 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） 2007.8.25-26、津南、新潟

5) 横山隆、舛甚賢太郎、山河芳夫、佐多徹太郎、村山裕一、舒宇静、岡田洋之、毛利資郎、品川森一：我が国で認められた 21, 23 ヶ月齢の牛海綿状脳症(BSE)及び判定保留事例の伝達試験 2007 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） 2007.8.25-26、津南、新潟

6) 大内史子、山河芳夫、中村優子、花田賢太郎、萩原健一： Proteome analysis reveals quantitative and qualitative changes of CRMP-2 during the progression of prion disease. 第３０回日本分子生物学会年会・第８０回日本生化学会大会合同大会、2007.12.11-15、横浜

7) 中村優子、山河芳夫、花田賢太郎、田中恵子、谷田以誠、萩原健一： Synthetic fibril peptides promote clearance of scrapie prion protein by lysosomal degradation. 第３０回日本分子生物学会年会・第８０回日本生化学会大会合同大会、2007.12.11-15、横浜

8) 倉橋洋史、高橋愛子、原英之、中村義一： Channel mutations in Hsp104 hexamer distinctively affect thermotolerance and prion-specific propagation. 第３０回日本分子生物学会年会・第８０回日本生化学会大会合同大会、2007.12.11-15、横浜

9)谷田以誠：ヒト ATG8 結合系遺伝子群の病態プロファイリング、文科省特定領域研究「タンパク質分解」公開シンポジウム“ オートファジー:病態に迫る！ ”、2007.9.22、東京

10)谷田以誠、上野 隆、木南英紀、花田賢太郎：ユビキ

チンはAtg12モディファイアーをユビキチン化する、BMB2007(日本生化学会・分子生物学会合同年会)、2007.12.11-15、横浜、平成１９年１２月１１−１５日

11)江崎淳二、松元直美、竹田-江崎光江、小松雅明、高橋勝幸、平岡由佳、岩田淳一、藤村努、竹鼻健司、谷田以誠、上野隆、田中啓二、木南英紀:飢餓による動物のオートファジー形成、第３０回日本分子生物学会年会・第８０回日本生化学会大会合同大会、2007.12.11-15、横浜

12) 宮崎 敬子、木村尚子、井澤峯子、Lim, K-T、 安川然太、大森勝之、三ツ木元章、山地俊之、橋本康弘、鈴木明身、神奈木玲児： Siglec ligands on epithelial cells: possible regulators of resident macrophage functions during colonic carcinogenesis、 第66回日本癌学会学術総会, 2007.9.4、横浜

13) 伊藤信仁、土田明子、徳田典代、矢木宏和、加藤晃一、三ツ木元章、山地俊之、橋本康弘、Paul Crocker、古川鋼一：Binding analysis of siglec-7 prepared from various animal cell lines、第３０回日本分子生物学会年会･第８０回日本生化学会大会合同大会､2007.12.11-15、横浜

14) 中村成夫, 笠原優子, 深澤征義, 森裕美子, 高橋恭子, 下遠野久美子, 増野匡彦：抗HCV活性を有する新規フラーレン誘導体、第26回メディシナルケミストリーシンポジウム、2007.11.28、相模原

15) 小林翔､松田大介､深澤征義､西島正弘､花田賢太郎､司書毅､供田洋:ACC1 阻害剤による脂肪滴蓄積阻害活性、日本薬学会第１２８年会、2008.3.28、横浜

16) 前濱朝彦: アミノ酸センシングに関わる分子群、味の素医薬研究所招待講演、2007.5.17、川崎

17) 前濱朝彦: アミノ酸応答の分子機構解析、第６回生命科学研究会、2007.7.6−7、千葉

18) 森林敦子、田中康仁、片桐千仞、花田賢太郎、小林睦生、冬季に活動するオクロバエの脂質について、第49回日本脂質生化学会、2007.6.5-6、札幌

19) 花田賢太郎：細胞内セラミド輸送の制御機構、第49回日本脂質生化学会、2007.6.5-6、札幌

20) 吉村征浩、花田賢太郎、伊東信、ゼブラフィッシュ初期発生におけるセラミド選別輸送装置(CERT)の機能解析、第49回日本脂質生化学会、2007.6.5-6、札幌

21)Kentaro Hanada : Regulation of intracellular trafficking of ceramide by phosphorylayion of CERT、第３０回日本分子生物学会年会･第８０回日本生化学会大会合同大会、2007.12.11-15、横浜

22)Keigo Kumagai, Miyuki Kawano, Fumiko Ouchi, Masahiro Nishijima, and Kentaro Hanada: Inter-organelle trafficking of ceramide is regulated by phosphorylation-dependent co-operativity between the PH and START domains of CERT、第３０回日本分子生物学会年会・第８０回日本生化学会大会合同大会、2007.12.11-15、横浜

23)工藤紀雄、熊谷圭悟、富重斉生、山地俊之、若槻壮市、西島正弘、花田賢太郎、加藤龍一：セラミド選別輸送タンパク質CERT STARTドメインの結晶構造による脂質認識機構の解析、第３０回日本分子生物学会年会・第８０回日本生化学会大会・合同大会、2007.12.11-15、横浜

24)佐野修、小林綾、長尾耕治郎、熊谷圭悟、花田賢太郎、松尾道憲、植田和光：ABCG1を介したコレステロール排出に対するスフィンゴミエリンの影響､第３０回日本分子生物学会年会・第８０回日本生化学会大会・合同大会、2007.12.11-15、横浜

25)長尾耕治郎、高橋圭、花田賢太郎、木岡紀幸、松尾道憲、植田和光：ABCA1によるコレステロール排出へのスフィンゴミエリンの影響の解析､第３０回日本分子生物学会年会･第８０回日本生化学会大会･合同大会､2007.12.11-15、横浜

１１.昆 虫 医 科 学 部

部 長　小 林　睦 生

概　要

平成１９年、当該部の研究は、定員 8 名（部長を含む）以外に、客員研究員 9 名、協力研究員 5 名、流動研究員 2 名、研究生 1 名、実習生 1 名、臨時職員 2 名の協力で推進された。

研究内容としては、衛生昆虫の媒介生態および分類に関しての研究が第１室と第２室を中心に行われており、生理・生化学・遺伝学的研究に関しては、第２室および第３室で行われている。衛生昆虫、特に媒介昆虫から世界的な感染症の流行状況を概観すると、マラリアは依然としてサハラ砂漠以南で猛威をふるっており、毎年 100 万人近くの乳幼児が熱帯熱マラリアによって死亡している。一方、デング熱は毎年のように中南米、東南アジア、南太平洋諸国、インド等で大きな流行が起こっており、重症型のデング出血熱またはデングショック症候群で死亡する患者も東南アジア、中米で多数報告されている。1999 年に米国で初めて確認されたウエストナイル熱ウイルス(WNV)は、完全に北米に定着しており、現在までに 3 万人以上が感染し、1 千人ほどが死亡している。ここ数年においても、3～4 千人の患者が発生しており、後遺症の問題など社会的な影響も大きい。このウイルス感染症は多数の媒介蚊が伝播に関係しており、また、300 種以上の野鳥の体内でウイルスの増殖がおこることが知られており、デング熱などのウイルス感染症と媒介生態が異なっている。一方、2005～2006 年にかけてインド洋島嶼国、インド、スリランカなどでチクングニア熱の大きな流行が起こり、全体で 170 万人以上が感染し、死亡者も報告されている。アフリカ大陸で流行していたウイルスが変異を起こし、より病原性や媒介蚊体内での増殖率が高まったと言われており、今後の流行状況を注視する必要性がある。地球規模での温暖化が、氷河の融解、海水面の上昇、局地的な干ばつや豪雨などの異常気象に既に影響が出始めている。一方、温暖化が感染症の流行や媒介動物の分布域の拡大に影響すると危惧されているが、詳細な解析が行われておらず、直接的な関係が証明されていない。このような媒介昆虫を取り巻く状況において、我が国の媒介蚊の調査、対策等の基本的な問題、また媒介昆虫に関する生態、生理・生化学的な研究は充分に行われておらず、取り組むべき課題も多い。

以下に関連研究の課題をまとめた。

１．生態学的調査研究

１）都市部の公園におけるコガタアカイエカの集団飛来

２）野外における吸血蚊の採集と潜伏場所の生態的調査

３）渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊の発生状況調査

４）都市環境におけるアカイエカの飛翔距離

５）蚊の捕集に関する景観生態学的考察

６）本邦産ハマダラカ類の種類相と発生状況

７）都市部における疾病媒介蚊の発生消長と発生密度の評価

８）鳥マラリア研究における吸血蚊分析法の検討

９）無弁翅ハエ類の分類・生態的研究

10）東北地方におけるヒトスジシマカの分布域拡大

11）ヒトスジシマカの生息密度調査方法の標準化

12）コガタアカイエカの捕集数の地域差に関する景観生態学的解析

13）IPCC に関わる温暖化リスク評価作業における感染症リスクの推定

14）セアカゴケグモの発生状況調査

15）衛星画像判読による動物媒介性疾患の監視体制整備

16）西宮市の蚊の調査のモデル研究

２．生理・生化学・遺伝学的研究

１）本邦産ヤブカ属蚊類から分離された新規フラビウイルスの遺伝子構造解析

２）平成 18・19 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

３）渡り鳥飛来地で捕集された蚊類からのウイルス検出

４）鶏に対する H5N1 亜型インフルエンザウイルス保有オオクロバエの経口摂食による感染の可能性

５）ＷＮＶ媒介蚊であるアカイエカ種群の越冬生理

６）オオクロヤブカのネズミマラリアに対する生体防御と感染機構

７）ブラジルサシガメ唾液腺由来カリクレインーキニン系阻害活性物質の同定および性状解析

８）ハマダラカ唾液腺の新規カリクレインーキニン系阻害蛋白質の同定と性状解析

９）オリセットネットのオオクロバエ防除に関する有効

性
10）アカイエカのピレスロイド剤接触忌避性
11）アカイエカ種群蚊における *kdr* 突然変異の分子検出法の確立
12）アタマジラミの駆除剤抵抗性の全国調査
13）QProbe 法を用いたアタマジラミの駆除剤抵抗性の分子診断法の確立
14）ピレスロイド抵抗性ネッタイイエカで過剰発現するシトクロム P450 モノオキシゲナーゼ遺伝子の転写調節に係る突然変異の遺伝学的解析
15）イエカ属蚊における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
16）我が国の都市部の屋内捕集蚊、特にアカイエカ種群蚊の亜種分類

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) 東京都の公園におけるコガタアカイエカの集団飛来

東京都立林試の森公園で 2007 年 9 月末から 12 月に多数のコガタアカイエカ成虫が捕獲された。sweeping による捕獲総数は雌 14,000、雄 2,800 におよんだ。この公園は品川区と目黒区の境にある面積 12ha の公園で周囲 15㎞ 以内には幼虫の発生源は全くない。９月末と 10 月初めに実施した夜間の人囮採集では全く採集されなかった。10、11 月のサンプル 936 個体の翅長には採集時期によって有意な違いがみられ、経産雌率は 4.4%であった。140 個体の卵母細胞の発育段階を調べた結果、86.4%は生殖休眠の状態であった。これらの観察結果から、林試の森公園で採集された個体のほとんどは越冬世代であると考えられた。[津田良夫、金　京純]

(2) 野外における吸血蚊の採集と潜伏場所に関する生態的調査

休息蚊や吸血蚊を採集するために布製赤色トラップ、パイプトラップを試作し、野外における採集を試みた。また、口径 36㎝ の捕虫網を用いて、日の出から 1 時間林床の植物上より蚊を採集した。今回作成した 2 種類のトラップでは休息蚊を効率よく捕獲できなかった。捕虫網による採集では 1 時間あたり平均 7.8 雌と捕獲個体数は少ないが、頻繁に採集することで数百個体の吸血蚊を得ることができた。また、ハマダラナガスネカ、トラフカクイカ、ヤマトクシヒゲカなど、ドライアイストラップや人囮採集ではほとんど捕獲されない種類が捕獲された。[津田良夫、金　京純]

(3) 渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊の発生状況調査

渡り鳥飛来地として、青森県十三湖周辺、新潟県の佐潟水鳥・湿地センター、東京港野鳥公園の 3 調査地を選び、疾病媒介蚊の発生状況を調査した。3 地域全体で 10 属 17 種 5,338 個体の蚊成虫が採集された。これらの蚊からのウエストナイルウイルスの検出を行った結果、すべて陰性であった。アカイエカ群は 3 調査地のいずれでも捕獲数の最も多い優占種であった。次に個体数が多く 2 調査地で優占種であったのは、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカ、イナトミシオカの 3 種類であった。

[津田良夫、金　京純、伊澤晴彦、星野啓太、佐々木年則、澤邉京子、二瓶直子、斎藤一三]

(4) 都市環境におけるアカイエカの飛翔距離

野外の発生源より採集したアカイエカ幼虫を飼育し、羽化成虫を用いた記号放逐実験を行った。約 10,000 の雌を放逐し 4 日間の再捕獲を行った結果、合計 121 雌（約 1%）が捕獲された。放逐場所から捕獲場所までの距離と再捕獲個体数の関係を分析し、アカイエカの最大飛翔距離を推定したところ 1,217mであった。また、一日当たり平均移動距離は 0.287～0.517㎞ であった。これらの結果から、成虫の移入効果を考慮してアカイエカの発生源対策を行うためには、対象地域の周囲に 1.2ｋｍの幅で付加的な対策地帯を設ける必要があることがわかった。[津田良夫、駒形　修、葛西真治、林　利彦、二瓶直子、斎藤一三、小林睦生]

(5) トラップの設置場所による蚊捕獲数の違いに関する景観生態学的分析と考察

南大東島と新潟県の佐潟で実施した媒介蚊調査結果をもとに、トラップによって捕獲される蚊の個体数が周囲のどのような要因で決定されるのかを分析した。トラップ設置場所周辺の地域を５つの景観要素に分類し、加えてトラップを設置した並木の方角、設置場所と林の位置関係などを説明要因として重回帰分析を行った。ネッタイイエカではトラップを設置した並木の方角が重要な要因であることが示された。ヌマカやイナトミシオカ、アカイエカ群は発生源の広さに関係する要因が有意であった。ヒトスジシマカは農耕地の構成比率が有意な要因であった。

[津田良夫、金　京純]

(6) 本邦産ハマダラカ類の種類相と発生状況の現地調査

我が国産の熱帯熱マラリア媒介蚊と三日熱マラリア媒介蚊の発生状況を現地調査によって調べた。前者は石垣島に生息するコガタハマダラカ、後者は新潟県の佐潟水鳥・湿地センターで発生するシナハマダラカを対象に調査した。コガタハマダラカの人に対する半夜あたりの飛来密度は 2.3 雌で、平年並みの密度であった。佐潟におけるシナハマダラカは 7 月まで発生がみられず 8 月から 9 月にかけて密度のわずかな上昇が観察された。新潟県の佐潟および福島潟より得られたハマダラカのサンプルを分子分類学的手法によって検討したところ、すべてシナハマダラカと同定された。

[津田良夫、金　京純、澤邉京子]

(7) 国立感染症研究所構内で調査した疾病媒介蚊の過去 5 年間の発生消長と発生密度を評価するための基準値

国立感染症研究所構内で 2003 年より継続調査している疾病媒介蚊の捕獲個体数データ（過去 5 年間）を分析し、ある年の発生密度の多寡を評価する基準値を求めた。これによって、蚊の発生量が平年に比較してどの程度であるかを量的に評価することが可能になった。アカイエカ群では、ピーク時（27 週目頃）の捕獲個体数が 50-80 個体/トラップ/日が平均的な密度であると考えられる。ヒトスジシマカは 31 週目ごろに、60-100 個体/トラップ/日である場合、平年並みの発生密度であると考えられる。

[津田良夫、林　利彦、倉橋　弘、主藤千枝子]

(8)野鳥群集における鶏および鳥マラリア研究のための吸血蚊分析法の検討

実験的に鶏および鳥マラリア原虫に感染させた吸血蚊を作製し、野鳥群集で保持されている鳥マラリアの感染環を調べるための吸血蚊の分析法を検討した。実験感染させた個体の胸部と腹部を切り離し、それぞれから鶏および鳥マラリア原虫の検出を行った。また吸血蚊の体内に残った未消化血液から DNA を抽出し吸血源動物の同定が吸血後どの程度まで可能か検討した。その結果未消化血が視覚的に確認できる期間（27℃で 3 日程度）は分析が可能であることがわかった。原虫の検出に関しては、感染吸血後産卵し次の吸血に来るときには腹部のみから、また感染吸血後 10 日以上経過すると、腹部と胸部の両方から原虫が検出された。

[金　京純、津田良夫、佐々木年則]

(9) 無弁翅ハエ類の分類・生態学的研究

東洋区産フンコバエ科の牛糞から発生する *Chaetopodella* 属について調べ、4 新種を記載し、検索表を付した。この属は従来東洋区から未発見であった。また東洋区未記録の *Coproica rohaceki* を台湾から記録し、台湾産 *Coproica* 属の検索表を付した。ボルネオ・キナバル山の高地に産する *Paralimosina* 属の翅の退化した特異な 1 新種、中国産 *Ischiolepta* 属の 1 新種、*Poecilosomella* 属の 2 新種を記載した。

[林　利彦; Laszlo Papp（ハンガリー自然史博物館）; Hui Dong, Ding Yang (中国農業大学)]

(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･チクングニア熱などが新興・再興の感染症として、世界の各地から報告されている。その重要な媒介蚊であるヒトスジシマカについて、東北地方における生息域の拡大の状況とその要因を継続的に調査している。本年度は、太平洋沿岸地域は久慈から釜石まで、中央部の盆地群では盛岡市から北上市まで、日本海沿岸地域は、青森県の鰺ヶ沢町・弘前市・五所川原市で、幼虫調査を行った。その結果青森県では未だに生息を確認できなかったことから、岩手県や秋田県における北限地域での定着過程の定量的調査法を検討している。

[小林睦生、二瓶直子、駒形　修、斎藤一三]

(11) ヒトスジシマカ成虫生息密度調査方法の標準化

デング熱の浸淫地では家屋敷地内の幼虫発生源容器の数からブリトウ指数などを用いて、媒介蚊の生息密度を表現し、流行予測を行って監視体制を構築している。日本では媒介蚊となりうるヒトスジシマカの幼虫調査を個人住宅内では実施できず、またドライアイストラップなどで安定して成虫を捕獲することは困難であることから、昼間吸血飛来する成虫を捕虫網で捕獲し、その捕獲数から生息密度を推定する方法を検討した。同時に調査地の環境把握の手法を検討し、広域レベルの監視体制の確立を目指している。

[小林睦生、二瓶直子；吉田政弘（いきもの研究社）]

(12) コガタアカイエカの捕集数の地域差に関する景観生態学的解析

日本脳炎流行予測調査の一環として、富山県はじめ各地の豚舎や牛舎などでライトトラップによりコガタアカイエカを採集し日本脳炎ウイルスの検出を行ってきた。しかし豚・牛舎以外の周辺で吸血のために飛来する蚊の動態は分かっていない。環境変化に伴う日本列島におけ

る日本脳炎の疫学的解析のため、定点周辺の人家をはじめ、いろいろな土地利用においてCDCドライアイストラップを用いて、コガタアカイエカの採集を試み、比較的狭い地域におけるコガタアカイエカの採集数の空間的時間的差異を検討することができた。
[米島万有子、中谷友樹（立命館大）；渡辺　護、二瓶直子、小林睦生]

(13) IPCC に関わる全球的温暖化リスク評価作業における感染症リスクの推定

IPCC に関連する日本における感染症の温暖化によるリスクを評価するために、K1モデルを用いて、2030年、2100年の日本全域における1kmメッシュの年平均気温分布図を作成した。発育ゼロ点付近の11℃を閾値とし、現状とのリスクの比較を面積的に検討した。調査地域を日本周辺国についても拡大し、また気温以外の要因として自然･人文・社会的要因を検討している。
[小林睦生、駒形　修、二瓶直子；倉根一郎、高崎智彦（ウイルス第一部）]

(14) セアカゴケグモ動態調査

1996 年に大阪湾周辺地域で発見された輸入毒グモのセアカゴケグモは、分布地域拡大、生息密度の増加、住宅地内への侵入が多くの市町村で確認されているにもかかわらず、十分な調査と駆除が実施されていない。そこで住民にセアカゴケグモの分布・生態・駆除方法を組織的に周知し、監視している西宮市においてその分布や拡散状況の実態を、地理情報システムを用いて明らかにして、監視方法を検討している。
[二瓶直子、小林睦生、駒形　修；吉田政弘（いきもの研究社）；水谷正時（西宮市環境衛生課）；金田弘幸（パスコ中部事業部）]

(15) 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

2007年に打ち上げられた国産陸域観測技術衛星（ALOS 通称だいち）の利用に関する宇宙航空開発機構と国立感染症研究所の共同研究の契約に基づいて、画像データの利用が可能となったことから、都市部における蚊の生息調査、輸入されたセアカゴケグモの拡散地域の発見、日本・中国などにおける日本住血吸虫症の監視対策、マラリアのリスクエリアの推定など、ALOS 画像の疫学分野への応用を検討している。2009年衛星のデータ収集が終るまでの良質なデータを利用して、さらに日本へ侵入が予測される感染症あるいは現在の浸淫地の、迅速かつ広域で正確な環境解析や監視体制の構築に利用している。
[二瓶直子、駒形　修、小林睦生；斉藤康秀（麻布大・獣医・寄生虫）；太田伸生（東京医歯大・寄生虫）；望月貫一郎(パスコ・研究開発センター)]

(16) 西宮市における蚊の調査のモデル研究

都市部に蚊媒介性感染症が新興・再興した際の効果的な蚊防除法を確立し、その費用を概算するために、全市を対象として、土地用途別に雨水枡調査を行った。蚊の幼虫調査については、全市の蚊の生息状況を数値的に推定した。また特定の調査地域で薬剤による防除対策を実施し、防除費用を試算した。一方実際の雨水枡の位置、有水状況、蚊相などの結果を地理情報システムGISでまとめ、蚊相の特徴を各種の地理情報と重ね合わせて、各種地理情報から全市のより詳細な蚊相を推定し、防除方法の開発が可能か検討している。
[小林睦生、二瓶直子、駒形　修、津田良夫；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・研究開発センター）]

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) 本邦産ヤブカ属蚊類から発見された新規フラビウイルスの遺伝子構造解析

本邦野外捕集蚊からフラビウイルスの検出および分離を実施した結果、ヒトスジシマカをはじめとするヤブカ属蚊類から新規フラビウイルスを見出し、*Aedes* flavivirus (AEFV) と命名した。AEFVは、本邦産イエカ属蚊類から分離された *Culex* flavivirus (CXFV)を含む昆虫フラビウイルスのグループに属することが予想された。千葉県成田市産ヒトスジシマカから分離されたAEFVの1株についてゲノムの全ヌクレオチド配列決定を試みた結果、AEFV はCXFV と系統学的に明確に区別され、今までにヤブカ属蚊類から分離されている昆虫フラビウイルスに近縁の新規フラビウイルスであることが明らかとなった。
［星野啓太、伊澤晴彦、佐々木年則、津田良夫、小林睦生、澤邉京子］

(2) 平成18･19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で捕集し、JEVの分離と検出を行った。18年度の蚊の捕集は、秋田県・富山県・長崎県・高知県の養豚場を含む畜舎とその周辺で実施し、19年度は、4月から

10 月にかけて九州地区（長崎県，熊本県，鹿児島県）の養豚場および畜舎周辺、臨海の渡り鳥飛来地（新潟県佐潟，東京港野鳥公園）、および東京都市部の公園（林試の森公園）で実施した。ウイルス分離の結果、ブタの JEV 抗体陽性率の高い地域からは高率に JEV が分離・検出され、また、新潟県佐潟で 9 月に捕集されたコガタアカイエカからも JEV が分離された。得られたウイルス分離株の遺伝子解析結果から、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明らかになった。

［伊澤晴彦、中口　梓、星野啓太、佐々木年則、金　京純、津田良夫、斎藤一三、小林睦生、澤邉京子；梁瀬　徹、今田忠男（動物衛生研究所九州支所）；奥薗義美、山崎嘉都夫、内村江利子（鹿児島県南薩家畜保健衛生所）；松村正哉（九州沖縄農業研究センター）；井上真吾、森田公一、比嘉由紀子、川田　均、大橋和典、前川芳秀、高木正洋（長崎大）；千屋誠造（高知衛研）；渡辺　護（富山衛研）］

(3)渡り鳥飛来地周辺部で捕集された蚊類からのウイルス検出

青森県十三湖周辺で捕集された蚊 314 個体(22 プール)、新潟県佐潟湿地（1,658 個体、106 プール）および東京港野鳥公園(1,182 個体、89 プール)で捕集された蚊プールからウエストナイルおよび日本脳炎ウイルス(WNV および JEV)の分離と検出を試みた。その結果、WNV はいずれの捕集蚊からも分離されなかったが、JEV においては、9 月 19 日佐潟湿地で捕集されたコガタアカイエカから Genotype Ⅰ型が分離された。

［伊澤晴彦、星野啓太、佐々木年則、津田良夫、金　京純、葛西真治、小林睦生、澤邉京子；片野理恵（麻布大）］

(4) H5N1 亜型インフルエンザウイルスを保有するオオクロバエを摂食したニワトリに対する経口感染の可能性について

インフルエンザウイルスを保有したオオクロバエを摂食したニワトリが、インフルエンザに経口感染する可能性を検討するために、H5N1 亜型インフルエンザウイルス強毒株を摂食させウイルス保有オオクロバエを作成した。オオクロバエ体内での本ウイルスの生存は、弱毒株を用いた同様の実験（平成 17 年度実施）とほぼ同じ値が得られ、つまり、摂食後 48 時間までウイルス力価が維持され、ウイルスが分離されることが示唆された。また、オオクロバエ31頭を約6週齢のニワトリが入ったケージに放したところ、開始後 7 分ですべてのハエが捕食されたことから、ニワトリは目前に止まったハエ類を好んで食べることも確認された。

［澤邉京子、星野啓太、伊澤晴彦、佐々木年則、二瓶直子、小林睦生；伊藤啓史、伊藤壽啓（鳥取大）；斉藤康秀（麻布大）；棚林　清、堀田明豊、山田章雄（獣医科学部）］

2. 生理学的基礎研究

(1) ウエストナイルウイルス媒介蚊であるアカイエカ種群の越冬に関する生理学的研究

フラビウイルス（ウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルス、イエカ属蚊に感染している昆虫フラビウイルスなど）の伝播様式を考える上で、それらウイルスの主要な宿主となるアカイエカ種群蚊の越冬生理を解明することは重要である。そこで、越冬個体と周年調査で得られたアカイエカの脂質含量および脂肪酸組成を調べた結果、アカイエカは冬季の低温・短日の環境変化に向かいパルミトオレイン酸含量を増加させることが判明した。また、いずれの温度・日長条件下においてもアカイエカはチカイエカよりも長命であったが、この寿命の違いもパルミトオレイン酸量に起因することが推察された。アカイエカは低温下でも、凍結し難い脂肪酸であるパルミトオレイン酸を増加させることができ、この脂肪酸合成系が働くことによって低温下での生存が可能になると考えられる。

［澤邉京子、森林敦子、津田良夫、葛西真治、伊澤晴彦、林　利彦、金　京純、小林睦生］

(2) オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* のネズミマラリア *Plasmodium berghei* に対するメラニン化作用およびマラリア原虫の感染機構

オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* は、室内実験においてネズミマラリア *Plasmodium berghei* を媒介できないと考えられていたが、蚊体内でマラリア原虫の発育・増殖が確認され、今後の感染実験に使えると考えられた。さらに、中腸において *Plasmodium berghei* に対するメラニン化作用が認められメラニン化機構の解析にも使えると考えられた。

［佐々木年則；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カリクレイン－キニン系阻害活性物質の同定および性状解析

カリクレイン-キニン系は内因系血液凝固の開始に関与し、発痛物質ブラジキニンの産生に関わる重要な生体反応である。シャガス病を媒介するブラジルサシガメ *Triatoma infestans* 唾液腺を調べたところ、カリクレイ

ン-キニン系活性化を阻害する生理活性物質が２種同定された。これらの生理活性物質は、唾液中に豊富に含まれるリポカリンファミリーに属する新規蛋白質であった。これら分子の阻害作用機構を調べた結果、血液凝固第XII/XIIa 因子および高分子キニノゲン上の異物結合部位に特異的に結合することにより、カリクレイン-キニン系活性化を強く阻害することが判明した。

［伊澤晴彦；神宮司成弘、織戸由貴、森田明広、鎮西康雄、油田正夫（三重大）；岩永史朗（鳥取大)］

(4)ハマダラカ唾液腺の新規カリクレインーキニン系阻害蛋白質の同定と性状解析

マラリア媒介蚊の一種であるステフェンスハマダラカ *Anopheles stephensi* 唾液腺には、カリクレイン-キニン系活性化を阻害する生理活性物質 hamadarin が含まれることが知られている。この生理活性物質は D7 ファミリーに属する分泌型蛋白質であり、吸血時に宿主体内に注入されることで内因系血液凝固を阻害し、発痛物質ブラジキニンの産生を抑制する。今回、これとは別のカリクレイン-キニン系阻害蛋白質が新たに同定された。この蛋白質は構造的には D7 ファミリーとは全く異なる分子であったが、血液凝固第 XII/XIIa 因子および高分子キニノゲンとの特異的結合能を示すなど hamadarin と同様の阻害機構を持つことが判明した。

［伊澤晴彦；織戸由貴、神宮司成弘、森田明広、鎮西康雄、油田正夫（三重大）；岩永史朗（鳥取大)］

3. 殺虫剤の有効性と抵抗性機構に関する研究

(1) オリセットネットのオオクロバエ防除に関する有効性

鳥インフルエンザとの関連が指摘されているオオクロバエの鶏舎への侵入防止資材として評価を行うことを想定し、室内試験において殺虫効力を評価した。オオクロバエ出水コロニーを継代したものを供試した。殺虫剤含有網は蚊用のオリセットネット（住化ライフテク）を使用した。全ての面をオリセットネットで囲ったケージ内にオオクロバエを放ちノックダウンまでの時間を計測したところ、雌の *KT*50 値は 325 秒であった。また 30 秒ネットに接触することで、24 時間後に半数の雌が死亡に至ることがわかった。

［駒形　修、葛西真治、冨田隆史］

(2) アカイエカのピレスロイド剤接触忌避性

ナトリウムチャネルの感受性低下によって生じる抵抗性、いわゆる *kdr* 型抵抗性の蚊に対して、ピレスロイド剤が忌避効果を発揮するか否かを調べるために、ピレスロイド剤が練り込まれた樹脂の繊維で作られたオリセットネットを用いて接触忌避試験を行った。実験材料として、ナトリウムチャネル上に L1035F, L1035S, V1037G の変異をそれぞれもつ 3 系統のアカイエカ種群蚊成虫を用いた。その結果、オリセットネットは *kdr* 型アカイエカ種群に対して顕著な殺虫効果を示さなかったものの、高い吸血抑止効果を示した。*kdr* 単独の抵抗性に対しては、ピレスロイドは十分忌避効果があるものと考察された。

[葛西真治、駒形　修、冨田隆史]

(3) アカイエカ種群蚊における *kdr* 突然変異の分子検出法の確立

kdr 突然変異はピレスロイド抵抗性の主因である。これまでアカイエカ種群蚊について、ダイレクトシーケンス法や SNaPShot 法により *kdr* 突然変異を検出してきた。しかし、これらの方法は、煩雑な前処理と DNA シーケンサ等の設備を必要とし、試験費用も高価であった。そこで、近年、病原体等の検査で急速に普及しているリアルタイム PCR マシンを用いて *kdr* 突然変異を検出する方法を確立した。検出には QProbe を用いた融解曲線を利用する。その結果、*kdr* 突然変異の遺伝子型を検出し、また想定外の遺伝子も判別がつくようにした。

［駒形　修、葛西真治、冨田隆史］

(4) アタマジラミの駆除剤抵抗性の全国調査

近年のアタマジラミ症流行の原因として国内唯一の駆除薬スミスリンに対する抵抗性の発達が疑われたため、駆除剤抵抗性遺伝子の保有頻度を調査した。調査は，4 つのアミノ酸置換をもたらす DNA の塩基多型を検出するために、SNaPshot 法を用いた遺伝子診断法によって行った。全国の皮膚科医や保健所を通じて集められた 211 コロニー、493 個体について調査した結果、6 都道府県で採集された 5.2%のコロニーが抵抗性遺伝子を保有していた。今後、駆除薬による淘汰が進めば、抵抗性の頻度がより高まり、問題が深刻化することが懸念された。

[葛西真治；石井則久（生体防御部）；夏秋　優（兵庫医科大学）；福富裕之（昭和メディカルサイエンス）；駒形修、小林睦生、冨田隆史]

(5) QProbe 法を用いたアタマジラミの駆除剤抵抗性分子診断法の確立

駆除薬抵抗性アタマジラミの遺伝子検出をさらに迅速にそして安価に行うため、新たな解析法の確立に取り組

んだ。DNA がミスマッチプローブと相補鎖を形成したとき、その解離温度が数度低下することを利用して、遺伝子型の判定を試みた。プローブのデザインは、T952I と L955F という 2 つのアミノ酸置換が近接して存在する領域から行った。その結果、プローブ（Q1-PhSC）の解離温度は、両遺伝子間で 13℃を示し、実用可能なレベルにあることが確認された。この方法は従来の SNaPshot 法に比べ、解析時間も経費も数分の 1 に縮小され、今後の大規模な野外調査への応用が期待される。
[葛西真治、駒形　修、小林睦生、冨田隆史]

(6) ピレスロイド抵抗性ネッタイイエカで過剰発現するシトクロム P450 モノオキシゲナーゼ遺伝子の転写調節に係る突然変異の遺伝学的解析

ピレスロイド抵抗性 JPal-per 系統の蚊では、P450 をコードする *CYP9M10* 遺伝子が、感受性系統に対して 6 倍量存在し、終齢幼虫で約 300 倍過剰発現する。本系統の *CYP9M10* の転写レベルは、発育ステージに応じて調節されており、幼虫では齢期が進むにつれ発現が増すが、蛹と成虫ではほとんど発現していなかった。終齢幼虫で 60 倍高い転写活性をもたらす突然変異の性状を戻し交配試験で調べたところ、シス作動性で共優性であること、また、増幅遺伝子は互いに強い連鎖関係をもつことを明らかにした。
［冨田隆史，駒形　修，葛西真治］

(7) イエカ属蚊における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

神経伝達物質アセチルコリンを加水分解する AChE は有機リン系等殺虫剤の作用点である。ハエ類を除く昆虫種は o-Ace と p-Ace の 2 つの AChE 遺伝子をもつが、コガタアカイエカとアカイエカ種群蚊を含むこれらの昆虫種では、p-Ace のみから殺虫剤感受性を低下させるアミノ酸置換変異が抵抗性昆虫に同定されてきた。両イエカ種ともに、2 つの AChE 転写産物は神経索で同等量存在したが、マルピーギ管や脂肪体を含む神経細胞に乏しい器官では o-Ace にのみ相当の転写産物を認めたことから、o-Ace には神経伝達物質代謝以外の機能が予想される。
［水野　壮（筑波大）；駒形　修、葛西真治；呉承協、河野義明（筑波大）；冨田隆史］

(8) 都市部の屋内捕集蚊の亜種分類

地上部におけるチカイエカの生態を明らかにするため屋内で捕集されたアカイエカ種群蚊について、亜種ごとの季節変異を観察した。8 世帯で捕獲された 125 匹について、昨年までに確立した分子分類法により亜種を同定したが、全体の 83%がチカイエカという結果となった。また、チカイエカの屋内捕集は 5 月と 11 月に二峰性を示した。実際に屋外で捕集される蚊はチカイエカよりもアカイエカの方が圧倒的に多いことから、チカイエカが積極的に屋内に侵入しヒトから吸血している実態を表しているといえる。また、このことはチカイエカが地下水域のみならず、地上部でも活発に活動していることを意味し、ウエストナイル熱の重要なベクターとなりうることを示唆した。
[葛西真治、二瓶直子、冨田隆史、駒形　修、金　京純、澤邉京子、小林睦生、津田良夫]

調　査

1. 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）. 2007 年 8 月 26 日～9 月 25 日，Kuching.
2. 林　利彦. ハエ類の分類・生態学的研究およびその媒介する疾病疫学.（科学研究費補助金），2007 年 11 月 4 日～18 日，インドネシア.
3. 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. 2007 年 9 月 18 日～22 日，ベトナム.

レファレンス業務

Ⅰ. 衛生動物同定検査報告

平成 19 年 4 月から平成 20 年 3 月までの間、14 件 86 個体の昆虫・ダニ等の同定依頼を受けた。多くの個体は双翅目昆虫（ハエ・カ・チョウバエ等）であった。ヒトへの被害例では、イエダニによる被害が 1 例、マダニ類による咬着が 3 例、トコジラミによる被害が 1 例、ネコノミによる被害が 1 例であった。海外からの輸入例ではブラジルから *Amblyoma* 属幼ダニの多数寄生例があった。依頼者は医療機関、特に皮膚科医師からが約半数で、その他は研究者を含む個人からであった。
[林　利彦、津田良夫、倉橋　弘、栗原　毅]

研修業務

(1) 小林睦生. アルボウイルス媒介蚊の生態. 衛生微生物技術協議会第 28 回研究会，2007 年 7 月 5-6 日，岡山市.
(2) 津田良夫. 蚊の分類実習. 日本環境衛生センター平成 19 年度疾病媒介蚊防除対策実技講習会，2007 年 8

月 2 日，川崎市.

（3）小林睦生. 地球温暖化に伴う社会的影響－節足動物媒介性感染症から考える－. 第 51 回全国環境衛生大会, 2007 年 10 月 17-18 日，札幌市.

（4）小林睦生．衛生動物に関わる最近の話題．第 43 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，2007 年 11 月 27 日，川崎市.

（5）冨田隆史．殺虫剤概論．第 43 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，2007 年 11 月 29 日，川崎市.

（6）小林睦生. わが国における塹壕熱の疫学とコロモジラミ症の現状．医師卒後臨床研修プログラム，2007 年 12 月 12 日，感染研.

（7）澤邉京子. フラビウイルス媒介蚊に関する最近の知見. 医師卒後臨床研修プログラム ,2007 年 12 月 12 日，感染研.

（8）小林睦生．地球温暖化と感染症・媒介昆虫．横浜市感染症対策研修会（蚊媒介感染症研修会），2008 年 1 月 31 日，横浜市.

（9）小林睦生．蚊が媒介するズーノーシスへの対応．日本獣医師会，20 年 2 月 11 日，高松市.

（10）津田良夫．フラビウイルス媒介蚊．平成 19 年度希少感染症診断技術研修会, 2008 年 2 月 19 日, 感染研.

（11）小林睦生．蚊，その他の害虫の生態と防除．平成 19 年度防除作業従事者研修山形会場，2008 年 2 月 15 日，山形市.

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1）Hayashi T. A new record of *Coproica rohaceki* Carles-Tolra (Diptera Sphaeroceridae) from Taiwan. Med. Entomol. Zool., 58: 105-106, 2007.

2）Dong H, Yang D, Hayashi T. A new species of *Ischiolepta* from China (Diptera: Sphaeroceridae). Trans. Am. Entomol. Soc., 133: 129-132, 2007.

3）Hayashi T. Papp L. Oriental species of *Chaetopodella* Duda (Diptera: Sphaeroceridae). Acta Zool. Acad. Sci. Hung., 53: 117-130, 2007.

4）Hayashi T. A new species of the genus *Paralimosina* (Diptera, Sphaeroceridae) with rudimentary wings from Mt. Kinabaru Malaysia. Jpn. J. Syst. Entomol., 13: 221-223, 2007.

5）Dong H, Yang, D, Hayashi T.: Two new species of *Poecilosomella* from China (Diptera: Sphaeroceridae). Trans. Am. Entomol. Soc., 133: 331-334. 2007.

6）Chaiwong T, Sukontason KL, Chaithong U, Olson JK, Kurahashi H, Sukontason K. Male genitalia of flesh fly *Parasarcophaga* (*Liosarcophaga*) *dux* (Diptera: Sarcophagidae) revealed by scanning electron microscopy. J. Am. Mosq. Control Assoc., 23: 80-83, 2007.

7）Sukontason K, Narongchai P, Kanchai C, Vichairat K, Sribanditmongkol P, Bhoopat T, Kurahashi H, Chockjamsai M, Piangjai S, Bunchu N, Vongvivach S, Samai W, Chaiwong T, Methanitikorn R, Negrn-Klun R, Sripakdee D, Boonsriwong W, Siriwattanarungsee S, Srimuangwong C, Hanterdisith B, Chaiwan K, Srisuwan C, Upakut S, Moopayak K, Vogtsberger RC, Olson JK. Sukontason KL. Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 to 2006. Parasitol. Res. 101: 1417-1423, 2007.

8 ） Kurahashi H, Chaiwong T. Two new species of *Protomiltogramma* from Thailand (Diptera, Sarcophagidae). Jpn. J. Syst. Entomol., 13: 173-178, 2007.

9）Kurahashi H, Leh MU. The flies from Sarawak, East Malaysia (Diptera: Muscidae, Calliphoridae, Sarcophagidae and Tachinidae). Med. Entomol. Zool., 58: 261-273, 2007.

10）Kurahashi H, Omar B. *Wilhelmina nepenthicola* Schmitz and Villeneuve newly recorded from Sarawak, East Malaysia (Diptera: Calliphoridae). Med. Entomol. Zool., 58: 325-327, 2007.

11）Bunchu N, Sukontason KL, Olson JK, Kurahashi H, Sukontason K. Behavioral responses of *Chrysomya megacephala* to natural products. Parasitol. Res., 102: 419-429, 2008.

12 ） Sukontason K, Methanitikorn R, Kurahashi H, Vogtsberger RC, Sukontason KL. External morphology of *Chrysomya pinguis* (Walker) (Diptera: Calliphoridae) revealed by scanning electron microscopy. Micron, 39: 190-197, 2008.

13）Moribayashi A, Hayashi T, Taylor D, Kurahashi H, Kobayashi M. Different responses to photoperiod in non-diapausing colonies of the flesh fly, *Boettcherisca peregrina*. Phys. Entomol., 33: 31-36, 2008.

14）Murata K, Nii R, Sasaki E, Ishikawa S, Sato Y, Sawabe K,Tsuda Y, Matsumoto R, Suda A, Ueda M. *Plasmodium* (*Bennettinia*) *juxtanucleare* infection in a captive white eared-pheasant. (*Crossoptilon crossoptilon*) at a Japanese Zoo. *J. Vet. Med. Sci.*, 70: 203–205, 2008.

15）Isawa H, Orito Y, Iwanaga S, Jingushi N, Morita A, Chinzei Y, Yuda M. Identification and characterization of a new kallikrein-kinin system inhibitor from the salivary glands

of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. Insect Biochem. Mol. Biol., 37: 466-477, 2007.

16）Isawa H, Orito Y, Jingushi N, Iwanaga S, Morita A, Chinzei Y, Yuda M. Identification and characterization of plasma kallikrein-kinin system inhibitors from salivary glands of the blood-sucking insect *Triatoma infestans*. FEBS J., 274: 4271-4286, 2007.

17）Seki N, Kasai, S, Saito N, Komagata O, Mihara M, Sasaki T, Tomita T, Sasaki T, Kobayashi M. Quantitative analysis of proliferation and excretion of *Bartonella quintana* in body lice, *Pediculus humanus* L. Am. J. Trop. Med. Hyg., 77: 562-566, 2007.

18）Ogihara K, Horigane M, Nakajima Y, Moribayashi A, Taylor D. Ecdysteroid hormone titer and its relationship to vitellogenesis in the soft tick, *Ornithodoros moubata* (Acari: Argasidae). Gen. Comp. Endocrinol., 150: 371-380, 2007.

19）Hardstone MC, Leichter C, Harrington LC, Kasai S, Tomita T, Scott JG. Cytochrome P450 monooxygenase-mediated permethrin resistance confers limited and larval specific cross-resistance in the southern house mosquito, *Culex pipiens quinquefasciatus*. Pestic. Biochem. Physiol., 89: 175-184, 2007.

20）Mizuno H, Oh S-H, Komagata O, Kasai S, Honda H, Kono Y, Tomita T. Differential tissue distribution of two acetylcholinesterase transcripts in the German cockroach, *Blattella germanica*. Appl. Entomol. Zool., 42: 643-650, 2007.

21）Kasai S, Shono T, Komagata O, Tsuda Y, Kobayashi M, Motoki M, Kashima I, Tanikawa T, Yoshida M, Tanaka I, Shinjo G, Hashimoto T, Ishikawa T, Takahashi T, Higa Y, Tomita T. Insecticide resistance in potential vector mosquitoes for West Nile virus in Japan. J. Med. Entomol., 44: 822-829, 2007.

22) Oh S-H, Kozaki T, Tomita T, Kono Y. Biochemical properties of recombinant acetylcholinesterases with amino acid substitutions in the active site. Appl. Entomol. Zool. 42: 361-373, 2007.

2．和文発表

1）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），pp．83-86，全国農村教育協会，東京，2007．

2）小林睦生．IPCC 第２作業部会報告と蚊媒介性感染症の将来予測．生活と環境，52(5)：5，2007．

3）小林睦生．災害時における感染症対策－動物由来感染症と防除．特集：地震・水害と感染症対策．ペストコントロール，(139)：4，2007．

4）小林睦生，二瓶直子．クモ．神経と環境・中毒－生物毒と神経，Clinical Neuroscience，25：924-925，2007．

5）二瓶直子，駒形　修，小林睦生，望月貫一郎，梶原徳昭，斉藤康秀，中村　哲．日本住血吸虫中間宿主貝分布密度の空間解析による日本住血吸虫症の監視体制の確立．地図，45(2)：1-10，2007．

6）小林睦生，駒形　修，二瓶直子，澤邉京子，津田良夫．デング熱，チクングニア熱媒介蚊の生態および温暖化の分布域拡大に与える影響．病原微生物検出情報，28(8)：7-9，2007．

7）栗原　毅．蚊について．生活と環境，52(8)：13-18，2007．

8）澤邉京子，小林睦生．高病原性鳥インフルエンザとクロバエとの関わり①．鶏の研究，木香書房．965：35-37，2007．

9）澤邉京子，小林睦生．高病原性鳥インフルエンザとクロバエとの関わり②．鶏の研究，木香書房．966：40-43，2007．

10）冨田隆史，小林睦生．2007．高病原性鳥インフルエンザとクロバエとの関わり③．鶏の研究，木香書房．967：36-39，2007．

11）長谷山路夫，飯塚信二，大前比呂思，津田良夫．成田国際空港に到着する国際線航空機内ならびに空港区域における蚊の採集結果．Med．Entomol．Zool．，58：191-197，2007．

12)倉橋　弘.日本未記録の *Coenosia attenuata* Stein，1903 メスグロハナレメイエバエ（新称）（双翅目：イエバエ科）．双翅目談話会誌「はなあぶ」，No．24：1,2007．

13）小林睦生．イタリアにおけるチクングニア熱の突然の流行．生活と環境,52(12)：3，2007．

14）森林敦子，田中康仁，片桐千仭，花田賢太郎，小林睦生．冬季に活動するオオクロバエの脂質について．脂質生化学研究　JCBL，49：100-102，2007．

15）津田良夫．鳥マラリア媒介蚊の生態：アカイエカ群とヒトスジシマカの比較．動物の原虫病，22:9-13，2007．

16）津田良夫．マラリア，デング熱の生態と地球温暖化－媒介蚊の生態研究を通して考える－．感染・炎症・免疫，38:52-61，2008．

17）葛西真治，冨田隆史．Question & Answer－アタマジラミは増えているのでしょうか．健，37(1)：12-14，2008．

18）冨田隆史．復活したアタマジラミ．すこやかファミリー，第 575 号：22-23，2007．

19）冨田隆史，葛西真治．アタマジラミ症．健康教室，59(5)：84-87，2008．
20）冨田隆史，葛西真治．アタマジラミのピレスロイド系駆除剤抵抗性．週刊日本医事新報，第4377号：97-98，2008．

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1）Tsuda Y, Suwonkerd W, Takagi M. Behavioral and population response of dengue vectors to environmental changes occurred in different scale. 21st Pacific Science Congress, June 13～17, 2007, Ginowan.
2）Nga PT, Loan HTK, Sawabe K et al. The circulation of new arboviruses in Vietnam. The 1st workshop for “The collaborative study on emerging and re-emerging infectious diseases in Vietnam: Enhancement of research capacity” program, September 20, 2007, Hanoi.
3）Oka K, Ohtaki N, Kasai S. A case of erythema punctatum (Higuchi). 8th Meeting of the German-Japan Society of Dermatology, November 15～17, 2007, Yokohama.
4）Nihei N, Komagata O, Mochizuki K, Kobayashi M. Epidemiological analysis of infectious diseases and the establishment of a surveillance system through remote sensing using ALOS images. The First Joint PI Symposium of ALOS Data Nodes for ALOS Science Program in Kyoto, November 19～23, 2007, Kyoto.
5）Kobayashi M. Expansion of northern distribution of *Aedes albopictus* in the Tohoku district of Japan and future prospect of the distribution by global warming. 42nd Annual Meeting of the US-Japan Parasitic Diseases Joint Panels, January 16～19, 2008, Davis.
6）Tsuda Y. A mark-release–recapture study on flight distance of *Culex pipiens pallens* at an urban area in Japan. 42nd Annual Meeting of the US-Japan Parasitic Diseases Joint Panels, January 16～19, 2008, Davis.

2．国内学会

「第 59 回日本衛生動物学会大会，2007 年 4 月 2 日～4 月 4 日，大阪市」
1) 冨田隆史．衛生害虫の殺虫剤抵抗性獲得の分子機構解明に関する研究．学会賞受賞講演．
2) 小林睦生．地球規模での温暖化が蚊媒介性感染症の疾病構造に与える影響．シンポジウム ”地球温暖化と害虫発生 ”
3) 津田良夫, 星野啓太, 伊澤晴彦, 中口　梓, 葛西真治, 片野理恵, 金　京純, 駒形　修, 冨田隆史, 佐々木年則, 林　利彦，澤邉京子，小林睦生．渡り鳥飛来地における蚊の捕集とウエストナイル熱病原体の検出結果．
4) 松井　晋, 津田良夫, 斉藤篤思, 赤谷加奈, 山内健生, 佐藤雪太，高木昌興，村田浩一．南大東島における鳥マラリア媒介蚊の季節消長．
5）津田良夫，金　京純，片野理恵，比嘉由紀子，星野啓太，葛西真治，林　利彦，澤邉京子．野外より採集された蚊の平均寿命について．
6）山内健生，片岡宣彦，鶴見みや古，尾崎清明，室井利夫, 村田浩一, 津田良夫. 南西諸島のシラミバエ相(予報)．
7）林　利彦．日本産ヌノメフンコバエ属（双翅目：フンコバエ科）について．
8）倉橋　弘，林　利彦，津田良夫．オオクロバエの生活史についての新知見．
9) 森林敦子, 田中康仁, 杉江　元, 片桐千仭, 澤邉京子, 津田良夫，倉橋　弘．冬季に活動期を迎えるオオクロバエの脂質．
10）吉田政弘，二瓶直子，駒形　修，金田弘幸，小林睦生．セアカゴケグモ分布の現状．
11）二瓶直子，吉田政弘，国田正忠，駒形　修，金田弘幸，小林睦生．大阪府におけるセアカゴケグモ生息密度と咬症例について．
12）谷川　力，春成常仁，二瓶直子，駒形　修，小林睦生．ネズミの生息予測に都市地理情報を利用する試み．
13) 小林睦生, 吉田政弘, 水谷正時, 二瓶直子, 駒形　修, 望月貫一郎. 西宮市における蚊幼虫の発生状況調査　(1)疾病媒介蚊対策の重要性に関する科学的根拠．
14）吉田政弘，水谷正時，二瓶直子，駒形　修，望月貫一郎，小林睦生．西宮市における蚊幼虫の発生状況調査(2)蚊幼虫発生源調査結果（中間報告）．
15）二瓶直子，吉田政弘，水谷正時，駒形　修，望月貫一郎，小林睦生．西宮市における蚊幼虫の発生状況調査(3)GIS による幼虫発生状況の解析と防除対策立案にむけて．
16）江下優樹，Raweewan S，高島郁夫，高崎智彦，水田英生，内田幸憲，小林睦生，倉根一郎．蚊類のアルボウイルス媒介能(11)北海道産ヤマトヤブカのウエストナイルウイルス感受性．
17）伊澤晴彦，中口　梓，星野啓太，佐々木年則，津田良夫，井上真吾，森田公一，比嘉由紀子，川田　均，高木正洋，千屋誠造，渡辺　護，斎藤一三，小林睦生，澤邉京子．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．
18）星野啓太，伊澤晴彦，津田良夫，矢野和彦，佐々木

年則，油田正夫，高崎智彦，小林睦生，澤邉京子．本邦イエカ属蚊類から分離された新規フラビウイルスの性状解析．

19）Roychoudhury S， Isawa H，Hoshino K，Sasaki T，Sawabe K，Kobayashi M．The new species of Ascogregarina from *Ochlerotatus japonicus japonicus*．

20）澤邉京子，伊澤晴彦，比嘉由紀子，葛西真治，中口梓，星野啓太，佐々木年則，津田良夫，小林睦生．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．

21）高井憲治，小熊　譲，小林睦生，栗原　毅．ハマダラカ脚白帯腿節比の近縁種間差異への寄与．

22）佐々木年則，斎藤典子，伊澤晴彦，星野啓太，澤邉京子，小林睦生．オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* におけるネズミマラリア原虫 *Plasmodium berghei* の感染．

23）駒形　修，小原秩美，葛西真治，津田良夫，小林睦生，本山直樹，冨田隆史．アカイエカ種群蚊の殺虫剤抵抗性及び亜種判別に関わる遺伝子型の個体別決定法．

24）李時雨，葛西真治，駒形　修，津田良夫，比嘉由紀子，Weerasinghe Indra，小林睦生，冨田隆史．コガタアカイエカ殺虫剤抵抗性アセチルコリンエステラーゼ遺伝子の東アジアにおける分布．

25）葛西真治，駒形　修，岡村佳香，冨田隆史．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グルタチオン転移酵素．

「平成 19 年度蚕糸・昆虫利用学術講演会，2007 年 4 月 3 日，つくば市」

26）板倉　真，冨田隆史，古崎利紀，日堂　修，河野義明，小林　淳．カイコバキュロウイルスベクター系を用いた殺虫剤抵抗性アセチルコリンエステラーゼの生産．

「第 143 回日本獣医学会学術集会，2007 年 4 月 3 日～5 日，つくば市」

27）江尻寛子，佐藤雪太，佐々木絵美，仁位亮介，津田良夫，松井　晋，高木昌興，湯川眞嘉，村田浩一．南大東島で採集された蚊における鳥マラリア原虫遺伝子の検出．

28）芳我彩佳，佐藤雪太，佐々木絵美，津田良夫，湯川眞嘉，村田浩一．国内の動物園における鳥マラリア感染サイクルについて．

29）朝比奈礼子，佐藤雪太，佐々木絵美，澤邉京子，伊澤晴彦，比嘉由紀子，津田良夫，松本令以，植田美弥，湯川眞嘉，村田浩一．動物園における鳥マラリア媒介昆虫の吸血源の検索．

30）村田浩一，佐藤雪太，津田良夫，澤邉京子，齊藤慶輔，渡邊有希子，浅川満彦，大沼　学，桑名　貴．シギ・チドリ類の血液原虫感染を指標とした節足動物媒介感染症モニタリング．

「第 42 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2007 年 5 月 18 日～19 日，白山市」

31）津田良夫，星野啓太，伊澤晴彦，澤邉京子，秋場哲哉，小林睦生．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．

32）星野啓太，伊澤晴彦，津田良夫，佐々木年則，高崎智彦，澤邉京子，小林睦生．本邦生息蚊における昆虫フラビウイルスの検出およびその性状解析．

「日本比較免疫学会第 19 回学術集会，2007 年 8 月 21 日～23 日，浜松市」

33）佐々木年則，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* のネズミマラリア *Plasmodium berghei* に対するメラニン化作用およびマラリア原虫の感染機構．

「日本衛生動物学会東日本支部大会，2007 年 10 月 20 日，東京都」

34）小林睦生，関なおみ，葛西真治，田中恵子，駒形　修，三原　實，佐々木年則，冨田隆史．塹壕熱病原体 *Bartonella quintana* のコロモジラミ体内での増殖部位について（予報）．

35）二瓶直子，斎藤一三，津田良夫，澤邉京子，小林睦生．青森県津軽半島十三湖周辺における蚊相の調査．

36）津田良夫，金　京純．野外における吸血蚊の採集と潜伏場所に関する生態学的調査．

37）葛西真治，駒形　修，冨田隆史．kdr 型抵抗性アカイエカ種群に対するピレスロイド剤の忌避効果．

38）森林敦子，倉橋　弘，林　利彦，津田良夫．ナミニクバエの休眠誘導日長と低温耐性からセンチニクバエとの分布域の比較．

39）倉橋　弘，Leh MU．マレーシア，サラワク州産ニクバエの１新種．

40）岡　恵子，大滝倫子，葛西真治．点状紅斑（樋口）の２例．

「平成 19 年度日本獣医公衆衛生学会－シンポジウム「蚊が媒介するズーノーシスへの対応」2008 年 2 月 11 日，高松市」

41）小林睦生．蚊が媒介する感染症と地球規模での温暖

化.

「長崎大学熱帯医学研究所　平成 19 年度合同研究会“リモートセンシングおよび GIS を用いた社会環境要因に帰する感染症対策への摘要研究”　2008 年 2 月 21 日～22 日，長崎」
42）二瓶直子，駒形　修，小林睦生．ALOS 画像を用いた日本住血吸虫症などの感染症の疫学的解析.

「第 7 回有害生物研究会フォーラム　2008 年 2 月 23 日」
43）葛西真治．分子生物学から見たアカイエカ種群の種の問題とチカイエカに関する最近の知見.

「日本応用動物昆虫学会第 52 回大会，20 年 3 月 26 日～28 日，宇都宮市」
44）星野啓太，廣瀬麻美，岩淵喜久男．クリストフコトラカミキリ由来細胞系の樹立.

「獣医疫学会シンポジウム「地球の温暖化と感染症の発生」　2008 年 3 月 30 日，相模原市」
45）小林睦生．地球温暖化が媒介昆虫に与える影響.

「日本農薬学会第 33 回大会，2008 年 3 月 30 日～4 月 1 日，奈良市」
46）葛西真治，　石井則久，駒形　修，小林睦生，冨田隆史，夏秋　優．ピレスロイド剤抵抗性アタマジラミの実態調査.

１２．獣 医 科 学 部

部 長　山 田　章 雄

概　要

平成１９年度は感染症法の改正に伴い病原体の規制が始まった年である。獣医科学部が取り扱っている病原体のうち、炭疽菌、野兎病菌、ペスト菌、SARS コロナウイルスは二種病原体、狂犬病ウイルス、ブルセラ菌が三種病原体とされ、厳しい法規制の元に置かれることとなった。これまでも BSL3 施設でバイオセーフティ管理室の監視下で厳密な対応がされてきており、大きな混乱はなかったが、SARS コロナウイルスについては村山での感染実験を余儀なくされており、感染動物の臓器の搬送に大きな制約が生じた。また狂犬病ウイルスのある種の弱毒株では BSL レベルが下げられたものの、三種であることに変わりないことから、管理区域の設定で若干の混乱があった。しかし、これらの状況にも拘わらず、研究は順調に進んでいると思われる。3 年間科学振興調整費の補助により行ってきた「野鳥由来ウイルスの生態解明とゲノム解析」が今年度終了したが、野生動物を指標とする動物由来感染症の監視体制の国内外における構築は、新興感染症が殆ど動物に由来することを考えれば、今後も規模を拡大し、継続する努力が国に求められていると考えられる。このほかにも厚生科学研究費補助金の援助により、動物由来感染症の診断技術の開発、サーベイランス、モニタリング等に係る研究が行われた。国内外の研究機関との連携も進められ、岐阜大学連合獣医学研究科、東京大学農学生命科学研究科の連携大学院の教官を兼務し、大学院生の指導に当たるほか、ベトナム国立衛生疫学研究所と国立感染症研究所が感染症にかかる研究協力に関する覚え書きを交わしたことを受け、同研究所と動物由来感染症での協力体制を構築する方針を固めた。その他厚生労働省、農林水産省、環境省あるいは地方自治体の審議会等の委員や学会理事等を務めることにより、社会貢献も図っている。人事面では長期に亘り勤務された神山恒夫第 1 室長が平成 19 年 3 月 31 日をもって定年退職された。後任には今岡浩一主任研究官が昇任し、同 4 月 1 日付けで就任した。

業　績

調査・研究

I. 動物由来感染症に関する研究

１．*Brucella canis* 特異的抗体検出法の開発に関する研究

不活化 *B. canis* 菌体を抗原とした試験管内凝集反応（TAT）が診断に用いられているが、これに代わる抗体検出法として、マイクロプレート凝集反応（MAT）を開発し、その有用性を示した。さらに、不活化菌体または熱水抽出物（HSE）を抗原とした ELISA および、市販の研究用迅速判定 KIT（Anigen Rapid C Brucella Ab Test Kit）を入手し検討した。その結果、MAT と TAT では、結果に良好な相関が見られ、感度は MAT の方が良かった。Test Kit は MAT と同等の感度と特異性を示した。ELISA は相関がやや劣っていたが、スクリーニングには使用可能であった。[木村昌伸、鈴木道雄、今岡浩一]

２．国内野生イノシシ・シカにおける抗 *Brucella* 抗体の保有状況に関する研究

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。国内では感染家畜の摘発・淘汰により、家畜については清浄化していると考えられる。今回、野生動物での保菌状況を調べるため、国内の野生イノシシおよび日本シカの血液サンプルを入手し、家畜ブルセラ菌に対する抗体の保有状況を MAT により検討した。検討したいずれの動物種・検体ともに抗体は検出されなかった。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、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

Capnocytophaga spp.を国内の犬が高率に保菌していることを報告してきた。今回、ネコの保有状況について調査した。約 90%が PCR 陽性であり、国内のネコも同属菌を高率に保有していることを明らかにした。また、同様にネコ咬傷・掻傷による感染の原因となる *Pasteurella multocida* の遺伝子検査も実施した結果、これも約 91%が陽性であった。

さらに、イヌ咬傷に伴って敗血症、多臓器不全を呈し

た患者から分離されたグラム陰性桿菌の検査を行い、同分離株が *C. canimorsus* であることを同定するとともに、咬んだ飼育犬の口腔内スワブでも同菌を確認した。*C. canimorsus* による敗血症例であることを明らかにした。[鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄、今岡浩一]

４．*Streptobacillus moniliformis* 検出法の確立と国内野生ラットの保菌状況の検討およびクマネズミ咬傷により鼠咬症が疑われた症例からの同定に関する研究

鼠咬症原因菌の１つである *S. moniliformis* 検出のための特異的 PCR 法を確立し、国内野生ラットの調査を行ったところ、ドブネズミで 92%、クマネズミで 58%が口腔内に保菌していた。また、得られた野生分離株と ATCC 株は、生化学性状は全ての株間において良く一致していたが、16S-rRNA 遺伝子配列は、ドブネズミ株は ATCC 株とよく一致していたものの、クマネズミ株では変異が認められた。

クマネズミに咬まれた後、発熱、発疹等の症状を呈し、鼠咬症が疑われる患者を検査する機会を得た。血液培養および患部からの菌の分離は出来なかったが、我々の開発した PCR 法により咬傷部痂皮から *S. moniliformis* 特異的遺伝子を検出し、同定した。また、患者サンプルおよび患者宅捕獲クマネズミの口腔スワブから増幅された *S. moniliformis* 特異的 16S-rRNA 遺伝子配列も一致していた。クマネズミ保有株による鼠咬症が確認された初めての報告である。[木村昌伸、鈴木道雄、今岡浩一（感染研・獣医科学部）、中込大樹、出口順啓、矢ケ崎晶子、原田和俊、柴垣直孝、島田眞路（山梨大学医学部付属病院皮膚科）、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 WNV 抗体検出法の確立に関する研究

（１）マイクロアレイによる遺伝子検出法の開発：マイクロアレイは、1 検体から同時に多数の標的遺伝子の検出ができる利点がある。WNV をはじめとする各種のフラビウイルス属ウイルスならびに鳥類のウイルス性疾患の原因ウイルス遺伝子をプローブとしたカスタムマイクロアレイを作製し、反応特異性および検出感度を検討した。その結果、WNV および JEV 遺伝子の特異的な検出が可能であったが、一部の WNV 株では特異的反応が認められなかった。今後、WNV の各ウイルス株に対応するよう検出特異性および検出感度の向上を図る必要がある。[鈴木道雄、宇田晶彦、木村昌伸、今岡浩一、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：確立した Blocking-ELISA と PRNT を用いて、鳥類における WNV および JEV に対する抗体保有状況を調査した結果、PRNT により陽性を示す物が、ろ紙による採取法を用いた一部のサンプルからのみ認められた。しかし、いずれも Blocking-ELISA や Western-Blotting により特異性の検証を行った結果、サンプルの非特異的反応の可能性が否定できなかった。さらに採取法や検出の特異性の検証が必要であると思われる。血清をサンプルとして検討した、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）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．動物由来感染症の検査・診断に関する調査研究

本調査研究では、動物由来感染症の検査・診断に対する要望や体制の現状把握を行い、具体的に対応していくために必要な問題点を提起し、診断体制の確立や情報提供といった動物由来感染症診断システムの構築に資することを目的として、実際に試験検査を行っている地方衛生研究所における検査対応に関してアンケート調査を行った。毎年患者が届け出られている疾患や患者発生が強く危惧される一部の疾患に関しては、多くの機関で検査対応可能もしくは、依頼先が確立されているようであった。しかしながら、その他の疾患に関しては、対応不可の物が多く、ほとんどすべてが依頼先として感染研を指定していた。検査方法の習得などに関する技術研修等の開催に関する要望があった。[今岡浩一]

７．狂犬病に関する研究

（１）狂犬病の診断技術向上のための解剖手技習得モデル・教材の開発に関する研究

国内に侵入した狂犬病に感染した動物を早期に察知するための診断技術向上には有効な実習用モデル・教育訓練教材等が必要不可欠であり、本研究では解剖手技習得モデル・教材の開発を自治体関係機関の現場担当者や解剖学の専門家等と行った。本年度は、医療用 MRI/CT 機器を利用して検査対象となる犬の頭部スキャン画像を取り込んで 3 次元データファイルを作成して、モデル作成の鋳型となる頭部 3D 画像を作成した。また、自治体等の狂犬病対策関係者の啓発用教材として昭和 25 年に記録された男児の狂犬病患者学術映像を DVD 化して各都道府県、政令市、特別区等の関係部局に配布を行った。[井上　智、佐藤　克（狂犬病臨床研究会）、千葉　操（ア

ペックスバイオサイエンス研究所）、織間博光（日本獣医生命科学大学)、長谷川大輔(日本獣医生命科学大学)、沼田一三（兵庫県動物愛護センター）、頓名昌宏（兵庫県健康生活部生活衛生課）、西條和芳（徳島県保健福祉部生活衛生課）、矢野さやか（徳島県徳島保健所）、高橋朱実（岩手県環境保健研究センター）、堀元栄詞（富山県衛生研究所ウイルス部）、小川知子（千葉県衛生研究所）、明石　誠（千葉県動物愛護センター）、松本尚美（鳥取県衛生環境研究所）、木山真大（鳥取県生活環境部公園自然課）、大下幸子（鳥取県西部総合事務所生活環境局）、田原研司（島根県保健環境科学研究所）、川瀬　遵（島根県健康福祉部）、安藤秀二（国立感染症研究所ウイルス一部)、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄]

（２）自治体における狂犬病の発生を想定したシミュレーションと病原体診断システムの検証に関する調査研究

徳島保健所動物由来感染症対策協議会（32 機関）が平成 19 年 12 月 13-14 日に開催した狂犬病発生時の対応マニュアルに基づくシミュレーション（机上訓練及び一部実地訓練を含む）に研究班として自治体等研究協力者とともに参加して現行の狂犬病対応マニュアルおよび検査システム等の課題について分析をおこなった。発生時対応マニュアルに記載されている自治体等関係部局間（生活衛生課、健康増進課、畜産課、報道等の参加）での連携、市民・報道への情報提供、病原体診断システムの課題が現場担当者レベルで明らかにできた。[徳島県保健所動物由来感染症対策協議会、西條和芳（徳島県保健福祉部生活衛生課)、頓名昌宏(兵庫県健康生活部生活衛生課)、矢野さやか（徳島県徳島保健所)、高橋朱実（岩手県環境保健研究センター)、堀元栄詞（富山県衛生研究所ウイルス部)、小川知子（千葉県衛生研究所)、明石　誠（千葉県動物愛護センター)、松本尚美(鳥取県衛生環境研究所)、木山真大（鳥取県生活環境部公園自然課)、大下幸子（鳥取県西部総合事務所生活環境局)、田原研司（島根県保健環境科学研究所)、川瀬　遵（島根県健康福祉部)、梅田浩史（厚生労働省結核感染症課)、野口　章、山田章雄、井上　智]

（３）狂犬病の臨床診断に必要な教材開発に関する研究

希少感染症である狂犬病の課題は、医師・獣医師が経験のない狂犬病症例をいかに鑑別診断できるかである。平成 18 年度に国立感染症研究所で病原体診断を行った 2 例の輸入狂犬病症例は、担当医による臨床鑑別での狂犬病疑いが症例の摘発につながった。本研究では、獣医師が狂犬病の疑われるイヌの臨床判断を適切におこなうために、狂犬病を発症したイヌの症例映像を解析して臨床鑑別を科学的に行えるようにすることが目的である。現在、タイの赤十字研究所狂犬病診断部（QSMI）の協力を得て狂犬病を発症したイヌの症例映像の記録と臨床家による臨床症状の分析をおこなっている。[佐藤　克（狂犬病臨床研究会）、Veera Tepsumethanon（QSMI）、 Visith Sitprija（QSMI）、井上　智]

（４）狂犬病の診断技術向上に必要な検査系の開発に関する研究

狂犬病は希少感染症であり確立した診断系による検査が頻繁に行われるわけではない。したがって、狂犬病の検査系を普及するためには頻回にしか行われない検査の技術伝達や成績判定を安全に正しくかつ容易にできることが望まれる。そこで、今回は狂犬病の抗原診断に使用される抗体の力価・感度および反応性を簡単に検証できる方法として、組換え技術により抗原診断（DFA 法、直接蛍光抗体法）の標的である狂犬病ウイルス N 蛋白を培養細胞（BHK 細胞）に発現させて、生ウイルスを使用しないで安全かつ安価に再生産できる検査抗体の反応性を検証できる抗原スライドを作成した。[加来義浩、野口章、奥谷晶子、井上　智]

（５）アジアにおける狂犬病等の動物由来感染症に関する疫学およびサーベイランスに関わる調査研究の推進

現在、フィリピンでは狂犬病の診断や疫学調査に必要な特異抗体の供給が十分でなく、発生した狂犬病の多くは臨床診断のみが行われている。このため、疫学等の科学的知見に基づいた効果的な狂犬病対策が行えない状況にある。本研究では、フィリピン国内における正確な診断システムの確立と疫学サーベイランスを可能にするためにフィリピンで流行している狂犬病ウイルスを感染させたマウスを利用して３種類のモノクローナル抗体を確立した。それぞれのモノクローナル抗体は ELISA と RFFIT 法（中和抗体アッセイ法）における抗原検出用抗体として優れた反応性が示された。［Daraia L. Manalo（RITM)、Blanca R. Jarilla(RITM)、Plebian Medina(RITM)、Catalino Demetria(RITM)、Luz P. Acosta(RITM)、野口 章、井上 智］

（６）中国の狂犬病の基盤的研究の確立と狂犬病流行の疫学的解析に関する研究

中国では広大な領土と多様な民族構成、都市部と辺境部の環境経済状況の違い等が原因となり、全国的に一律

な方策を行うことができていない。中国 CDC が構築を進めている各省での情報収集の均一化、基礎的診断技術の確立、狂犬病データの効率的集約化システムによる全土の狂犬病制御法について分析をおこなうために中国における狂犬病流行地における現状視察と我が国における病原体診断および感染源動物のモニタリングシステムの情報共有を行った。アジア諸国のなかで最も政治経済的に関係の深い中国の狂犬病の撲滅は、今後、我が国への狂犬病の侵入防御の重要な課題と考えられた。[井上　智、森本金次朗（ウイルス一部)、Qing Tang（中国 CDC）]

（７）狂犬病ウイルス（街上毒株）の培養細胞とマウスに対する病原性

平成 18 年度に我が国で発生した輸入狂犬病２症例の感染材料を用いて培養細胞と乳のみマウスに対する感染試験を行った。両症例とも、培養細胞では神経系からウイルスの分離ができたが、唾液からの分離ができなかった。マウスの脳内接種試験では神経系および唾液腺乳剤の接種後４日ないし５日に直接蛍光抗体法で脳組織のほぼ全面にウイルス抗原が認められた。街上毒株は固定毒（実験）株よりも発症までの経過が長く、さらに今回分離された街上毒株 2 株間で病態の進行速度に違いがみられた。現在、両街上毒株のマウスに対する病理発生について調べている。[野口　章、加来義浩、奥谷晶子、井上智]

（８）狂犬病ウイルスのゲノム配列を用いた分子疫学

平成 18 年度に我が国で発生した輸入狂犬病京都分離株についてプライマー・ウォーキング法を用いて、5’末端側の 90 bp および 3’末端側の約 340 bp を除く 11,490 bp を決定したところ、ゲノム配列は固定毒 CVS 株と 84%の相同性を示した。現在、フィリピンで流行している野外株（街上毒）と実験株（固定毒）間で病原性にかかわるゲノムの比較解析を行い野外株の病原性を特徴づけている遺伝子領域の特定を行っている。[関塚剛史（ゲノム解析センター)、黒田　誠（ゲノム解析センター)、野口章、井上　智]

（９）狂犬病の免疫グロブリンに関する研究

ヒトが狂犬病の疑われるイヌ等から咬傷をうけた場合には速やかに「暴露後のワクチン接種」を５回（ときに６回）行って発症予防を行うが、WHO カテゴリー分類で第 III 類以上の咬傷被害等を受けた場合には初回のワクチン接種と同時に免疫グロブリン（RIG: rabies immunoglobulin）の接種が必要となる（過去に狂犬病のワクチンを接種していないヒトの場合に限る）。我が国では、RIG の生産は行われていないためその力価等については十分な知見が蓄積されていない。そこで、RIG の冷蔵保存（4℃）での力価推移を知る目的で Aventis Behring 社から RIG を輸入して有効期限から２年経過した RIG について中和抗体価（RFFIT 法）を測定したところ、製品表示の基準値と遜色のない価が維持されていた。［野口章、井上　智、倉根一郎（ウイルス一部）］

（１０）DNA 免疫を利用した簡便で特異性の高い抗狂犬病免疫グロブリン産生モデル実験系の検討

狂犬病の発症予防で行われる暴露後ワクチン接種では、カテゴリーIII の咬傷時に抗狂犬病免疫グロブリン（RIG）の同時接種が必要であるが、ヒト由来、ウマ由来 RIG 共に高価かつ製造が容易でないことが課題とされている。本研究では、DNA 免疫を利用した RIG の産生法についてウサギを利用した実験系で検討を行った。結果、2 週間隔で 9 回の G-plasmid 接種により 200 IU/ml の中和活性をもつ免疫血清を誘導することが示された。[井上　智、ボルドバータ・バザーツレン、堀田こずえ、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄]

（１１）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

神経細胞内の 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)細胞に発現させた。Intrabody は細胞内で感染させた RV と特異的に P 蛋白と結合しており、ウイルスの増殖も非発現細胞に比べて大幅に抑制されていることが確認された。今後は、この intrabody の作用機序について解析を行う。[加来義浩、野口　章、堀田こずえ、山田章雄、井上　智]

（１２）細胞膜コレステロール枯渇剤 MBCD による狂犬病ウイルスの感染能に対する影響

細胞膜の Lipid raft やカベオラなどのマイクロドメインが狂犬病ウイルスの感染に関与するかを調べるため、コレステロール枯渇剤である Methyl-□cycrodextrin (MBCD)を処置した細胞に狂犬病ウイルスを感染させた。MBCD 処置細胞は、非処置細胞に比べて狂犬病ウイルスの細胞への吸着と感染が増加することが確認された。現在、この現象の機序について解析中である。[堀田こずえ、加来　義浩、野口　章、井上　智、山田　章雄]

８．炭疽に関する研究

（１）炭疽菌の MLVA、ペスト菌のバイオタイプ、ブルセラ菌の菌種鑑別のための迅速遺伝子検査法の開発

炭疽菌の MLVA 中 4 loci、ペスト菌の 4 種類のバイオタイプおよびブルセラ菌強毒型菌種の迅速鑑別を目的とした real time sequencing (pyrosequencing)法の検討を行った。炭疽菌の MLVA の 4 loci についてはリピート数の算出に必要な範囲の塩基配列を得ることができた。ペスト菌のバイオタイプは 2 種の遺伝子の 1 塩基多型を検出することで 4 種類のバイオタイプの分類が可能となった。ブルセラ菌は 1 塩基多型により強毒型菌種 3 菌種の鑑別が可能となった。塩基配列の解析に必要な時間は炭疽菌 MLVA の解析では約 70 分、ペスト菌およびブルセラ菌の１塩基多型の解析は約 10 分であった。[奥谷晶子、今岡浩一、山田章雄、井上　智]

（２）炭疽菌国内分離株および獣医科学部保有株のパイロシークエンシングによる遺伝子プロファイルの作成

平成 18 年度に収集した国内分離株および獣医科学部で保有していた株　合計 48 株について遺伝子プロファイルを作成するため、炭疽菌染色体上 2 loci および病原性プラスミド上の 2 loci 合わせて４ loci の Multiple-locus VNTR analysis (MLVA)の解析をパイロシークエンスによる塩基配列解読により解析した。その結果、日本国内分離株の染色体上のプロファイルは均一性を保つ一方、プラスミド遺伝子では株によりバリエーションが見られた。[奥谷晶子、井上　智]

（３）国内分離株の 8 loci MLVA 解析

国内分離株を含む所内保有炭疽菌 48 株について染色体およびプラスミド DNA 上の 8loci の MLVA のフラグメント解析を行った。国内分離炭疽菌株はほぼ同一のアレルにタイピングされた。今後、さらに 17 loci、合計 25 loci の MLVA 解析を行い、日本国内分離株の詳細な遺伝型の解析について検討したい。[関塚剛史（ゲノム解析センター）、奥谷晶子、黒田　誠（ゲノム解析センター）、井上　智]

（４）炭疽菌分離 2 株の病原性プラスミド全塩基配列の解読

由来の異なる *B. anthracis* BA103 株および BA104 株計 2 株の病原性プラスミド pXO1（181 kb）pXO2（95 kb）の全塩基配列の解読を行った。その結果、Ames Ancestor 株および BA103 株間の一塩基多型は、pXO1 で 7 カ所、pXO2 で 2 カ所存在し、塩基の欠失および挿入箇所は pXO1 で 6 カ所、pXO2 で 3 カ所存在した。Ames Ancestor 株および BA104 株間の一塩基多型は、pXO1 で 18 カ所、pXO2 で 11 カ所存在し、塩基の欠失および挿入箇所は、pXO1 で 5 カ所、pXO2 で 8 カ所存在した。国内分離株間におけるプラスミドの塩基配列の多様性が示唆された。[関塚剛史（ゲノム解析センター）、奥谷晶子、黒田　誠（ゲノム解析センター）、井上　智]

９．ヘニパウイルス感染症に関する研究

（１）ニパウイルス F, G 蛋白に対する抗血清の作製

本年度は、抗原検出用 ELISA の開発に必要な固相化用／検出用抗体（抗 NiV-F, G ウサギ抗血清）を F,G 蛋白遺伝子をコードするプラスミドを免疫原に用いて作製した。作成した血清は、不活化 NiV 抗原を用いた ELISA と開発中の中和代替法で特異性の高い抗血清であることが検証された。今後、これらの血清を用いた抗原検出 ELISA の開発を行う。

[加来義浩、野口　章、奥谷晶子、山田章雄、井上　智]

（２）ニパウイルス中和代替法の開発

ニパウイルス感染症の血清診断では、感染性ウイルスを用いた中和試験が望ましいが BSL4 施設が必要となる。今回、BSL2 で血清診断ができるように NiV-F, G 蛋白を発現した VSV pseudovirus を利用した中和代替法の開発を行った。抗原検出 ELISA 用に作製した NiV-F, G ウサギ抗血清により作出した VSV pseudoviruss の感染が血清濃度依存的に阻害され中和試験が可能であることが示された。現在、代替中和試験法と感染性ニパウイルス中和試験法の比較検証を豪州家畜衛生研究所 BSL4 施設で行うことを予定している。[加来義浩、野口　章、奥谷晶子、山田章雄、井上　智]

１０．野生動物の血清疫学調査に関する研究

獣医系大学との連携による野外疫学調査を利用した動物由来感染症のモニタリングシステムを開発する目的で、帯広畜産大学臨床獣医学研究部門予防獣医療学分野の猪熊教授研究チームと日本大学生物資源科学部獣医学科獣医公衆衛生学研究室の丸山教授研究チームと連携して疫学調査を行い、エゾジカ末梢血からの *Rickettsia helvetica*、*Anaplasma bovis* および *Ehrlichia muris* DNA の検出、野生化アライグマ末梢血における Ehrlichia と Anaplasma 感染の状況を明らかにして共同調査と論文発表を行った。[猪熊　壽（帯広畜産大学）、丸山総一（日大生物資源科学部）、牧野　敬（神奈川県）、壁谷英則（日大生物資源科学部）、藤田博巳（大原研究所）、浅野玄、野上貞雄（日大生物資源科学部）、玉本智枝（帯広畜産大学）、

清野伸隆（帯広畜産大学）、田邊茂之（帯広畜産大学）、早川大輔（帯広畜産大学）、鈴木正嗣（帯広畜産大学）、梶　光一（帯広畜産大学）、高橋裕史（帯広畜産大学）、伊吾田宏正（帯広畜産大学）、井上　智]

１１．野兎病に関する研究

（１） 国内生息ダニにおける野兎病菌保菌調査

国内のダニ類における野兎病菌（*F. tularensis*）の保菌状況を知るために捕獲ノウサギに付着していたダニ 85 プール（317 匹）およびノウサギ捕獲地域の植生上から採集したダニ 67 匹について本菌のゲノム DNA の検出を試みた。*fop*A 及び *tul*4 遺伝子領域のリアルタイム PCR ではノウサギ付着ダニの約 70%に、また植生ダニの約 60%に少量の DNA が検出された。しかし、菌分離はできなかったこと、過去に野兎病の発生がなかった地域のダニにも検出されること、また、検出率が非常に高いことなどから、今回検出された DNA 断片は *F. tularensis* あるいはダニに共生する本菌に非常に類似した菌由来の可能性が考えられ、今後、このような類似菌を確実に区別する方法を検討し精査する必要がある。

［藤田　修、堀田明豊、宇田晶彦、山本美江、棚林　清、川端寛樹（細菌一部）］

（２）各種溶液中の野兎病菌の生残性の検討

野兎病菌を各種溶液で 10^7 cfu/ml に調整後、4 ℃に保管し、経時的に生残菌数を測定した。蒸留水中では 5 日後 10^2 cfu/ml、1 ヶ月後で検出限界以下（5 cfu/ml 未満）に、水道水中では 3 ヶ月後で検出限界以下となった。生理食塩水およびミュラーヒントン培地中では 1 ヶ月後 10^6、 3 ヶ月後 10^2 cfu/ml に減少した。ウシ胎児血清中では、1 ヶ月後 10^7、3 ヶ月後に 10^5 cfu/ml に減少した。検出限界以下となった溶液について菌の Live/Dead 解析（Molecular probes 社）を行ったところ VBNC 菌と考えられる菌体は認められなかった。今後、自然環境に相当する条件での生残性についての検討が必要である。

[堀田明豊、宇田昌彦、山本美江、藤田修、棚林清]

（３）*Francisella tularensis* 感染マウスの回復例

野兎病菌日本野外株をマウス(Balb/c)へ経鼻（i.n.）または腹腔内(i.p.)に 10^0cfu 接種し、20 日観察した。斃死への経過は i.n.群が i.p.群と比較して長かった。i.n.群生残個体は臨床、剖検所見に異常はなく、抗体反応もないことから感染しなかったと考えられた。i.p.群生残個体では 12%の体重減少後に回復し、脾臓の腫脹や特異抗体の上昇が認められ、感染耐過したものと判定した。高感受性のマウスへの野外株接種で初めて回復個体例が観察でき、マウスも感染により抗 LPS 抗体を産生することが確認された。本実験感染条件は野兎病菌のマウス感染における生体反応の解析を可能にするものである。

[堀田明豊、山本美江、藤田修、宇田昌彦、棚林清]

（４）*Francisella* 属菌株のマウスに対する病原性

Francisella 属菌は実験用マウスに対して致死的感染を起こすとされているが、当研究部保有株の病原性は不明である。そこで Schu、38、LVS および U112 菌株を 10^2、10^4 または 10^6 cfu 腹腔内接種し、20 日間観察しマウスへの病原性を確認した。10^6cfu の Schu 株接種群は、体重減少、立毛が認められた後に回復したが、他菌株接種群は全期間を通じ著変がなかった。また、10^4 および 10^6cfu Schu 株接種マウスの血清は LPS に強く反応したが、他の株接種マウス血清は反応がなかった。これらより現有の 4 株は既報の菌株と比較してマウスに対する感染性が著しく低下していると考えられ、ゲノムの比較解析を実施し、本菌の病原性因子の解明を進めたい。

[堀田明豊、山本美江、藤田修、宇田昌彦、棚林清]

１２．鳥インフルエンザに関する研究

（１）鳥用インフルエンザ迅速診断キットの H5N1 亜型ウイルスとの反応性

鳥インフルエンザ迅速診断キット(Anigen Rapid AIV Ag/NDV Ag Test Kit および Anigen Rapid AIV Ag/H5 Ag Test Kit、Animal Genetics 社、韓国)を用いて強毒または弱毒株 H5N1 亜型ウイルスの検出を試みた。Rapid AIV Ag では $10^{5.8}$ または $10^{4.8}TCID_{50}$ を検出できたが検出感度の良い人用キットより 10 倍以上検出感度が低かった。H5 亜型検出部分ではさらに低感度であったが特異的に検出可能であり、十分なウイルスが含まれる検体では迅速に同定可能であると考えられた。

[山本美江、堀田明豊、宇田晶彦、藤田修、山田章雄、棚林清]

（２）鳥類由来インフルエンザ A ウイルスの各種哺乳類細胞での増殖

哺乳類での鳥類由来インフルエンザ A ウイルスの感染機構を明らかにすることを目的に、各種動物由来培養細胞での弱毒型および強毒型 H5N1 ウイルスの増殖性を調べた。弱毒、強毒型ウイルスともにネコ由来培養細胞(Fcwf-4, CRFK, Fc3Tg, AK-D)やミンク由来 Mv1-lu において、インフルエンザの分離によく用いられるイヌ由来 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。一方、ウサギ由来の RK-13, R9ab やマウス由来 LA-4, Mlg 細胞での増殖は低く、これらのウイルス増殖の程度の差を規定する要因と考えられる各細胞のウイルス受容体やウイルス複製に関与する因子等の解析が必要と考えられた。
[山本美江、堀田明豊、宇田晶彦、藤田修、山田章雄、棚林清]

１３．SARS コロナウイルスに関する研究

（１）各種経路 SARS コロナウイルス接種におけるヒト ACE2 発現マウスの感受性
ヒト ACE2 を発現するトランスジェニックマウス(hACE2Tg、ライン#5)に段階希釈した SARS コロナウイルス(SARS-CoV、Frankfurt 株)を経鼻、腹腔内、皮下に接種し、21 日間観察した。いずれの接種経路でもウイルス接種後 3-4 日目以降に体重減少、立毛、運動失調や低下が認められ 4-6 日で死亡した。その半数致死量は経鼻接種では $10^{-0.5}TCID_{50}$ VeroE6)、腹腔内接種で $10^{0.4}TCID_{50}$、皮下接種で $10^{1.3}TCID_{50}$ と算出され、本 Tg マウスは SARS-CoV 感染に対して非常に高感受性で致死的であることが明らかになった。今後、ウイルスの増殖臓器や組織の検索や致死に至る病理学的検索、生体反応等の検索が必要である。
[棚林 清、宇田晶彦、堀田明豊、藤田 修、山本美江、山田章雄、永田典代・長谷川秀樹（感染病理部）]

１４．その他の研究

（１）病原体を網羅的に検査するためのマイクロアレイ開発
本研究は、1 回の試験で多種類の病原体を同時特異的に検出する手法を確立するために、マイクロアレイへの応用を試みている。ゲノムプロジェクトが終了している又は途中の原虫、アルベオラータ、真菌、古細菌、細菌、ウイルスの合計 1192 株の全長ゲノム配列とタンパク毒素等 74 遺伝子配列から、各病原体に対して特異的検出に有効であると推測された 38,986 種類のプローブを設計した。これらのプローブが特異的に各病原体を検出できる事を明らかにする為に、インフルエンザウイルス、Q 熱の原因菌、大腸菌、エルシニア、および野兎病菌のゲノム核酸を用いて検討した。その結果、これらの病原体は特異的に検出可能であることが示された。
[宇田晶彦、棚林 清、堀田明豊、藤田 修、山本美江、山田章雄]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Imaoka,K., Kimura,M., Suzuki,M., Kamiyama,T. and Yamada,A. Simultaneous detection of the genus *Brucella* by combinatorial PCR. Jpn. J. Inf. Dis., 60:137-139, 2007

2) Kimura,M., Tanikawa,T., Suzuki,M., Koizumi,N., Kamiyama,T., Imaoka,K. and Yamada,A. Detection of *Streptobacillus* spp. in feral rats by specific polymerase chain reaction. Microbiol. Immunol., 52:9-15, 2008

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. 9:167-174.

４） Inokuma H., Makino T., Kabeya H., Nogami S., Fujita H., Asano M., Inoue S. and Maruyama S. 2007. Serological survey of Ehrlichia and Anaplasma infection of feral raccoons (Procyon lotor) in Kanagawa Prefecture, Japan. Vet.Parasitol. 145:186-189.

5) Inoue S. 2007. The rabies prevention and the risk management in Japan. J.Disas.Res. 2:90-93.

6) Kato S, Inoue KI, Kobayashi K, Yasoshima Y, Miyachi S, Inoue S, Hanawa H, Shimada T, Takada M, Kobayashi K. 2007. Efficient Gene Transfer via Retrograde Transport in Rodent and Primate Brains Using a Human Immunodeficiency Virus Type 1-Based Vector Pseudotyped with Rabies Virus Glycoprotein. Hum.Gene.Ther. 18: 1141-51.

7) Fujita, O., Uda, A., Hotta, A., Okutani, A., Inoue, S., Tanabayashi, K., and Yamada, A. 2008. Genetic diversity of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* strains isolated in Japan. Microbiol. Immunol. 52: (in press)

8) Fujima, A., Ochiai, Y., Sioto, A., Omori, Y., Noda, A., Kazuyama,Y., Shoji, H., Tanabayashi, K., Ueda, F., Yoshikawa, Y., and Hondo, R. 2008. Discrimination of antibody to herpes B virus from antibody to herpes simplex virus type 1 and 2 in human and macaque sera. J. Clin. Micorbiol. 46: 56-61.

２． 和文発表

1) 山田章雄：その他の人獣共通感染症　食中毒予防必携 196-211 2007

2) 山田章雄:狂犬病-36年ぶりに発生　ビオフィリア　3, 58-62, 2007

3) 中込大樹, 出口順啓, 矢ヶ崎晶子, 原田和俊, 柴垣直

孝, 島田眞路, 木村昌伸, 今岡浩一： 痂皮の PCR により *Streptobacillus moniliformis* を検出した鼠咬症の一例. in：病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 28(8):226-227, 2007

4)今岡浩一他： ブルセラ症（1999 年 4 月～2007 年 3 月 31 日現在）. in：病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 28(8):227-228, 2007

5) 高橋春樹, 中川隆雄, 鈴木葉子, 鈴木道雄, 今岡浩一, 多田有希： *Capnocytophaga canimorsus* が分離された, 敗血症・多臓器不全で搬送され救命し得たイヌ咬傷の一例. in：病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 28(10):299-300, 2007

6) 今岡浩一: 犬にかまれた！どうしよう…～パスツレラ症, カプノサイトファーガ症, 狂犬病～. in：チャイルドヘルス, 診断と治療社, 10(11):768-771, 2007

7) 新井　智、田中政弘、岡部信彦、井上　智：ワクチン接種による狂犬病の流行阻止効果。日本獣医師会雑誌。60:377-382、2007.

8) 井上　智、野口　章：リッサウイルス感染症　新感染症学（下）－新時代の基礎・臨床研究－　日本臨床 65 巻 増刊号 3、157-162、2007.

9) 井上　智アジアの狂犬病の現状を知る。特集：ヒトと動物の共通感染症最前線　５。獣医畜産新法 61:184-187、2008.

10) 棚林　清：サルの感染症について－ズーノーシス（人獣共通感染症）－2007．LABIO 21　No.28：26-29。

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1)　Akio Yamada. Outbreaks of avian influenza in Japan. The Second Asian Conservation Medicine/Wildlife Pathology Workshop 2007, Aug. 30-Sep. 1, 2007, Taipei

2)　Okutani A., Inoue, S., Yamada A. Application of high-throughput sequencing system for identification of Bacillus anthracis. International Conference on Bacillus anthracis, B. cereus, B. thuringiensis (Bacillus-ACT 2007). 17-21 June, 2007. Oslo, Norway

3)　Inoue, S., Yamada, A., Tobiume, M., Sata, T., Morimoto, K., and Kurane, I. Ante- and post-mortem diagnosis, and characters of virus isolated from two human cases of rabies imported into Japan from the Philippines in November 2006. 41st joint working conferece on viral diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 24-25 July, 2007. Baltimore, MD, USA.

２．国内学会

1) 鈴木道雄, 今岡浩一, 木村昌伸, 神山恒夫, 山田章雄. *Capnocytophaga* 属菌のイヌにおける保有状況. 第 143 回日本獣医学会学術集会, つくば, 2007 年 4 月

2)　猪熊　壽、玉本智枝、清野伸隆、田邊茂之、早川大輔、鈴木正嗣、梶　光一、高橋裕史、伊吾田宏正、井上智。エゾジカ末消血からの *Rickettsia helvetica*、*Anaplasma bovis* および *Ehrlichia muris* DNA の検出。第 143 回日本獣医学会学術集会、2007 年 4 月、つくば

3)　高橋華子、相楽裕子、井上　智、佐多徹太郎。36 年ぶりに国内で相次いで発生した狂犬病―横浜市―。第 81 回日本感染症学会。2007 年 4 月、京都

4)　堀田こずえ、井上　智、山田章雄。狂犬病ウイルス感染における NCAM-120 の役割について。第 11 回日本神経ウイルス研究会学術集会、2007 年 7 月、草津、群馬県

5)　藤田　修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、奥谷晶子、井上　智、棚林　清、山田章雄。野兎病菌(*Francisella tularensis* subsp. *holarctica*)の株鑑別に有用な遺伝子マーカーの解析。第 144 回日本獣医学会学術集会 2007 年 9 月（北海道江別市）

6) 中込大樹, 出口順啓, 矢ケ崎晶子, 原田和俊, 柴垣直孝, 島田眞路, 今岡浩一, 木村昌伸. 鼠咬熱の１例. 第 59 回日本皮膚科学会山梨地方会, 甲府, 2007 年 9 月

7)　加来義浩、野口　章、堀田こずえ、山田章雄、井上智。狂犬病ウイルス P 蛋白に対する intrabody の作製と反応性の解析。第 55 回日本ウイルス学会、2007 年 10 月、札幌、北海道

8)　井上　智、ボルドバータ・バザーツレン、堀田こずえ、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄。DNA 免疫を利用した簡便で特異性の高い抗狂犬病グロブリン産生モデル実験系の検討。第 11 回日本ワクチン学会、2007 年 12 月 10 日、横浜

9)　山本美江、堀田明豊、藤田　修、宇田晶彦、山田章雄、棚林　清。インフルエンザ迅速診断キットの鳥類由来 H5N1 亜型ウイルスでの反応性の比較。　第 145 回日本獣医学会学術集会 2008 年 3 月（神奈川県相模原市）

３．セミナー・講演等

1)　井上　智。トピック：狂犬病。衛生微生物技術協議会、第 28 回研究会。岡山県環境保健センター。
2007 年 7 月 5-6 日、岡山市、岡山県

2)　井上　智。狂犬病の脅威と予防について。第 144 回

日本獣医学会学術集会 市民公開講座。酪農学園大学。2007 年 9 月 2 日、札幌市、北海道

3) 井上 智。狂犬病への対応事例等について。平成 19 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。大阪市立環境科学研究所。2007 年 9 月 7 日、大阪市、大阪府

4) 今岡浩一. ペスト(・野兎病):「感染症とバイオテロリズム」. 2007 年第 2 回日本細菌学会東日本支部会シンポジウム, 東京, 2007 年 10 月

5) 井上 智。狂犬病の発生事例及び狂犬病を疑う動物の検査手法について。平成 19 年度 動物由来感染症対策（狂犬病を含む）技術研修会。厚生労働省健康局結核感染症課。2007 年 11 月 2 日、東京都

6) 井上 智。アジアの狂犬病の現状を知る。第 7 回 人と動物の共通感染症研究会学術集会。2007 年 11 月 3 日、北里大学薬学部コンベンションホール、東京都

7) 井上 智、奥谷晶子。希少感染症となった日本の炭疽とその課題。平成 19 年度特別課程細菌コース。国立保健医療科学院。2007 年 11 月 15 日、埼玉県

8) 井上 智。狂犬病に関わる最近の話題とバイオセーフティ。第 7 回 日本バイオセーフティ学会総会・学術集会。日本バイオセーフティ学会（The Japanese Biological Safety Association：JBSA）。2007 年 11 月 17 日、東京都

9) 井上 智。狂犬病の発生状況並びに対策の現状。狂犬病予防にかかる知識向上を図るための技術研修会。徳島県保健福祉部生活衛生課。2007 年 12 月 14 日、徳島県

10）井上 智。狂犬病の話題（海外と国内の課題について）。平成 19 年度埼玉県狂犬病予防協会研修会。徳島県保健福祉部生活衛生課。2008 年 1 月 17 日、埼玉県

11) 棚林 清:食肉衛生検査におけるウイルス学的検査について。平成 19 年度食肉衛生技術研修会 2008 年 1 月 24 日、東京

12) 今岡浩一. ブルセラ症 —特徴・疫学・対応—: 特別講演. 第 46 回愛知県獣医師会学術研究発表会, 名古屋, 2008 年 3 月

13) 井上 智。狂犬病の脅威と予防方法。府民公開講座。京都府獣医師会・京都市獣医師会共催。2008 年 3 月 23 日、京都府

14) 井上 智。人獣共通感染症が侵入した場合の動物側の対応（狂犬病とそのリスク）。第 145 回 日本獣医学会学術集会。微生物分科会・公衆衛生分科会共催シンポジウム、「海外からの人獣共通感染症の侵入危機とその対策」。麻布大学。2008 年 3 月 29 日、神奈川県

研修実績

今岡浩一. 講義：人獣共通感染症. 平成 19 年度特別課程細菌コース（主催：保健医療科学院）2007 年 11 月 15 日

平成 19 年 11 月 15 日（木）

国立保健医療科学院が行っている「保健医療、生活衛生及びこれらに関連する社会福祉に関係する職員の教育訓練」

平成 19 年度特別課程細菌コースの講師として講義を行った。

講師：井上 智、奥谷晶子

演題：希少感染症となった日本の炭疽とその課題

外国人研修

平成 19 年 3 月 12 日（月）

JICA ベトナム研修員研修を行った

研修生：ベトナム NIHE、Dr.Doan Hai Yen

担当教官：井上 智、奥谷晶子

研修内容：炭疽菌の取扱一般と遺伝子診断法について

平成 19 年 12 月 10-11 日（月‐火）

JICA ベトナム研修員研修を行った

研修生：ベトナム NIHE、Dr.Hoang Thi Thu Ha

担当教官：井上 智、奥谷晶子

研修内容：炭疽菌の取扱一般と遺伝子診断法について

平成 19 年 12 月 12 日（水）

JICA ベトナム研修員研修を行った

研修生：ベトナム NIHE、D r .Hoang Thi Thu Ha

担当教官：今岡浩一

研修内容：ペスト菌の取扱と検出法について

平成 19 年 12 月 13 日（木）

JICA ベトナム研修員研修を行った

研修生：ベトナム NIHE、Dr.Hoang Thi Thu Ha

担当教官：堀田明豊、藤田 修、棚林 清

研修内容：野兎病菌の検出法について

１３．血 液・安 全 性 研 究 部

部 長　山 口　一 成

概　要

当部が担う国家検定は血液製剤とワクチンである。国家検定のあり方については、おそらく検定が始まった昭和 20 年代から問題は常に山積していたと思われるが、先人たちは英知を集めて今日の検定制度を営々と作り上げてきた。それを継承している私たちは、後世によりよい検定制度を引き継ぐ責任がある。

今年、血液製剤、ワクチンともに大きな波が押し寄せてきた。血液製剤についてはこれまでの安全性に対するさまざまな対策の積み重ね、仕組みを大幅に変えてしまう不活化技術の導入の圧力が高まり、議論が始まった。病原体の残存リスク、新たな感染症に個々に対応するのではなく、一気に「不活化」してしまうという技術は一見魅力的である。しかしもともとの血液の成分を 10-30% 失ってしまうデメリット、これまでの安全対策をやめてしまうことができるのか、製剤に薬剤を加えることで新たな薬害を作り出す可能性はないのか、我々は慎重の上にも慎重に進める必要があるとの立場をとっている。欧米の動向も注視しながら検討したい。血液製剤の安全性について国家検定を担当している当部としては、関連学会、日本赤十字社、厚労省等と連携し、科学的根拠を示していきたいと考えている。

年に 2 回の厚生労働科学研究事業の輸血関連合同班会議も順調、かつ活発な発表の場、意見交換の場として定着してきた。血液製剤については、「輸血医療と血液製剤の安全性向上」が近い将来の国の目標である。さらに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）」を確立すべきと考える。

ワクチンについては海外で生産された輸入ワクチン、遺伝子組み換え等の新規ワクチンへの対応、新規のアジュバント、検定基準に関する諸外国とのハーモナイゼイションなど、長年の懸案事項が一気に噴出している感がある。私たちは安全性研究の立場からワクチンに貢献できることを検討している。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世界に発信したい。

研究面では、昨年度から新しい成果が出始め、学会発表も飛躍的に増えている。それに引き続き投稿中の論文も多くなっている。

平成 19 年度は、10 月 1 日に大坪寛子さんが東京慈恵医科大学輸血部から研究員（任期付）として採用された。学生として、山崎淳平君（東京大学農学部大学院）が研究に 1 年間参加し、成果を挙げ、20 年 4 月から米国に留学した。内藤主任研究官が 10 月から検定検査品質保証室に配置換えとなった。新しい分野での活躍を期待している。

私たちの研究は、今年度も多くの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おり、部員は積極的に参加している。研究者はともすれば自分の研究の世界にこもりがちであるが、内外の動きにも関心をもって今後も一層の努力を続けていただきたい。

業　績

調査・研究

Ⅰ．血液製剤の安全性に関する研究

1. プリオンの研究

BSE 感染ウシ脳乳剤を用いて感染させたヒト細胞株の培養上清中には、異常プリオンが存在する事を昨年報告した。今年度は、培用上清中における異常プリオンの性状を解析した。抗プリオン抗体を結合させた磁気ビーズを感染細胞の上清に添加し、抗プリオン抗体と結合する分子を除去後、感染価をプリオン高感受性細胞を用いた in vitro 系によって測定した。また、培用上清を界面活性剤処理後、同様に抗プリオン抗体を結合させた磁気ビーズを用いて処理し、感染価を測定した。抗プリオン抗体処理では感染価は減少しなかったが、界面活性剤処理後に同様の処置をすると感染価は著名に減少した。以上から、

上清中の異常プリオンは膜に包まれた粒子中に存在している可能性が示唆された。[岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子、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、血液製剤を汚染し得る病原体不活化への応用を試みた。室温加圧により広範囲なウイルス不活化することが可能な新しい不活化法であるが、製剤としての機能をより維持させることを目的として、室温条件下に加えて低温条件下での加圧処理を試みた。

(1) 血液製剤に混入するウイルスの低温加圧処理による不活化と血液製剤の機能維持

ヒトパルボウイルス B19 をアルブミン製剤にスパイクし、低温条件下で、300MPa の加圧処理を行い感染価を測定した。その結果、室温加圧と同様に有効な不活化効果が認められた。新鮮凍結血漿に 300MPa の低温加圧処理を施し、生理活性の保持を検討した結果,第 9 因子、ATlll,フィブリノゲンの機能は維持され､第 8 因子の活性は 75%の活性が維持された。[(野島(梅森)清子、岡田義昭、種市麻衣子、水澤左衛子、山口一成、笹川秋彦(越後製菓総合研究所)]

(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 株をアルブミン製剤にスパイクし、低温条件下で 200MPa 加圧処理を行い、加圧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、さらに赤血球製剤を低温条件下で加圧処理を行った結果､赤血球の溶血は 1.0%以下であった。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。[野島(梅森)清子、岡田義昭、山口一成　笹川秋彦(越後製菓総合研究所)]

II．血液を介するウイルスの研究

血液を介するウイルス検出システムの開発

既存の検査対象ウイルスに加え、今後検出対象となる病原体の増加に伴い、迅速に拡張可能で、簡便かつ検出感度が高く、さらに経済的な検査プラットホームの開発が求められている。日赤および慶應大学病院との共同研究により、ミニアレイチップを用いた約 20 種のウイルスを簡便に測定する新規検出システムを開発している。これまでに、HIV、HBV、HCV3 種のウイルスを同時に検出するためのミニアレイチップを作製し、検出可能ウイルス量等の性能確認を行なっている。また、全ての遺伝子型にも対応できる検出系の開発も行っている。[浜口　功、水上拓郎、水谷哲也（ウイルス１部)、古田里佳（日赤)、半田　誠（慶大)、山口一成]

III．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 は転写因子として血液系の分化因子である CD41 のプロモーターを正に制御することを昨年までに見いだした。5-FU 投与マウスから骨髄細胞を分取し、レトロウイルス発現系を用いた IRF-2 を高発現させる系とレンチウイルスベクターを用いた IRF-2 をノックダウンさせる系を用いることにより、IRF-2 が in vitro で　造血幹細胞を巨核球系の細胞に分化誘導に促進的に作用していることをコロニーアッセイで確認した。さらに IRF-2 高発現細胞を X 線照射マウスに移植すると､recipient マウスの骨髄細胞において CD41 陽性細胞の増加が認められた。以上のことから IRF-2 が CD41 発現誘導に関わっていることを in vivo においても明らかにした。[益見厚子]

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 欠損に伴う赤芽球前駆細胞特異的細胞周期異常（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

我々の同定した *Spp1* は造血幹細胞と骨芽細胞に特異的に発現する分子であり、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、若齢期の骨髄形成とりわけ造血ニッチ形成が遅延していることが明らかとなった。ニッチ形成が遅延した骨髄では骨芽細胞ニッチ領域ではなく、血管内皮ニッチ領域で造血幹細胞数が有意に増加している事が明らかとなった。これらの増加した造血幹細胞は正常と同等の骨髄再建築能を保持している事が明らかとなった。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．造血幹細胞特異的チロシンキナーゼ Tie1、Tie2 の機能解析

造血幹細胞の機能発現には、造血 niche における Tie2 とそのリガンド Ang-1 との相互作用が重要であることが示唆されている。しかし、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を用い、Tie2 の過剰発現による Ang-1 の発現亢進が Tie2 の活性を増強させ、フィーダー細胞接着依存的な細胞増殖を調節していることを見出した。さらに、Tie2 シグナルの接着因子発現調節への影響も示唆される。今後は *in vivo* における解析を進め、造血幹細胞が自身の機能調節を行う機構を詳細に検討する。[百瀬暖佳、滝澤和也、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]

IV．ヒトレトロウイルスの研究

1．ATL モデルマウスにおける腫瘍幹細胞の同定

ATL モデルマウス(Tax トランスジェニックマウス)では、腫瘍細胞の連続移植により、腫瘍が再現されることから、腫瘍幹細胞（CSCs）の存在が示唆される。そこで、機能的なアプローチとして SP(Side Population)解析を行い、約 0.03%の SP 細胞分画を同定した。また、表面抗原解析を行い、SP 細胞にほぼ一致する細胞分画を同定した。同方法によって分取した CSCs は 100 個の細胞で、腫瘍を再構築する事が明らかとなった。現在、CSCs の維持機構、腫瘍へのメカニズムの解析を行っている。[山崎淳平、水上拓郎、長谷川秀樹、浜口　功、山口一成]

2．ATL 発症高危険群の長期追跡と発病予防の検討 (JSPFAD プロジェクト)

JSPFAD による HTLV-1 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。平成 20 年 3 月までに 3000 検体以上の集積が行われ、臨床情報と末梢血でのプロウイルス量、sIL-2R、HLA などとの関連、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。

I．JSPFAD プロジェクトの進行状況と評価：

JSPFAD プロジェクトの研究協力施設は 43 施設で、ほぼ全国を網羅している。協力施設の拡大と充実により真の全国ネットワークを形成し、空白地域における新規拠点形成（大阪、岩手、札幌）と、既存拠点の強化・拡大（「キャリア外来」設立の試み）に取り組んでいる。また、感染者および一般人を対象にしたホームページを立ち上げている。

II.新たに得られた知見：

(1) 2007 年 12 月までに JSPFAD 研究に登録された 842 名のキャリアの登録時の特性と追跡状況をまとめた。男 282、女 560、登録時年齢の中央値は 59.8 才。北海道から沖縄まで全国各地の医療機関から登録されているが、母親の出生地の 80%が西日本。感染を知ったきっかけは、集団検診時 28%，献血時 20%，妊婦検診時 10%，家族の HTLV-1 感染 12.9%，他疾患で病院受診時 29.1%。登録時のプロウ

イルス量の中央値は感染細胞中 1.74%，sIL-2R 量の中央値は 0.48 U/ml。842 名中、少なくとも 2 回以上追跡調査データがあるのは、414 名で、総追跡人年は 801.62 人年。追跡期間中 4 例が ATL に進展していることが確認された。

バイオマテリアルリソースバンク共同利用として、これまでいくつかの共同研究申し込みが有り、共同研究を遂行している。

(1) 病態特異的抗体の検出、(2) statin 系薬剤の抗 ATL 細胞活性の検討、(3) ATL の細胞株のホモ欠失領域に見いだされた新規癌抑制遺伝子の候補に関する変異解析、(4) AffymetrixGeneChip 500K アレイを用いたゲノムワイドなコピー数およびアレル不均衡の解析。[山口一成]

V．肝炎ウイルス感染による肝外病変の基礎的及び臨床的包括研究

1．HCV 感染 B 細胞の免疫学的解析

B 細胞には肝細胞と同様に、HCV に親和性を持つ CD81 分子が表現されている。 HCV 感染者において B 細胞免疫異常、あるいは B 細胞の関与が示唆されている自己免疫疾患の発症が報告されていること、さらには non-Hodgkin B cell lymphoma 発症との関連も指摘されていることなどから、このような HCV 感染と肝外病変の相関には B 細胞が深く関与している可能性が高いと考えた。そこで本研究では HCV 感染者の末梢血 B 細胞について様々な免疫学的解析を行った。その結果、HCV 感染者の末梢血中では、ケモカインレセプターの CXCR3 を発現する CD27 陽性メモリーB 細胞の数が減少しており、肝臓内で発現される IFN・-inducible ケモカインである IP-10（CXCR3 と結合する）の産生亢進によって、このような B 細胞が肝臓へとリクルートされる可能性が示唆された。[水落利明、伊藤昌彦、百瀬暖佳、浜口　功、池淵研二（埼玉医大）、溝呂木ふみ（慈恵医大第３病院）、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、肝臓の慢性疾患を惹起する主要因子である。一方、B 細胞リンパ腫発症に対する HCV 感染の関与も示唆されているが、その機序は明らかでない。我々は NOD/Scid/Jak3KO マウスにヒト細胞を移植し、免疫細胞ヒト化マウスを作製した。ヒト、チンパンジーにしか感受性のない HCV に感染した後の病態解析モデルとして、有用であると期待される。今後は HCV 病原遺伝子を導入したヒト細胞を用いて免疫細胞ヒト化マウスを作製し、B 細胞リンパ腫発症機序への HCV の寄与を検討すべく、準備を進めている。[百瀬暖佳、浜口　功、滝澤和也、水落利明、岡田誠治(熊本大)]

3．HCV 感染肝臓外病変 B lymphoma に関する研究

我々は HCV 感染による肝臓外疾患 B lymphoma の発症機構について解明するため、まずは HCV 感染者の血液の B 細胞について検討した。瀉血療法を行っている HCV（genotype 1b）感染者の血液より B 細胞を CD19+細胞として分離した。HCV 等 RNA ウイルス感染によって細胞は RNA センサーを通じて IFN 産生系のシグナル伝達系を作動し、生体は抗ウイルス活性を発揮することが知られている。

日赤から得た正常血液由来の CD19+細胞と感染者由来の CD19+細胞について核酸及びタンパクレベルで HCV 感染により反応するいくつかの宿主因子を比較した。[益見厚子、伊藤昌彦、水落利明、浜口　功、百瀬暖佳、水上拓郎、滝澤和也、小高千加子、持田恵子（細菌第二部)、山口一成]

VI．生物学的製剤に関する研究―細菌性ベクター及び粘膜アジュバントを用いた新規予防・治療法の開発

1．TLR 制御を取り入れた新規 DNA アジュバントの開発

（1）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、新たに開発した A 型 CpG-DNA である G9.1 の粘膜アジュバント効果を検討した。抗 DT 血清 IgG、IgA 抗体価および抗毒素価については、DT と CpG-DNA を同時経鼻投与したとき、DT のみで経鼻投与した場合に比べ、BALB/ｃ及び C57BL/6 マウスのいずれの系統においても有意な増強が認められた。すなわち新規 A 型 CpG-DNA である G9.1 は粘膜アジュバント作用を示した。さらに各粘膜 IgA 抗体価及び免疫成立後の脾臓細胞のサイトカイン産生などの細胞性応答も検討している。[前山順一、小宮貴子、高橋元秀（細菌第二部)、伊保澄子（福井大・医)、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}]

（2）CpG-DNA の樹状細胞活性化作用

マイナス鎖 RNA ウイルスの RS ウイルスに感染した形質細胞様樹状細胞(pDC)での IFN-・産生について検討した。感染 pDC からは IFN-・が産生されず、G9.1 の TLR9 刺激による IFN-・産生も抑制された。RSV 由来の NS1 蛋白による IRF-7 活性化の阻害が IFN-・産生抑制の要因のひとつとなっている。CpG-DNA アジュバントの開発には pDC の様態に応じた設計が必要と考えられた。[前山順一、伊保澄子(福井大学・医)、山本三郎(Texas A&M University)]

2．細菌性感染症の粘膜ワクチン開発

劇症型 A 群連鎖球菌感染症患者の炎症部位の白血球浸潤の抑制と劇症型に由来する毒性因子を検索すべく、マウスマクロファージ、好中球の食菌作用に対する抵抗性を検討した。マクロファージでは劇症型 A 群連鎖球菌の食菌細菌数の低下、好中球では、細胞内に取り込まれた劇症型 A 群連鎖球菌が細胞溶解をさせる事が新たに明らかとなった。溶血反応で、劇症型 A 群連鎖球菌はヒト血液でコレステロールに抵抗しない新たな溶血毒があると考えられた。さらに検索するとともにこれら毒性因子がワクチン抗原の候補物質となるか検討する予定である。[前山順一、井坂雅徳(名古屋市大・医)、後藤紀久｛(独)総合機構｝]

3．BCG ベクターの開発と応用

新規ワクチン開発の目的で遺伝子工学的手法により BCG にワクチン抗原またはサイトカインの遺伝子を組み込んだリコンビナント BCG(rBCG)が開発されている。この rBCG の安全性・安定性を検討した。安全性は生物学的製剤基準中の有毒結核菌否定試験に則って確認した。安定性はプラスミドの安定性を検討した。ヌードマウスに rBCG を静脈注射後、経時的に臓器を取り出し菌の定量培養から菌量を推定した。その結果プラスミドは、マウスに接種後 12 週間の観察期間中認められたことから、その間は脱落することなく安定に存在することが示唆された。rBCG の開発については、HIV-1 Gag 及び Env 抗原の BCG 菌体内同時発現およびチミン要求性を指標とした BCG 宿主-ベクター系構築のための検討を行った。[前山順一、松尾和浩(エイズ研究センター)、大原直也（免疫部)、網康至（動物管理室)、菅原 勇（(財)結核予防会結核研究所)、矢野郁也(日本ＢＣＧ研究所)、山本三郎(Texas A&M University)]

4．BCG の多様性に関する研究

BCG には多くの亜株が派生しており、それらの比較検討を行った。亜株は、Tokyo 株をはじめ各国ワクチン株を用いた。これらのたんぱく質、細胞壁成分ミコール酸のサブクラス・構成比・精製・MALDI-TOF による質量分析、サイトカイン産生能、ナイアシン試験等での差異を検討した。DTH については Tokyo 株サブポピュレーション BCG-I と BCG-II とを比較したところ、BCG-I が強い反応を示した。また、各亜株間においては、サイトカイン誘導能、トレハロース付加ミコール酸の生物活性、ミコール酸のサブクラス・構成比、ナイアシン試験に差異が見られた。[前山順一、藤原永年（大阪大・医)、瀧井猛将(名古屋市大・薬)、矢野郁也(日本ＢＣＧ研究所)、山本三郎(Texas A&M University)]

VII．肝炎ウイルス感染防御を目指したワクチン接種の基盤構築

本研究の目的は、HB ワクチン接種について、その有効性および感染防御に有効な抗体価の検証、さらにはワクチン接種後の抗体獲得率等の検証を行い、今後の universal な HB ワクチン接種必要性について検討することにある。今年度の成果として(1)HBV の母子感染防止を目的とする HB ワクチン投与の有効性について分娩施設に対するアンケート調査等を行なった。(2)接種する HB ワクチンにより抗体価の上昇に違いが見られることが明らかになった。(3)国内で使用されている抗 HBs 抗体価測定キットについての性能比較を行い、各キット間での乖離の有無を検証した。(4)現在の我が国においては、従来の母子感染経路よりも、大都市圏の比較的若年層を中心に、性感染（水平感染）経路への警戒を強める必要があると結論した。 (5)ヒト肝細胞移植キメラマウスを用い、HBV 感染防御に必要な抗 HBs 抗体価の定量を行うための予備実験を完了した。(7)我が国における HBV escape mutant 発生頻度の調査、およびそれら変異クローンの作成を行った。以上より、今後急増が懸念される HBV の水平感染に対する防御施策の必要性が確認された。[水落利明、田中憲一（新潟大学)、小方則夫（燕労災病院)、小高千加子、岡部信彦（感染症情報センター、多屋馨子（感染症情報センター)、片山惠子（広島大学)、溝上雅史（名古屋市大）]

VIII．リポソーム結合ペプチドによる CTL の誘導

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、今年度はワクチンのデザインに関わる問題として、CTL の誘導に CD4 陽性 T 細胞によるヘルプが必須であるか否かについて検討を行った。その結果、CTL エピトープペプチドのみを結合したリポソームで免疫することにより有意に CTL が誘導されることが明らかとなり、同様のことは CD4 陽性 T 細胞に対する抗体を投与して CD4 陽性 T 細胞を除去したマウスにおいても再現されたことから、我々が開発したペプチド結合リポソームによる免疫においては、CD4 陽性 T 細胞によるヘルプは CTL の誘導を増強するものの必須ではないことが示唆された。[種市麻衣子、

内田哲也]

IX．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。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 によりリンパ管内皮細胞が増殖することが示唆された。そして、EphB4 陽性のリンパ管管内皮細胞はしばしば血管平滑筋細胞に裏打ちされた動脈に隣接して存在することより、静脈内皮細胞と異なる EphB4 を介したシグナル伝達と考えられ、現在解析中である。[小高千加子]

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た。QuantiGene Plex 法を導入し、これらの遺伝子の発現量を簡便でかつ精度高く測定する測定法の開発を進めている。今後本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。さらに現在、これらの 78 遺伝子の機能をより簡便かつ高感度に検出可能な QGP(Quantigene Plex)法が応用可能かを検討している。[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．網羅的遺伝子発現解析を用いた Vero 細胞由来日本脳炎ワクチンの評価

より安価で安全性向上も期待される次世代ワクチンとして、Vero 細胞で増殖させたウイルスを原料としたワクチンが開発された。我々は、Vero 細胞由来の次世代ワクチンと現行のマウス脳由来ワクチンを用い、生化学的解析、および遺伝子発現解析から両者の特性を捉えることを試みた。ワクチン接種後のラットの体重測定、血液学的検査、血液化学的検査、および肝臓と脳における網羅的遺伝子発現解析を行った結果、接種後 4 日目までの時点では両者を区別することはできず、その特性は同等であると評価された。[百瀬暖佳、浜口 功、水上拓郎、内藤誠之郎、益見厚子、前山順一、倉光 球、滝澤和也、山口一成]

IV．異常毒性否定試験の動物グレード変更に伴うバリデーション

国家検定、異常毒性否定試験におけるモルモットのグレードをクリーンから SPF へ変更のための検討を、細菌製剤協会との共同で行った。国立感染症研究所の解析では、沈降精製 DPT ワクチン、インフルエンザ HA ワクチン、日本脳炎ワクチン、組換え沈降 B 型肝炎ワクチン、沈降破傷風トキソイド、ジフテリア破傷風トキソイド、沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド、肺炎球菌ワクチンにおいて、SPF 母集団とクリーン母集団間に有意差は認められず、グレード変更による試験への影響は少ないことが明らかとなった。また、メーカーによるバリデーションでも同様の事が明らかとなった。[水上拓郎、益見厚子、古畑啓子、浜口　功、山口一成]

V．粘膜投与等の新投与経路ワクチン研究における品質管理に関する研究

新型インフルエンザ経鼻投与型ワクチンの主体である不活化全粒子型新型インフルエンザワクチンの脂質・核酸成分に由来する免疫原性を NF-κB に対するレポーター遺伝子を組み込んだ人由来モノサイト株（THP 細胞）を用いて調べた。不活化型全粒子ワクチンは PMA 処理でマクロファージ化した THP 細胞に対して NF-κB 活性と IL-1β 産生を誘導した。一方、従来型のインフルエンザＨＡワクチンは NF-κB 活性も IL-1β産生も誘導できなかった。不活化型全粒子ワクチンの免疫原性誘導成分を解析する予定である。[笠井道之]

VI．新ロットたん白質定量用標準アルブミン製造について

旧ロットは製造後 10 年を経過し、含有量に変動は見られないが、一部に溶けにくい製品が生じたので新ロットを製造した。生物製剤基準に適合可能なウシアルブミンを製造し、GMP 対応のクリーンルーム内で 2000 本を１ロットとして調液、分注、凍結乾燥、および包装を行うことの可能な和光純薬工業に依頼した。製造後、たん白質窒素含量測定、たん白質含量、および含湿度測定を行い製品の規格を決定した。業務運営委員会に報告後、配布を希望するメーカーに配布している。[笠井道之、田中(庄司）明子、矢野茂生]

VII．肺炎球菌ワクチンフェノール含量試験の検討

上記試験は、内標であるフェノキシエタノールと検体を混合後、その比を HPLC で計測し、並行して作成した検量線を用いて定量する方法である。限外ろ過膜を用いて高分子物質を除去していたが、使用していた製品が製造中止となり、同じメーカーの同等品を使用したところ、内標と同じ場所に検出される物質が、洗浄後も溶出することがわかった。他 2 社のろ過膜の使用も検討したが、フェノールを吸着するもの、予期せぬ物質が溶出するもの等使用不可能だった。検体のみをろ過する方法に変更し、定量している。限外ろ過膜の使用には、注意が必要であることが示唆された。[田中（庄司）明子]

VIII．新型インフルエンザワクチン承認前試験

たんぱく質含量、ホルムアルデヒド含量、アルミニウム含量、チメロサール含量、浸透圧及び pH 試験の６種を 2 社の原液各１ロットと、小分け 2 ロットに 対して行ない、評価した。たんぱく質含量試験以外は、基準値を満たし、また通常の検定より、自家試験値との乖離が小さいケースが多かった。たんぱく質含量に関しては、原液として供給されたものが最終バルク濃度に希釈されており、1/７以下の数値が出た。また、確認のため電気泳動法により各たんぱく質の分離を行ったところ、HA と思われるバンドはほとんど検出できず、製造所の申請書とは、大きな隔たりがあった。[田中（庄司）明子、笠井道之、矢野茂生]

IX．国内献血血液を用いた血清／血漿パネル（国立感染症研究所国内標準パネル）の整備

感染研では、HBV、HCV、HIV 等のウイルス感染に対する体外診断薬について承認前試験を実施している。近年、迅速かつ簡便な診断法、あるいは遺伝子検査の定量、変異分別法などが開発されており、これらの承認前試験を行う際には、抗体価、抗原量、ウイルス量などが明らかになっている血清／血漿パネルが必要となるが、日本国内ではこのような血清／血漿パネルは作製されておらず、海外メーカーの作製した各ウイルス血清／血漿パネルに頼っている。しかし、HBV、HCV、HIV においてはウイルス遺伝子が多型性に富むことから、承認前試験実施の際に海外から購入した検体を用いている限り、必ずしも我が国で感染者数の多い遺伝子型由来の抗原／抗体／遺伝子検体を用いた評価がなされていない危惧がある。従って、それぞれのウイルス遺伝子多型を考慮に入れ、国内で採取した血清／血漿を用いた HBV、HCV パネルの整備を行い本年度 HIV 検体パネルが完成し国内標準パネルとして認定された。[水落利明、鈴木哲朗（ウイルス第２部)、巽正志（エイズ研究センター)、山口一成]

X．人血液凝固第 VIII 因子国内標準品の力価の制定

平成７年に第一世代の標準品を作製して以来 10 年近く経過し、またその間に国際標準品も更新されたことから、第二世代の標準品の作製を行うこととした。候補品の作製は前回と同様に日本赤十字社に依頼し、力価の測定は組み換えを含む血液凝固第VIII因子製剤を製造しているすべての企業に協力を依頼し、多施設参加の共同研究によって力価測定を行った。各企業及び感染研のデータを集計し統計処理を行った結果、第二世代の標準品の力価は 13.3 国際単位/mL と制定した。[種市麻衣子、岡田義昭、山口一成、堀内善信（細菌第二部)]

XI．血液製剤の核酸増幅試験(NAT)の精度管理に関する研究

「血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査（NAT）の実施に関するガイドライン」及び「血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン」に基づいて血漿分画製剤製造販売業者等や民間の衛生検査所で実施している NAT のコントロールサーベイにおいて、感染研は検体の作製と配布及び結果の解析を担当している。今年度は C 型肝炎ウイルス（HCV）とエイズウイルス（HIV）を対象として第二回 NAT コントロールサーベイを実施した。HCV-NAT には血漿分画製剤製造所７社 10 施設と衛生検査所７社、HIV-NAT には血漿分画製剤製造所７社 10 施設と衛生検査所3社が参加し、全施設が結果を報告した。現在、結果の解析を行っている。[水沢左衛子、水落利明、岡田義昭、種市麻衣子、梅森清子、斎賀菊江、山口一成]

XII．抗補体性否定試験性に用いるモルモット補体に関する研究

抗補体性否定試験は、検体とモルモット補体を反応させた後に残存する補体量を測定し、検体の補体活性抑制（抗補体性）が一定以下であることを確認する試験であり、副作用を生じる可能性のあるグロブリン凝集体に由来する抗補体性を否定して製剤の安全性を担保している。本試験はバイオアッセイであり、用いるヒツジ血球、溶血素、モルモット補体により成績が左右される傾向があり、より安定した試験結果を得るため、モルモット補体の至適化を検討した。SPF およびコンベモルモット由来補体を用いて,グロブリン参照品の抗補体価を比較した結果、本試験には SPF モルモット補体が適していることが分かった。次に 4、14 週齢、リタイア SPF モルモット由来の補体を用いて抗補体価を検討したところ、4、14 週齢のモルモット補体を用いると抗補体価が上昇することが明らかになり、試験に用いる補体は SPF リタイアモルモット由来の補体が好ましことが明らかになった。[野島(梅森)清子、岡田義昭、山口一成]

XIII．重合物否定試験における分析条件による凝集体含量についての研究

重合物否定試験は、静注用グロブリン中の二量体を超える重合物含量が 1.0% 以下であることを確認する試験である。近年、グロブリン凝集体はサイズ排除クロマトグラフの分析条件によりカラムへ非特異的に吸着し、凝集体を正確に検出出来ないことが指摘されている。そこで至適分析条件を検討し、さらに動的光散乱法を用いて、現在市販されている静注用グロブリンに含まれる重合物含量を測定した。その結果、静注用グロブリンの中には分析条件によっては現在の生物学的製剤基準における規定値1.0%を超えるものがある可能性が示唆され、今後、適切な分析条件の確立と、試験法の標準化を行い、さらに必要に応じて、生物学的製剤基準の見直しが必要と考える。[野島(梅森)清子、岡田義昭、山口一成]

XIV．平成１９年医薬品製造業一斉監視指導抜き取り試験検査品（抗生物質）の核磁気共鳴(NMR)スペクトル法による確認試験

前年度と同様に、標準品と製剤のスペクトルの比較から同定確認を試みた。

(Ⅰ)スルバクタムナトリウム-アンピシリンナトリウム［注射用、６社、８ロット］の結果：

^{1}H-スペクトル：標準アンピシリンの測定は DMSO-重水混液を用いた。重水系での８検体の測定では、シグナルが完全に分離された、ほぼ標準品と類似のスペクトルが得られ、検体は表示成分のみから成ると考えられた。等量混合物では、全てのシグナルが一致した。^{13}C-スペクトル： 22 本（アンピシリン：14、スルバクタム：8）のシグナルが完全分離ピークとして観測され、検体の等量混合物スペクトルでは、すべてのシグナルが完全に一致し、同定確認が完了した。

（Ⅱ）セフジニル（カプセル：３検体、細粒：２検体）の結果：^{1}H-スペクトル：カプセルは標準スペクトルと同一の、完全分離された８種のシグナルを与えた。大部分がセフジニル成分ピークであり、添加物シグナルはわずかであった。等量混合スペクトルでは、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、同定確認できた。細粒は、3.7ppm 付近のメチレンシグナルが大量の添加物シグナルに隠されたが、５ppm～７ppm 領域の６シグナルの部分同定確認ができた。等量混合スペクトルでは、この６シグナルが標準品と完全に一致し、部分同定確認ができた。^{13}C-スペクトル：カプセルは標準品と同様の１４本のシグナルが観測された。細粒：添加物由来の多数の大きなシグナルの存在下、１４本のシグナルは全て分離されて観測された。等量混合物スペクトル：カプセル、細粒とも、すべてのシグナルが完全に一致し、同定確認が完了した。[矢野茂生]

XV．平成１９年医薬品製造業一斉監視指導抜き取り試験検査品（抗生物質）の赤外吸収(IR)スペクトル法による確認試験

前年度と同様に、ＫＢｒディスク法を実施し、標準品と製剤のスペクトルの比較から同定確認を試みた。（Ⅰ）スルバクタムナトリウム-アンピシリンナトリウム［注射用、６社、８ロット］の結果：スルバクタム、アンピシリンの各標準品は遊離酸であるため、ナトリウム塩である検体のスペクトルの比較から同定確認はできなかった。８ロットの検体のスペクトルはメーカー差は無く、ほぼ同一パターンのスペクトルが得られた。（Ⅱ）セフジニル（カプセル：３検体、細粒：２検体）の結果：カプセルはほぼ標準品と同一のスペクトルを与え、同一物と判断できた。細粒は大量の添加物による強い吸収にセフジニルの吸収ピークが隠され、同定確認はできなかったが、２検体のスペクトルは類似のパターンを示した。[笠井道之、布施　晃]

国際協力関係業務

I. WHO collaborative study to calibrate a candidate replacement for the First International Standard for hepatitis B immunoglobulin

1977年に作成された抗HBs抗体国際標準品（WHO 1st.）に替わる国際標準品(WHO 2nd.)の力価を決定するための国際研究に、日本の代表機関として加わった。Lumipulse Presto HBsAb-N （Fijirebio Inc）とEnzygnost Anti-HBs II（DADE BEHRING）を用いて抗HBs抗体価を測定した。現在、英国National Institute for Biological Standards and Controlで結果をまとめ、レポートを作成中である。[小高千加子、金子　敦（富士レビオ）]

II．C 型肝炎ウイルス遺伝子増幅法のための国際標準品作成のための WHO 国際共同研究への参加

血漿分画製剤の原料となる血漿の HCV-NAT スクリーニングのための HCV RNA 第一次国際標準品が 1997 年に、第二次国際標準品が 2003 年に制定され、広く体外診断薬キットの評価にも使用されてきた。今回、更新のために共同研究が実施され、14 カ国から 33 施設が参加した。本共同研究の結果は 2007 年に WHO 生物学的試験標準化専門家委員会に報告され、HCV RNA 第三次国際標準品（コード 06/100、力価 5.19$\log_{10}$国際単位/ml、凍結乾燥品）が制定された。本品は遺伝子型 1a，抗 HCV 抗体陰性、HCV RNA 陽性の血漿をプールしたものを HIV-1 RNA，HBV DNA，HAV RNA 及びパルボウイルス 19 DNA 陰性の血漿で希釈したものを原料とした。[水澤左衛子]

血液･安全性研究部主催のセミナー、研究会

1．2007年4月23日　第7回感染研細胞生物セミナー　辻　孝（東京理科大・基礎工・生物工教授、文部科学省学術フロンティア再生工学研究センター）臓器置換再生医療を目指した人工器官原基からの臓器形成技術の開発-歯の器官形成をモデルに-

2．2007 年 12 月 10 日　第 8 回感染研細胞生物セミナー　梁　明秀(国立感染症研究所・エイズセンター室長)

3．2008年1月11日　第9回感染研細胞生物セミナー　木戸　博（徳島大学・疾患酵素学研究センター教授）インフルエンザの重症化機序と、予防のための粘膜ワクチン

4．2008年2月4日　第10回感染研細胞生物セミナー　片山和彦(国立感染症研究所・ウイルス２部・主任研究官)ノロウイルスのリバースジェネティクス

5．2008 年 3 月 14 日　第 11 回感染研細胞生物セミナー　江良択実（熊本大学・発生医学研究センター・神経発生分野教授）新時代を迎えた幹細胞研究

ワクチン研究会

1．2007 年 4 月 13 日　阪口薫雄（熊本大学大学院医学薬学研究部、感染免疫学講座免疫学分野教授）高親和性モノクロナール抗体産生技術開発とその応用

2．2007 年 7 月 13 日　下池貴志（ウイルス二部主任研究官）海外出張報告

3．2007 年 12 月 13 日　井坂雅徳（名古屋市立大学　医学部）A 群連鎖球菌の免疫回避機序とその解明（初期連鎖球菌株から劇症化までの経緯

村山市民セミナー

1．2007 年 6 月 16 日　岡部信彦（感染症情報センター長）はしかとその予防のポイント

2．2007 年 7 月 14 日　倉根一郎（ウイルス 1 部長）　日本脳炎の予防について

3．2007 年 9 月 29 日　渡邊治雄（副所長）病気の予防と感染研

4．2007 年 12 月 1 日　片山和彦（ウイルス 2 部主任研究官）ノロウイルスと冬の食中毒

5．2008 年 1 月 19 日　多屋馨子（感染症情報センター室長）インフルエンザの予防について

6．2008 年 3 月 29 日　脇田隆字（ウイルス 2 部長）ウイルス性の肝炎について

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Tsukasaki K, Utsunomiya A, Fukuda H, Fukushima T, Takatsuka Y, Ikede S, Masuda M, Nagashi H, Ueda R, Tamura K, Sano M, Momita S, Yamaguchi K, Kawano F, Hanada S, Tobinai K, Shimoyama M, Hotta T, Tomonaga M, and LSG Group: VCAP-AMP-VECP versus biweekly CHOP for adult T-cell leukemia-lymphoma: Japan Clinical Oncology Group Study, JCOG9801. J Clin Oncol 25(34):5458-64, 2007

2) Ohsugi T, Kumasaka T, Okada S, Ishida T, Yamaguchi K, Horie R, Watanabe T, Umezawa K.: Dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) therapy reduces tumor formation in mice inoculated with Tax-deficient adult T-cell leukemia-derived cell lines. Cancer letter 257(2),206-215, 2007

3) Naito S, Maeyama J, Mizukami T, Takahashi M, Hamaguchi I, Yamaguchi K. Transcutaneous immunization by merely prolonging the duration of antigen presence on the skin of mice induces a potent antigen-specific antibody response

even in the absence of an adjuvant. Vaccine 25,8762-8770, 2007

4) Kasai M, Mizuochi T: Derivation, culture, and characterization of thymic epithelial cell lines. Methods in Molecular Biology, vol. 380: Immunological Tolerance: Methods and Protocols, PP107-123, Edited by Paul J Fairchild, Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007

5) Zhao Y, Isaka M, Yasuda Y, Taniguchi T, Matano K, Matsui H, Maeyama J, Morokuma K, Ohkuma K, Goto N, Tochikubo K: Protective effect of nasal immunization of influenza virus hemagglutinin with recombinant cholera toxin B subunit as a mucosal adjuvant in mice. Microbiol. Immunol. 52(2):55-63, 2008

6) Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Noce T, Hamaguchi I, Yamaguchi K: Identification of transcripts commonly expressed in both hematopoietic and germ-line stem cells. Stem Cells and Development 17:67-80, 2008

7) Mizukami T, Imai J, Hamaguchi I, Kawamura M, Momose H, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K: Application of complementary DNA microarray technology to influenza A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) vaccine safety. Vaccine 26(18):2270-83, 2008

8) Kuramitsu M, Hamaguchi I, Mizukami T, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mochizuki M, Naito S, Yamaguchi K: Deficient RPS19 protein production induces cell cycle arrest in erythroid progenitor cells. Brit J Haematol 140,348-359, 2008

9) Uchida T, Taneichi M: Clinical application of surface-linked liposomal antigens. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 8: 184-192, 2008

10) Miyake K, Utsugisawa T, Flygare J, Kiefer T, Hamaguchi I, Richiter J, Karlsson S: RPS19 deficiency leads to reduced proliferation and increased apoptosis but does not affect terminal erythroid differentiatio in a cell line model of Diamond-Blackfan anemia. Stem Cells, 26: 323-329, 2008.

11) Mizukami T, Kanai Y, Fujisawa M, Kanai-Azuma M, Kurohmaru M, Hayashi Y. Five Azacytidine, A DNA Methyltransferase Inhibitor, Specifically Inhibits Testicular Cord Formation and Sertoli Cell Differentiation In Vitro. Molecular Reproduction and Development, 2008; 75: 1002-1010, 2008

12) Odaka C, Ding A: Secretory leukocyte protease inhibitor: more than a protease inhibitor. Curr. Immunol. Rev. 2008, in press.

13) Masumi A. “nucleolin” Encyclopedia of Cancer, 2008, in press

14) Sunohara M, Morikawa C, Sato T, Sato I, Miyado M, Sato T, Fuse A: Promoter motifs involved in C-mpl expression induced by PMA. Cell Biol. Int. *in press*

２．和文発表

1）熊川みどり、長井一浩、豊島崇徳、水落利明、佐竹正博、佐川公矯、高橋孝喜、山口一成：輸血前後の感染症マーカーについての日本輸血･細胞治療学会運用マニュアル。日本輸血細胞治療学会誌 53(6);602-606，2007

2）山口一成：輸血医療・医学の新展開 編集 別冊・医学のあゆみ 2007

3）浜口 功、山口一成：輸血･移植と感染症。小児感染症学 特殊な状況下での感染症 診断と治療社 155-161，2007

4）浜口 功、山口一成：パルボウイルス感染症と社会的問題点、臨床と微生物、近代出版、34:373-376、2007

5）笠井道之:胸腺上皮細胞による抗原提示と autophagy. 臨床免疫/アレルギー科，47(2)：174-181，2007

6）前山順一：発熱試験法、生物学製剤基準研究会編、生物学的製剤基準解説、2007 年版、じほう p263-266，2007

7）浜口 功：加熱人血漿たん白、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p173-175、2007

8）浜口 功：人血清アルブミン、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p176-177、2007

9）水上拓郎：異常毒性否定試験、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p240-241、2007

10)梅森清子：人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p190-192,2007

11）梅森清子：アルキル化人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p193-194,2007

12）梅森清子：乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p195-196,2007

13）梅森清子：乾燥スルホ化人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p197-198,2007

14）梅森清子：pH4 処理酸性人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p199-200,2007

15）梅森清子：乾燥 pH4 処理人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p201-202,2007

16）梅森清子：乾燥プラスミン処理人免疫グロブリン、

生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p203-204,2007
17) 梅森清子：乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p205-206,2007
18) 梅森清子：ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p207-209,2007
19) 梅森清子：乾燥ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p209-210,2007
20) 梅森清子：抗破傷風人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p221-222,2007
21) 梅森清子：乾燥抗破傷風人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p223-224,2007
22) 梅森清子：ポリエチレングリコール抗破傷風人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p225-226,2007
23) 梅森清子：乾燥ポリエチレングリコール抗破傷風人免疫グロブリン、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p227-228,2007
24) 梅森清子：抗補体性否定試験性、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p253,2007
25) 梅森清子：セルロースアセテート膜電気泳動試験、生物学的製剤基準解説　2007 年度版、じほう、p254,2007
26) 梅森清子：熱安定性試験、生物学的製剤基準解説 2007 年度版、じほう、p253,2007
27) 嶋崎典子、岡田義昭、米山徹夫：医薬品からの感染が危惧されるウイルス疾患と安全対策、月刊薬事 90(11) 1691-1697, 2007
28) 大坪寛子、浜口　功、山口一成：ヘモビジランスシステムと輸血安全管理　臨床検査 52(2),157-161, 2008
29) 水上 拓郎、浜口　功、山口一成：献血血液における新興・再興感染症対策　臨床検査 52(2),215-219, 2008
30) 種市麻衣子、岡田義昭、上村晃一朗、福永信人、赤石暁弘、猿渡千尋、滝本正敏、阿武啓嗣、堀内善信、山口一成：血液凝固第 IX 因子国内標準品の力価制定。日本輸血細胞治療学会誌　54(1);43-47, 2008
31) 水落利明、小高千加子、山口一成：国内で販売されている抗 HBs 抗体定量用体外診断用医薬品の評価：国内標準品を用いた検討。臨床検査　52:111-115, 2008

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Momose H, Imai J, Hamaguchi I, Kawamura M, Mizukami T, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Kato H, Mizutani T, Horiuchi Y, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K: Application of quantitative gene expression analysis to pertussis vaccine safety control. Vaccine Congress Celebrating 25 years of publication. 9-11 December 2007, Amsterdam, The Netherlands
2) Masumi A, Hamaguchi I, Mizukami T, Kuramitsu M, Momose H, Takizawa K, Naito S, Yamaguchi K: The role for interferon regulatory factor-2 on hematopoitic differentiation. International Society for Interferon and Cytokine Research Annual Meeting. September 15-19, 2007, Oxford, England
3) Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Mochizuki M, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Noce T, Hamaguchi I, and Yamaguchi K: Identification of transcripts commonly expressed in both hematopoietic and germline stem cells.-Spp1 (Secreted phosphoprotein 1) is essential for the early niche formation in the bone marrow.　第 5 回国際幹細胞学会 2007,6. Cairns, Australia
4) Naito S, Ochiai M, Yamamoto A, Maeyama J, Masumi A, Hamaguchi I, Yamaguchi K, Horiuchi Y：Application of the *Limulus* Amebocyte Lysate Test to Various Blood Products as an Alternative Method to the Rabbit Pyrogen Test. 第6回国際動物代替法学会 2007. 8. Tokyo
5) Yamaguchi K, Uozumi K, Taguchi H, Kikuchi H, Okayama A, Kamihira S, Hino S, Nosaka K, Watanabe T: Nationwide cohort study HTLV-I carriers in Japan: Joint study on predisposing factors of ATL development (JSPFAD). 13th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. May 21-25, 2007. Hakone, Japan
6) Muto S, Yamamoto G, Nannya Y, Sanada M, Dabaghmanesh N, Ishida T, Utsunomiya A, Yamada Y, Kamihira S, Yamaguchi K, Ogawa S, Watanabe T: Molecular allelokaryotyping of adult leukemia using high SNP genotyping microarrays. 13th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. May 21-25, 2007. Hakone, Japan
7) Matsubara A, Shoda M, Ito E, Aizawa S, Ishida T, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Watanabe S, Watanabe T:

Establishment of “PCR array system” for specific detection of ATL cells in vivo. 13th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. May 21-25, 2007. Hakone, Japan

8) Tsuchida W, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ishida T, Yamaguchi K, Watanabe T: Overexpressed Ezrin as a basis for enhanced migration of ATL cells. 13th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. May 21-25, 2007. Hakone, Japan

9) Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Masumi A, Naito S, Iwama A, Noce T, Hamaguchi I, Yamaguchi K: Spp1 (Secreted phosphoprotein 1) is commonly expressed transcript both in the hematopoietic, germline, and hair follicle stem cells and essential for the early niche formation in the bone marrow. 5th ISSCR 2007. Australia.

10) Okada Y, Umemori K, Yamaguchi K: Preparation of plasmids containing HBv-fullgenome of genotype A to H and trial of HBV inactivation method. 20th SoGAT Internatinal Working Group Meeting. June 2007. Warsaw. Poland

11) Mizusawa S, Okada Y.: Establishment of national standards for NAT blood viruses and NAT proficiency program in Japan. 20th SoGAT International Working Group Meeting, June 2007, Poland

12) Maeyama J, Goto N, Yamamoto S: The mucosal adjuvanticity of CpG-DNA on cellular and humoral immunity, Keystone Symposia, Challenges of Global Vaccine Development, Part of the Keystone Symposia Global Health Series, 2007, Oct. Cape Town, South Africa.

2. 国内学会

1）益見厚子、浜口　功、水上拓郎、倉光　球、百瀬暖佳、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 の造血幹細胞分化に及ぼす役割　第 127 回日本薬学会　2007.3．富山

2）水上拓郎、浜口　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：生殖幹細胞と造血幹細胞の分子基盤の解明。第143回日本獣医学会学術集会 2007.4．筑波

3）倉光　球、濱口　功、水上拓郎、百瀬暖佳、滝澤和也、益見厚子、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タンパク質 s19(RPS19)の遺伝子変異と細胞増殖との関係の解析。第 55 回日本輸血・細胞治療学会総会　2007.5.31-6.2 名古屋

4）大坪寛子、山口一成、星　順隆：溶存酸素濃度測定法を用いた血小板製剤内細菌検出法の確立。第 55 回日本輸血・細胞治療学会総会　2007.5.31-6.2 名古屋

5）水上拓郎、高崎智彦、水谷哲也、坂本達也、日野　学、柚木久雄、三根英子、田所憲治、山口一成：ウエストナイルウイルス大量発生時の体制整備。第 55 回日本輸血・細胞治療学会総会　2007.5.31-6.2 名古屋

6）益見厚子、培養細胞を用いた標的タンパク質と結合する宿主タンパク質の同定と機能解析　第５回プロテオーム機構、2007，7 月東京

7）益見厚子、深澤秀樹、島津忠弘、吉田　稔、山口一成：ヌクレオリンはインターフェロン制御転写因子-2 依存転写活性化に寄与している。第 66 回日本癌学会学術総会 2007.10.3-5 横浜

8）松原亜以子、正田桃子、伊藤恵美、相澤繁美、石田尚臣、宇都宮與、山口一成、渡辺慎哉、渡邊俊樹：RT PCR array for identification of the high-risk group in HTLV-1 carriers for developing ATL. 第 66 回日本癌学会学術総会 2007.10.3-5 横浜

9）武藤早紀、山本　豪、南谷泰仁、Nazanin Dabaghmanesh、石田尚臣、宇都宮與、山田恭暉、上平　憲、山口一成、小川誠司、渡邊俊樹：高密度 SNP マイクロアレイを用いた成人 T 細胞白血病のアレル核型分析。第 66 回日本癌学会学術総会　2007.10.3-5 横浜

10）内田哲也、種市麻衣子：Antigens chemically coupled to the surface of liposomes induce potent antitumor immunity.　第 66 回日本癌学会学術総会　2007.10.3-5 横浜

11）水上拓郎、濱口　功、滝澤和也、倉光　球、百瀬暖佳、内藤誠之郎、益見厚子、岡田誠治、山口一成：髄外造血機構を用いた造血幹細胞ニッチの解析。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会 2007.10.11-13 横浜

12）百瀬暖佳、濱口　功、倉光　球、水上拓郎、益見厚子、滝澤和也、内藤誠之郎、山口一成：受容体型チロシンキナーゼ Tie2 による Angiopoitin-1 の発現調節機構の解析。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会　2007.10.11-13 横浜

13）内丸　薫、東條有伸、中村ゆかり、渡邊俊樹、山口一成：首都圏に存在する HTLV-1 キャリアの背景因子解析。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総

会　2007.10.11-13 横浜

14）松原亜以子、正田桃子、伊藤恵美、相澤繁美、石田尚臣、宇都宮與、山口一成、渡辺慎哉、渡邊俊樹：RT PCR Array による ATL 発症ハイリスク HTLV-1 キャリア集団の同定。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会　2007.10.11-13 横浜

15）益見厚子、濱口　功、水上拓郎、倉光　球、百瀬暖佳、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 の巨核球分化における役割。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会 2007.10.11-13 横浜

16）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：リボゾームタンパク質 S19 の遺伝子変異に伴う細胞周期の G1/G0 停止と先天性赤芽球ろうとの関係。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会 2007.10.11-13 横浜

17）王　莉莉、半下石明、山本　豪、武藤早紀、南谷泰仁、真田　昌、中崎久美、宇都宮與、上平　憲、山田恭暉、山口一成、黒川峰夫、千葉　滋、渡邊俊樹、小川誠司：6q 欠失の標的癌抑制遺伝子 Blimp-1 の細胞周期制御における機能解析。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会　2007.10.11-13 横浜

18）中村文彦、山本　豪、武藤早紀、加藤元博、真田　昌、王　莉莉、南谷泰仁、半下石明、黒川峰夫、千葉　滋、宇都宮與、上平　憲、山田恭暉、山口一成、渡邊俊樹、小川誠司：高密度タイリングアレイを用いた成人 T 細胞白血病における DNA メチル化領域の網羅的解析。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会 2007.10.11-13 横浜

19）中村文彦、武藤早紀、山本　豪、加藤元博、真田　昌、南谷泰仁、石田尚臣、宇都宮與、山田恭暉、上平　憲、山口一成、渡邊俊樹、小川誠司：高密度 SNP マイクロアレイを用いた成人 T 細胞白血病のアレル核型分析。第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会 2007.10.11-13 横浜

20）水落利明、山口一成：HCV 感染による肝外病変：慢性 C 型肝炎患者末梢血 B 細胞の免疫学的解析。第 55 回日本ウイルス学会学術集会　2007.10.21-23　札幌

21）梅森清子、岡田義昭、水沢左衛子、嶋崎典子、米山徹夫、山口一成：血液製剤の安全性向上をめざした新規ウイルス不活化法の開発。第 55 回日本ウイルス学会学術集会　2007.10.21-23　札幌

22）岡田義昭，水沢左衛子，梅森清子，山口一成：BSE 由来プリオンの in vitro 感染系の確立とその応用，第 55 回日本ウイルス学会学術集会　2007.10.21-23　札幌

23）嶋崎典子、清原知子、戸塚敦子、梅森清子、岡田義昭、米山徹夫：加熱および加圧による A 型肝炎ウイルスの不活化法-株間の差異の検討-、第 55 回日本ウイルス学会　2007.10.21-23　札幌

24）小高千加子：Role of thymic vascular smooth muscle cells in lymphangiogenesis following thymocyte apoptosis. 第37回日本免疫学会総会　2007.11.20-22　東京

25）種市麻衣子、田中ゆり子、垣内史堂、内田哲也：リンパ節指向型ペプチドはリポソーム結合抗原に対する免疫応答を顕著に増強する　第 37 回日本免疫学会総会 2007.11.20-22 東京

26）大野悟史、高山俊輔、守屋　修、種市麻衣子、林　秀徳、赤塚俊隆、内田哲也、松井政則：ペプチド結合リポソームによる SARS ウイルス特異的細胞障害性 T 細胞の誘導　第 37 回日本免疫学会総会　2007.11.20-22 東京

27）高木　明、松井政則、大野悟史、Duan Hongying、守屋　修、種市麻衣子、内田哲也、赤塚俊隆：ペプチド表面結合リポソームによる抗ウイルス CD8+T 細胞の誘導　第 37 回日本免疫学会総会　2007.11.20-22 東京

28）永田智也、石垣宏仁、梶野喜一、鹿島祥隆、伊藤　靖、種市麻衣子、内田哲也、小笠原一誠：表面にペプチドを結合したリポソームによるインフルエンザ感染防御.第 37 回日本免疫学会総会　2007.11.20-22 東京

29）田中ゆり子、種市麻衣子、笠井道之、垣内史堂、内田哲也：不飽和脂肪酸からなるリポソームの表面に結合した抗原により誘導されるクロスプレゼンテーションの機序　第 37 回日本免疫学会総会　2007.11.20-22 東京

30）前山順一、後藤紀久、審良静男、山本三郎：TLR9 signal transduction is required for mucosal adjuvanticity of CpG-DNA on diphtheria toxoid. 第 37 回日本免疫学会総会 2007.11.20-22 東京

31）水落利明：HCV 感染により誘導される肝外病変：メモリーB 細胞の動態：第 37 回日本免疫学会学術集会 2007.11.20-22 東京

32) Kasai M: Study on the MHC class II-restricted presentation of thymic self-antigens via autophagy.（オートファジーを介した MHC クラスⅡ拘束性胸腺自己抗原の提示に関する研究）　第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007.11.20-22 東京

33）笠井道之:Autophagy による胸腺上皮細胞質内抗原の提示. 第 17 回 Kyoto T Cell Conference　2007.6

34）岡田義昭：血液製剤の安全性向上目指したプリオン

検出法の研究（教育講演)、第 55 回日本輸血学会、名古屋、2007

35) 岡田義昭、水沢左衛子：BSE 由来プリオンの in vitro 感染系の確立とその応用，プリオン研究会、2007.8 津南町

36) 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、滝澤和也、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パンデミックインフルエンザワクチン(H5N1)の安全性・有効性評価法開発の試み。第 11 回日本ワクチン学会総会　2007.12.8-9 横浜

37) 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、滝澤和也、水谷哲也、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(QuantiGene Plex)法を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み。第 11 回日本ワクチン学会総会 2007.12.8-9 横浜

38) 内藤誠之郎、前山順一、水上拓郎、長谷川秀樹、浜口　功、山口一成：経皮ワクチンに関する研究―高原の皮膚送達促進に夜免疫効果の増強とインフルエンザHAワクチンへの応用―　第 11 回日本ワクチン学会総会 2007.12.8-9 横浜

39) 前山順一、後藤紀久、山本三郎：新規 A 型 CpG-DNA である G9.1 の粘膜アジュバント作用。第 11 回日本ワクチン学会総会　2007.12 横浜

40) 田中（庄司）明子：c-mos 遺伝子の導入によって活性化される外胚葉マーカーを誘導する新規遺伝子　第30回日本分子生物学会年会　2007．12．11-15 横浜

41) 益見厚子、濱口　功、水上拓郎、倉光　球、百瀬暖佳、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 の巨核球分化における役割。第 30 回日本分子生物学会年会　2007．12．11-15 横浜

42) 浜口　功：リボゾーム蛋白異常と造血障害（教育講演）第 49 回小児血液学会 2007.12．仙台

43) 前山順一、小宮貴子、高橋元秀、井坂雅徳、山本三郎：ジフテリアトキソイドに対する新規 A 型 CpG-DNA である G9.1 の粘膜アジュバント作用。第 81 回日本細菌学会総会　2008.3 京都

44) 井坂雅徳、前山順一、南　正明、立野一郎、長谷川忠男：劇症型 A 型連鎖球菌臨床分離株の食菌抵抗性の検討。第 81 回日本細菌学会総会　2008.3 京都

45) 大野悟史、高山俊輔、守屋　修、種市麻衣子、小田洋、林　秀徳、赤塚俊隆、内田哲也、松井政則：SARS ウイルス特異的細胞傷害性T細胞 (CTL) に対するエピトープの決定とペプチド結合リポソームによる CTL の誘導。第 128 回日本薬学会　2008.3.26-28 横浜

46) 水上拓郎・浜口　功・滝沢和也・倉光　球・百瀬暖佳・内藤誠之郎・益見厚子・岡田誠治・山口一成：髄外造血機構を用いた造血幹細胞ニッチの解析。第 145 回日本獣医学会 2008.3．相模原

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、世界規模での情報収集、研究・技術面での国際貢献等、諸外国の研究機関や国内関係機関との連携調整が重要になっている。

国際協力室は、平成 9 年設置後、国立感染症研究所の所掌事務に係る国際的な協力と調査及び研究の調整を行っている。具体的には、外務省、JICA、JICWELS 等から厚生労働省、国立国際医療センター等を通じて依頼される開発途上国等に対する技術協力（外国人研修員の受け入れを含む）の調整、WHO･WPRO 等の国際機関及び外国政府機関等との協力(感染症国際対策のための専門家派遣、保健大臣等要人の受け入れ等を含む)の調整、関係外国研究機関との協力調整等、以下のような業務を実施している。

Ⅰ.諸外国との技術協力の調整

諸外国との技術協力については、外国人研修生の受け入れと、国立感染症研究所からの専門家の派遣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 19 年 4 月から平成 20 年 3 月までに、73 カ国から 422 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 19 年 4 月から平成 20 年 3 月までに、48 カ国 413 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 19 年 9 月 6-7 日　台湾交流協会からの依頼に基づく日台シンポジウムの開催（戸山庁舎においてバイオセーフティとインフルエンザ制圧を題材に）。

(2)　平成 19 年 11 月 22-23 日　日中韓の国立感染症機関（感染研、中国 CDC、韓国 CDC）の第一回共同セミナーの開催（北京において新型インフルエンザ、ワクチン予防疾患、HIV、各国で問題の感染症、等を題材に）。

(3)　平成 20 年 1 月 25 日　ベトナム社会主義共和国国立衛生疫学研究所（NIHE）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）。

２．ベトナムにおける JICA 協力(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 19 年 7 月・11 月・平成 20 年 1 月
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ベトナム NIHE に派遣。

(2)　平成 19 年 7−8 月　バイオセーフティに関する研修のためベトナム NIHE から研修員を受入（２名）。

(3)　平成 19 年 9 月　技術協力中間評価調査団員としてウイルス第三部並びにバイオセーフティ管理室職員をベトナム NIHE に派遣。

(4)　平成 19 年 10-11 月　バイオセーフティ実験室維持管理のためベトナム NIHE から研修員を受入（１名）。

(5)　平成 19 年 11-12 月　Ｐ３を用いた病原体診断のバイオセーフティ実践技術の習得のためベトナム NIHE から研修員を受入（２名）。

(6)　平成 20 年 1 月　鳥インフルエンザの実験室診断能力強化のためウイルス第三部職員をベトナム NIHE に派遣。

3. 中華人民共和国における JICA 協力（ワクチン予防可能感染症対策支援のための技術協力）

(1) 平成 19 年 6 月　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所長及び感染症情報センター職員を派遣（実験室ネットワーク・EPI 疫学サーベイランス）。

(2) 平成 19 年 8 月　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二部職員を派遣（ポリオ実験室）。

(3) 平成 19 年 10 月　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）。

(4) 平成 19 年 12 月　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一部職員を派遣（日本脳炎実験室）。

(5) 平成 20 年 1-4 月　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研修としてウイルス第二部に研修員を受入（ポリオ実験室診断・２名）。

４．エチオピアにおける JICA 協力（ポリオ対策プロジェクトフォローアップ技術協力）

(1) 平成 19 年 5 月　ポリオ対策プロジェクトフォローアップ調査団員としてウイルス第二部職員を派遣（運営・業務改善）。

５．海外の感染症に係るセミナー開催

(1) 平成 19 年 4 月　砂川富正 WHO 本部 ARO/EPR による「世界ポリオ根絶計画のラストスパート：インドにおけるポリオ予防接種キャンペーン」セミナーを開催（感染症情報センター・ウイルス第二部と共催）。

(2) 平成 19 年 8 月　感染研内バイオリスク関係職員による「バイオリスク管理を巡る最近の国際動向について」セミナーを開催。

(3) 平成 19 年 9 月　Dr. Maurizio Barbeschi WHO 本部 EPR 健康安全官による「改正 IHR に基づく WHO のバイオテロ等への対応について」セミナーを開催（感染症情報センターと共催）。

(4) 平成 19 年 10 月　蜂矢正彦 JICA 中国プロジェクト VPDs 派遣専門家による「JICA 中国 VPDs プロジェクト－四川省における麻疹対策の紹介 2007-2008」を開催。

(5) 平成 19 年 11 月　高島義裕 WHO China/EPI 専門家並びに帖佐徹 JICA VPD プロジェクトリーダーによる「中国の EPI と国際協力－現状、課題、展望－」セミナーを開催。

(6) 平成 19 年 11 月　Dr. Eugenia Daniela Balazs WHO Temporary Adviser による「BCG の製造と品質管理向上の変遷」セミナーを開催（細菌第二部と共催）。

(7) 平成 19 年 11 月　Dr. Angela Merianos WHO IHR 下における危機情報収集・評価の責任者による「改訂世界保健規則(IHR2005)に基づく感染症等のアウトブレイクにおける情報収集と対応について」セミナーを開催（感染症情報センターと共催）。

(8) 平成 19 年 11 月　Dr. Maria R. Capobianchi イタリア国立感染症研究所ウイルス部長による「イタリアにおける新興ウイルス感染症研究の現状－特に感染症法における一類感染症とチクングニアへの対応」セミナーを開催（ウイルス第一部と共催）。

(9) 平成 19 年 11 月　Dr. Stefan Wagener カナダ国立細菌学研究所バイオセーフティ専門家による「CEN(European Committee for Standardization /欧州標準化委員会)におけるﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ/ｾｷｭﾘﾃｨ基準策定の動向 BCG の製造と品質管理向上の変遷」セミナーを開催（バイオセーフティ管理室と共催）。

(10) 平成 19 年 11 月　Mr. David Fetherstone WHO 本部プロジェクトリーダーによる「WHO の麻疹根絶計画の現状とウイルス検査室の役割」セミナーを開催（ウイルス第三部と共催）。

(11) 平成 19 年 12 月　Dr. Francis A. Ennis 米国マサチューセッツ医科大学感染症・ワクチン研究センター長による「デング熱・デング出血熱における免疫応答、病態形成機序およびワクチン開発」セミナーを開催（ウイルス第一部・獣医科学部・動物管理室と共催）。

(12) 平成 20 年 1 月　Ｄｒ．Nguyen Tran Hien ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）所長並に Dr. Dang Duc Anh NIHE 副所長による「National Institute of Hygiene and Epidemiology:Present and Future」セミナーを開催。

(13) 平成 20 年 3 月　Dr. Phan Huu Phuc ベトナム国立小児病院 ICU 医師による「実際のインフルエンザ H5N1 症例について―ベトナム国立小児病院での知見―」セミナーを開催（免疫部と共催）。

６．海外の要人来訪

(1)　平成 19 年 4 月　Richard Douglas 米国国防省次官補来所。日本の感染症発生同行調査体制，テロ使用の可能性のある病原体等について意見交換。

(2)　平成 19 年 4 月　王雨峰中国生物技術集団公司総経理並びに朱威上海生物製品研究所長来所。感染症等について情報・意見交換。

(3)　平成 19 年 6 月　Mark Presson 在日米軍司令官付首席医療顧問大佐並びに Joyce Rabens 米国大使館 科学技術環境担当公使来所。感染研における H5N1 検査の Lab. Capabilities，新型インフルエンザ発生時の在日米軍との協力の可能性等について意見交換。

(4)　平成 19 年 7 月　李昌珪 韓国高麗大学保健科学大学元学長来所。意見交換。

(5)　平成 19 年 7 月　ハーガン米国厚生省副長官代行来所。新型インフル対策について意見交換。

(6)　平成 19 年 10 月　PhD, Bayu　Krisnamurthi　ｲﾝﾄﾞﾈｼｱ国家鳥ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ対策委員会事務局長来所。鳥ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ対策等について意見交換。

(7)　平成19年11月　呉樹民前総統府顧問（台湾医師会会長）来所。感染症対策等について意見交換。

(8)　平成 19 年 11 月　Andrea Crunkhorn 大佐米陸軍医療局・サムス准将米陸軍ヘルスクリニック司令官並びに Nancy Vause 大佐米陸軍太平洋環境衛生技術局司令官来所。パンデミックインフルエンザ対策について意見交換。

(9)　平成 19 年 11 月　Dr. Sakarindr Bhumiratana タイ国家科学技術開発庁長官来所。感染症対策について意見交換。

(10)　平成 19 年 11 月　MOON JIN WOONG 国立仁川検疫所長来所。感染症情報収集･分析･提供について意見交換。

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 との協力を中心に行っており、関係の専門家会議等に適宜専門家を派遣。

２．その他

二国間科学技術協力協定に基づく協力プロジェクト（スイス等)、実地疫学専門家養成コースに係る調整の他、厚生労働省結核感染症課、JICA、国立保健医療科学院、国立国際医療センター、等との国際協力連絡・調整等を行っている。

別表１　　国際協力室

平成１９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〔５国〕**	
インド	1	オーストラリア	2
インドネシア	13	キリバス	1
韓国	50	ニュージーランド	1
カンボジア	4	パプアニューギニア	3
シンガポール	2	バヌアツ	2
スリランカ	2		
タイ	5	**北米地域〔２国〕**	
台湾	19	アメリカ合衆国	36
中国	118	カナダ	1
ネパール	1		
パキスタン	4		
バングラデシュ	5	**中南米地域〔１６国〕**	
フィリピン	8	ウルグアイ	2
ベトナム	17	エルサルバドル	1
マレーシア	2	グアテマラ	4
ミャンマー	8	コスタリカ	1
モンゴル	2	コロンビア	1
ラオス	7	ジャマイカ	4
		スリナム	2
中東地域〔２国〕		ドミニカ共和国	1
イエメン	1	ニカラグア	2
パレスチナ	1	ハイチ	1
		パナマ	3
アフリカ地域〔２３国〕		ペルー	1
ウガンダ	3	ブラジル	1
エジプト	3	ボリビア	2
エチオピア	2	ホンジュラス	4
ガーナ	2	メキシコ	1
ガボン	1		
ケニア	5		
コートジボワール	3	**ヨーロッパ地域〔７国〕**	
コンゴ民主共和国	1	アルバニア	1
ザンビア	3	イタリア	2
シエラレオネ	1	ウズベキスタン	1
スーダン	2	キルギス	2
タンザニア	5	スイス	2
トーゴ	1	ドイツ	1
ナイジェリア	12	ルーマニア	2
ニジェール	1		
ブルキナファソ	5		
ブルンジ	1		
ベナン	2		
ボツワナ	2		
マダガスカル	3		
マラウイ	1		
マリ	4	国　数　計	73
ルワンダ	1	人　数　計	422

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

年月日		国籍等	氏名	所属先	受入担当	研修名等(依頼元)
H19.4.2	～4.16	中国	楊子峰	広州医学院第一付属医院	ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA中国国別研修「病原体検索技術(1)」研修員 (JICA)
19.4.2	～4.16	中国	高 俊	広州医学院第一付属医院	細菌第二部 生物活性物質部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA中国国別研修「病原体検索技術(2)」研修員 (JICA)
19.4.6	～20.3.31	中国	LI XIAOQUAN	広州市疾病予防控制中心	細菌第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	日中笹川医学研究者制度研究者「食物由来病原菌の病原遺伝子、その検出及び分子的タイプ分け、及び急性流行の研究」 (日中医学協会)
19.4.6	～20.3.31	中国	LIU LANJUN	成都生物制品研究所抗体研究室	ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	日中笹川医学研究者制度研究者「E型肝炎ウイルスの分子ウイルス学とワクチンの研究」 (日中医学協会)
19.4.9		中国	WANG SHUCHENG	遼寧省疾病預防控制中心	感染症情報ｾﾝﾀｰ ウイルス第二部	中国遼寧省疾病預防控制中心主任技師他日本医療視察団 (日中協会)
			JIANG HONGYAN	錦州市疾病預防控制中心		
			LI TIEYAN	阜新市疾病預防控制中心		
			YUAN XIAOPENG	遼陽市疾病預防控制中心		
			XU JIANFENG	盤錦市疾病預防控制中心		
			LUO LI	鞍山市疾病預防控制中心		
			ZHOU YI	撫順市疾病預防控制中心		
			WANG GIOHUA	朝陽市疾病預防控制中心		
			YAO WENQING	遼寧省疾病預防控制中心		
			WU ENTAO	営口市疾病預防控制中心		
			ZHAI WEI	本渓市疾病預防控制中心		
			LI TAIMIN	葫芦島市疾病預防控制中心		
			LI YANJIE	丹東市伝染病医院		
			ZHOU WU	錦州市伝染病医院		
			ZHANG FENGSHAN	盤錦市伝染病医院		
			DAI CAIXIA	営口市伝染病医院		
			ZHAO BOFEI	葫芦島市伝染病医院		
			ZHAO GANG	大連医科大学附属第一医院		
			LIN JINLONG	葫芦島市中心医院		
			XU RAN	本渓市伝染病医院		
			WANG YONG	鉄嶺市第二人民医院		
			YU CHENG	遼寧省人民医院		
			ZHANG YONGGANG	丹東市疾病預防控制中心		
			WANG SHOUWEI	朝陽市伝染病医院		
			WANG QING	錦州医学院附属第一医院		
			ZHAO CHENGYE			
			LUO WEI	撫州市伝染病医院		
			CHEN ZONGPING	阜新市伝染病医院		
			HE XIN	遼寧中医薬大学附属医院		
			ZHAI DONGHUI	遼寧省発展改革委員会		
			TANG CHENGHAI	日元貸款遼寧衛生項目管理辦公室		
			YU DI			
			LIANG YUHENG			
			SHU QIANG	中国医科大学附属第一医院		
			LI FENGTONG	鉄嶺市疾病預防控制中心		
			DENG FEI	遼寧省国際投資促進服務中心		
19.4.9	～7.6	マレーシア	Tan Siew Hwa	University of Malaya	昆虫医科学部	「ハエの分類学等に関する研修」 (University of Malaya)
19.4.16	～4.24	シンガポール	LIN Tzer Pin Raymon Valentine	National Public Health Laboratory, Ministry of Health	ウイルス第三部 感染症情報ｾﾝﾀｰ ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	WHOフェローシップ研修「インフルエンザにおける疫学と研究能力増進」 (WPRO)
19.4.19		米国	Richard Douglas	米国国防省	所長 副所長 企画調整主幹 感染症情報ｾﾝﾀｰ 感染病理部 獣医科学部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	米国国防省次官補他来訪、意見交換、施設見学 (外務省)
			Laura Gross			
			Elizabeth Ottaway			
			Jean Reed			
			William Loeffler			
			Richard Love			
			Patrick Sharon			
			Dave Deyak			
			Jonathan Newmark			
			Jeff Brodeur			
			Andrew Walsh			
			Douglas Lyons			
			Sean Asbury			
			Paul Vosti			

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

19.4.20		中国	王雨峰 曾 兵 徐立猛	中国生物技術集団公司	所長 細菌第二部	中国生物技術集団公司総経理、上海生物製品研究所所長他来訪、意見交換・情報交換、施設見学 (中国上海生物製品研究所)
			朱 威 李勝彩 陳 則	上海生物製品研究所		
19.4.24		韓国	KIM,JIN=HEE	WONJU県保健所	感染症情報ｾﾝﾀｰ	大韓民国江原道庁保健衛生課職員研修「日本の感染症サーベイランスについて」,施設見学 (韓国江原道庁保健衛生課)
			LEE,HYE-SUK	KANGRENG県保健所		
			SEON,JEONG-MI	HONGCHENG県保健所		
			CHOI,HYEON,SUK YOON,SEONG-BEOM	HOENGSEONG県保健所		
			CWON,HYEON-JU SEO,SUK-MIN	YEONGWOL県保健所		
			JEOUN,SUN-YOUNG	JEONG SEON県保健所		
			KIM,HYUN-JOO PARK,WON-JUN	HWACHEON県保健所		
			LIM,HYUN-JEONG	GOSEONG県保健所		
			KIM,GEE-WHAIN	YANGYANG県保健所		
19.5.14		ウガンダ	DAVID NUWAMANYA	保健省ﾏｻｶ地域病院	感染症情報ｾﾝﾀｰ	JICA集団研修「保健衛生管理セミナー」 (国立保健医療科学院)
		ウズベキスタン	ABDIEV SHAVKAT	救急医療研究ｾﾝﾀｰ		
		カンボジア	SREY TENG	保健省感染症対策部		
			CHEA SOKHIM	保健省		
			LON SAY HENG	ﾏﾗﾘｱ研究ｾﾝﾀｰ		
		キルギス	DJENALIEVA AINURA	ｷﾙｷﾞｽ国際大学付属医科国際高等学校上級講師		
			SYDYGALIEVA BERMET	ｷﾙｷﾞｽ国社会政策関連委員会		
		ケニア	STEPHEN OTIENO SEWE	ﾆｬﾝｻﾞ州立病院		
		ジャマイカ	O'NEIL ANTHONY	保健省		
		スリナム	HERMAN A.JINTIE	ｽﾘﾅﾑ精神医療ｾﾝﾀｰ		
		タイ	YIMRATTANABO WON PATCHAREE	ﾌﾞﾘﾗﾑ病院		
		タンザニア	ZEBINA MSAI MSUMI	保健福祉省		
			FLORAH BONIFACE	ﾘｸﾞﾗ地域病院		
		中国	ZHAO QIAO-NA	中国ﾘﾌﾟﾛﾀﾞｸﾃｨﾌﾞﾍﾙｽ・家庭保健研修ｾﾝﾀｰ		
			LIU SONGTAO	中国保健省		
			WANG ZELIN	日中友好病院		
		バヌアツ	CHRISTOPHER TARI	小児科研修医		
		パプアニューギニア	BERNARD BAL MAIMA	ｶﾞﾙﾌ州政府保健局		
		バングラディシュ	HUSAIN MUHAMMAD	保健省		
			RASHID HARUN OR	保健・家族福祉省		
		ベトナム	NGUYEN EHI	保健省		
		ボリビア	MARCELA TATIANA	ﾗﾊﾞｽ県保健局		
		ホンデュラス	LINA MARIA BUSTILLO STREBER	保健省		
		マダガスカル	IRENEE JURIE NORO	保健・家族計画省		
		マリ	SIDI YEYA CISSE	保健省		
			HAOUA KEITA DEMBELE	保健省		
		ミャンマー	KYAW MYINT TUN	ﾔﾝｺﾞﾝ医科大学		
			PA PA SOE	ﾏｸﾞｳｪｲ医科大学		
		モンゴル	SEREENEN ENKHBOLD	保健省		
		ラオス	SUPHAB PANYAKEO	保健計画・予算局		
			SOMKIAT VORARATH	ﾁｬﾝﾊﾟｻｰｸ県保健局		
			NALONGSACK SOODSADA	ﾁｬﾝﾊﾟｻｯｸ地域病院		

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

19.5.25		インド	Pannikar	WHOﾊﾝｾﾝ病対策責任者	所長 副所長 企画調整主幹 感染症情報ｾﾝﾀｰ 生体防御部 細菌第一部	WHOハンセン病対策責任者来訪、意見交換及び施設見学 (WHO)
19.5.28		中国	XU ZENGNIAN	河北医科大実験動物学部	動物管理室	中国動物実験施設視察団、施設見学，意見交換 (順天堂大学)
			HAN LINGXIA	中国農業科学院		
			FENG JIE	上海実験動物研究中心		
			TIAN HUANCHENG	中国輻射防護研究院		
			CHEN QIAOMEI	上海生物制品研究所		
			LI XUEYONG	中国医科学院薬物研究所		
			YAN SHUNSHEN	新彊実験動物研究中心		
			LIU YUNBO	中国医科学院		
			LI JUNYAN	中国疾病預防控制中心		
			LIU TIANFU	山西医科大学実験動物中心		
			YIN MING	長城医院		
			XU CHANGXING	中国国家標準化管理委員会		
			SHAO YIXIANG	南通大学実験動物中心		
19.5.29	～5.30	ケニヤ	Edna Wairimu Kamau	ﾅｲﾛﾋﾞ大学（医学）	血液・安全性研究部	第5回「AIDS/ATLの疫学及び対策セミナー」研修、施設見学 (国立病院機構熊本医療センター)
		ｺｰﾄｼﾞﾎﾞﾜｰﾙ	Begon Leye Evelyne Ahime	医学部（ｱﾋﾞｼﾞｬﾝ）		
		中国	Mei- Rong Xie	福建省疾病対策ｾﾝﾀｰ		
		ナイジェリア	Abjodun Olufemi	国立職業指導庁		
			Jibril Yahya Mehammed	ｱﾌﾞｼﾞｬ国立病院		
		ハイチ	Rodney Destine	ｸﾞｪｽｷｵｾﾝﾀｰ		
		ブラジル	Claudio Viveiros de Carvalho	保健局		
		ホンジュラス	Gabriela Maria Cane Pineda	ｴｽｷｭｴﾗ病院統合治療ｾﾝﾀｰ		
		ミャンマー	Aye Win	ﾀﾞｳｪｲ総合病院		
19.6.1	～6.2	オーストラリア	Michael Glenn Catton	Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 ウイルス第一部 感染病理部 感染症情報ｾﾝﾀｰ	WPROバイオセーフティ専門家会議 (WPRO)
			Antony Della-Porta	Biosecurity and Biocontainment International Consultants Pty Ltd		
		シンガポール	Ling Ai Ee	Biosafety,Safety Network Safety Network Level 2		
		マレーシア	Chua Kaw Bing	Ministry of Health		
		スイス	May Chu	BDP/EPR/CDS/WHO		
		フィリピン	Peter Galace	Communicable Disease Surveillance and Response,WHO		
			Nerissa Dominguez	Office of the WHO Representative Philippines		
			Meredith Bradbury	Communicable Disease Surveillance and Response,WHO		
			Takeshi KASAI	Communicable Disease Surveillance and Response WHO		

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

19.6.11	～7.13	中国	QUI,Li-Pei	Li HUI LI Hospital	エイズ研究センター バイオセーフティ管理室	JICA集団研修コース「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)
		ガボン	MENYE Blaise	Biologist		
		ジャマイカ	WILLIANS Cynthia Dotty	National Public Health Laboratory		
			NEIL Janet Claudia	Kamuzu Central Hospital		
		マラウイ	CHABWERA Chrisropher	National Public Health Laboratory		
		ミャンマー	HEIN Myo Htet	Department of Medical Reserch		
		パナマ	MORENO DE LEON Cynthia	Children's Hospital		
		フィリピン	RODRIGUEZ Arlito	San Lazaro Hospital		
		トーゴ	DAGNRA Anoumou Yaotse	National Centre of HIV and Sexually Transmitted Diseases		
		ウルグアイ	GONZALEZ ELGUE Maria Victoria	Centro Hospitario Pereira Rosseu		
19.6.12		フィリピン	Sacorro Lupisan	国立熱帯医学研究所	副所長 獣医科学部 バイオセーフティ管理室	フィリピン国立熱帯医学研究所副所長等来訪、意見交換、施設見学 (東北大大学院)
			Betsy Miranda	元WPRO狂犬病担当		
19.6.22		ボリビア	MARCELA TATIANA FLORES	ラパス県保健局	ハンセン病研究センター	JICA「保健衛生管理セミナー」研修 (国立保健医療科学院)
		中国	ZHAO QIAO-NA	中国リプロダクティブヘルス・家庭保健研修センター		
		ホンデュラス	LINA MARIA BUSTILLO STREBER	保健省		
		ケニヤ	STEPHEN OTIENO SEWE	ニャンザ州立病院		
		ラオス	SUPHAB PANYAKEO	保健計画・予算局		
			SOMKIAT VORARATH	チャンパサーク県保健局		
		マダガスカル	IRENEE JURIE NORO	保健・家族計画省		
		マリ	SIDI YEYA CISSE	保健省計画・統計部		
			HAOUA KEITA DEMBELE	保健省		
		スリナム	HERMAN A.JINTIE	スリナム精神医療センター		
		タンザニア	ZEBINA MSAI MSUMI	保健福祉省		
			FLORAH BONIFACE	リグラ地域病院		
		ウガンダ	DAVID NUWAMANYA	保健省マサカ地域病院		
		カンボジア	SREY TENG	保健省		
		ジャマイカ	O'NEIL ANTHONY	保健省		
		パプアニューギニア	BERNARD BAL MAIMA	ガルフ州政府保健局		
		バヌアツ	CHRISTOPHER TARI	小児科研修医		
19.6.26		米国	Mark Presson	在日米軍	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	米国大使館並びに在日米軍関係者来訪、意見交換 (米国大使館・在日米軍)
			Scott Warner			
			Joyce Rabens	米国大使館		
			Thomas Wolf			
19.7.4		中国	He,Bao-Ping	Tianshui Qinzhou District People's Government	感染症情報センター バイオセーフティ管理室	JICA国別研修中国「HIV/エイズ対策視察型研修」甘粛省訪問団 (JICA)
			LI,Huan-Zhen	the Government of Qingshui County Gansu Province		
			LIU,Bao-Lu	Tianshui Center for Disease Control and Prevention		
			YANG,Lei	The People's Government of Dunhuang		
			LI,Xiao-Yun	Suzhou Distnict CDC		
			HUANG,Liang-Ping	Public Health Breau of Lanzhou		
			ZHANG,Xue-Feng	Baiyin Board of Health		
			YAO.Jin-Wen	Gansu Provincial Centre for Diseases Control and Prevention		

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

19.7.9		韓国	李　昌珪	韓国高麗大学保健科学大学元学長	所長 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	韓国高麗大学保健科学大学元学長来訪、意見交換、施設見学 (東京大学医科学研究所)
19.7.9		エチオピア	JIRU Haile Ayana	Oromia Regional Health Bureau	ウイルス第二部 ウイルス第三部	JICA集団研修「第4回ワクチン予防可能疾患の疫学及び対策セミナー」 (国際保健医療交流センター)
		マダガスカル	RAKOTONDRAZAKA Celestin	Service de Vaccination		
		ニジェール	Harouna A.Yacouba	EPI Director		
		ナイジェリア	OKPOSEN Bassey Bassey	National Programme on Immunization		
		パキスタン	BALOCH Muhammad Hussain	Provincial Health Directorate,Quetta		
			Said Ali KHAN	District of Shangla at Alpurai NWFP		
		シエラレオネ	SMITH Samuel Juana	Ministry of Health and Sanitation		
		イエメン	AL-MEDHWAHI Ali Ahmed	Ministry of Public Health and Population		
19.7.11		米国	ｴﾘｯｸ・ﾊｰｶﾞﾝ	米国厚生省	所長 感染症情報ｾﾝﾀｰ ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	米国厚生省副長官代行等来訪、意見交換、施設見学 (米国大使館)
			ﾌﾞﾗｲｱﾝ・ﾊﾘｿﾝ			
			ﾆﾅ･ﾜﾄﾞﾜ			
			ﾄｰﾏｽ･ｳﾙﾌ	米国大使館		
19.7.17	～8.3	中国	高　雪軍	蘭州生物制品研究所	所長 細菌第二部 動物管理室 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	中国蘭州生物制品研究所研修員 「生物学的製剤の品質管理研修」 (蘭州生物制品研究所)
			李　佳林			
19.7.31 及び8.21	～8.3 ～8.31	ベトナム	NGUYEN TRONG PHU	National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE)	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA国別研修ベトナム「バイオセーフティ」研修 (JICA)
			VU THI HANG			
19.8.8	～9.4	ベトナム	Nguyen Thi Hien Thanh	National Institute of Hygiene and Epidemiology(NIHE),Department of Virology	ウイルス第二部	National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE)研究者による「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)
19.8.28	～9.27	インドネシア	Vivi Setiawaty	Researcher,National Institute of Health Research and Development	ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 免疫部	JICAインドネシア国別研修「鳥インフルエンザ・ウイルス中和抗体の測定法」 (JICA)
			PANGESTI Krisna Nur Andriana			
19.9.6	～9.7	台湾	Wen-Yi Shih	Center for Disease Control,Taiwan	所長 副所長 企画調整主幹 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 ウイルス第一部 ウイルス第三部 感染病理部 感染症情報ｾﾝﾀｰ	日本－台湾 感染症シンポジウム 「インフルエンザ制圧とバイオセーフティ」参加、意見交換等 (台湾CDC)
			Ming-Tsan Liu			
			Ho-Sheng Wu			
			Chen-Fu Yang			
			Yu-Fen Ke			
			Pele Choi-Sing Chong	National Health Research Institutes,Taiwan		
			(John) Tsu-An Hsu			
			Ti-Lin Kuo	Taiwan Biological Safety Association		
			Hsing-Ming Chen	Institute of Preventive Medicine		
			Yu, Alice Lin-Tsing	Genomics Research Center, Academia Sinica		
			Ching-fa Yeh	台北駐日経済文化代表處科学技術部		
19.9.7		ナイジェリア	Okafor Anayo Anthony	保健福祉部	ｴｲｽﾞ研究ｾﾝﾀｰ	JICAナイジェリア「HIV感染予防対策研修コース」研修員来訪 (北海道大学)
			Yusuf Aishatu	連邦保健省		
			Deme Kurt Sani	国立輸血ｻｰﾋﾞｽ		
			Ogbonnaya Lawewnce Ulu	ｴﾎﾞﾆｰ州立大学教育病院		
			Audu Ayuba Kudi	ｺﾞﾝﾍﾞ州連邦医療ｾﾝﾀｰ		
			Moses Chikezie	ｻﾝﾀﾓﾆｶ病院		

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

19.9.7		アルバニア	Arjan Harxhi	大学病院ﾃｨﾗﾅｾﾝﾀｰ	感染症情報ｾﾝﾀｰ ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 ウイルス第二部 血液・安全性研究部	JICA途上国医師のための集団研修コース第5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)
		コートジボワール	Gaha Zisson Pascal	ﾄｩﾓﾃﾞｨ総合病院		
		エジプト	Issa Amal Fathi Abdel	ｽｴｽﾞ ｶﾅﾙ大学医学部		
			El Kassas Mohamed	国立肝臓病・熱帯医学研究所		
		スリランカ	Wijesuriya Hetti	保健省		
			Risintha Gayan	保健医療栄養省		
		ナイジェリア	Biya Oladayo	保健省		
		ネパール	Prakash Khatiwada	ﾍﾞｰﾘ地区病院		
		ブルキナファソ	Ba Absatou	国立公衆衛生研究所		
		ミャンマー	Tin Tin Wynn	医学研究部		
19.9.20	～9.21	ドイツ	Sigrun Roesel	WHO/WPRO	所長 ウイルス第二部 ウイルス第三部	ポリオ実験室査察 (WHO・WPRO)
		フィリピン	Fem Paladin	WHO/HQ		
19.9.21		イタリア	Maurizio Barbeschi	Dept. of Epidemic and Pandemic Alert and Response,World Health Organization	感染症情報ｾﾝﾀｰ	感染研セミナー「改正IHRに基づくWHOのバイオテロ等への対応について」講演、意見交換等 (WHO)
19.10.10	～20.1.18	インドネシア	Rifqiyah Nur Umami	ｲﾝﾄﾞﾈｼｱ科学院	ウイルス第二部	日本学術振興会二国間交流事業インドネシア(LIPI)との共同研究 (日本学術振興会)
19.10.12		ドミニカ共和国	Vianney Beltre Ramirez Manuela	Center for Friendship and Medical Education	感染症情報ｾﾝﾀｰ	JICA「衛生環境分析技術者コース」研修 (沖縄県衛生環境研究所)
		タンザニア	Emmanuel Naftal Gwae	Ministry of Health and Social Welfare		
		ベトナム	Binh Thi Ta	National Institute of Occupational and Environmental Health		
19.10.15	～10.17	中国	張　潔	遼寧省疾病予防ｺﾝﾄﾛｰﾙｾﾝﾀｰ	感染症情報ｾﾝﾀｰ ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 動物管理室 感染病理部 放射能管理室	中国遼寧省CDC研究者研修 (富山衛生研究所)
19.10.24		コンゴ民主共和国	ALAMA IBA Nicoles	医療ｾﾝﾀｰCMG(RIGHINI)	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」研修 (国際保健医療交流センター)
		ブルキナファソ	OUEDRAOG0 Hamidou	保健省		
			COMBARY Patrice Ali	保健省		
		ブルンジ	NIZIGIYIMANA Dionis	保健省		
		ベナン	DJENONTIN Minton Eude Edith	保健省		
			AISSAN Julien Codjovi	保健省		
		ルワンダ	NGABO Fidele	保健省		
19.10.29		中国	Zhang Yurun	広東省疾病対策予防ｾﾝﾀｰ	感染症情報ｾﾝﾀｰ	中国広東FETP関係者来所、情報・意見交換、サーベイランスシステム見学 (広東省疾病対策予防センター)
			Yi Xuefeng			
			Luo Huiming			
			Song Tie			
			Zheng Huizhen			
			Li Jiezhong			
			Li Jian			
			Sun Limei			
			Liu Yufei	広州市疾病対策予防ｾﾝﾀｰ		
			Huang Liqun	珠海市疾病対策予防ｾﾝﾀｰ		
19.10.29	～11.30	ベトナム	Tran Tuan Dung	ﾍﾞﾄﾅﾑ国立衛生疫学研究所(NIHE)	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	「バイオセーフティ管理技術の習得」研修 (JICA)
19.10.30		インドネシア	Bayu Krisnamurthi	ｲﾝﾄﾞﾈｼｱ国家鳥ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ対策委員会	所長 感染症情報ｾﾝﾀｰ ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 ウイルス第三部	インドネシア鳥インフルエンザ対策委員長来所、意見交換、施設見学 (外務省)

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

19.11.7		台湾	SHUH-MIN WU SHIH-CHIA LIN MING-JUINN LI MENG-CHIEH SHEN	Foundation of Medical Professionl Alliance in Taiwan	所長 企画調整主幹	台湾医界聯基金会会長他来訪、意見交換 (台湾医界聯基金会)
			FU-CHEN LO	Association of East Asian Relations		
			SHYH-DYE LEE	National Taiwan University Hospital		
			YOUNG-SUN LIN	Development Center for Biotechnology		
19.11.7	～11.8	ルーマニア	Eugenia Daniela	WHO Temporary Adviser	所長 副所長 企画調整主幹 細菌第二部 動物管理室	WHOテンポラリーアドバイザー来所、情報・意見交換、感染研セミナー講演「BCGの製造と品質管理向上の変遷」 (WHO)
			Lixandru Mariana Stefania	National Institute of Research-Deveropment for Microbiology and Immunology "Cantacuzino		
19.11.13		インドネシア	Andi Asnayanti	食品医薬品品質管理研究所	細菌第二部 動物管理室	JICA「品質管理技術コース(DPTワクチン)」研修 (阪大微生物病研究会観音寺研究所)
		タイ	SUPASANSATORN Apichai	保健省医科学局		
		パキスタン	RAZA Naeem	ｲｽﾗﾏﾊﾞｰﾄﾞ国立衛生研究所		
		ベトナム	DO Thi Diep Lan	保健省ﾜｸﾁﾝ生物製剤研究所		
		ミャンマー	YI Myint Thet	食品医薬局		
19.11.15		メキシコ	Jazek Escobar	国立メキシコ大学医学部	免疫部 感染症情報ｾﾝﾀｰ	長崎大学熱帯医学研究所JICA研修員感染症対策、サーベイランス研修 (長崎大学熱帯医学研究所)
19.11.15		イタリア	Maria R. Capobianchi	Laboratory of Virology,National Institute for Infectious Diseases,L.Spallanzani	所長 企画調整主幹 ウイルス第一部 昆虫医科学部	イタリア国立感染症研究所研究者来訪、情報・意見交換、感染研セミナー講演「イタリアにおける新興ウイルス感染症研究の現状」 (イタリア国立感染症研究所)
19.11.15		カナダ	Stefan Wagener	National Microbiology Laboratories, Wpg, Canada	所長 ウイルス第一部 感染病理部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	バイオセーフティ専門家来訪、情報・意見交換、感染研バイオセーフティセミナー講演「CEN/欧州標準化委員会)におけるバイオセーフティ/セキュリティ基準策定の動向」 (National Microbiology Laboratories, WPG)
19.11.15		スイス	Angela Merianos	Department of Epidemic and Pandemic Alert and Response,WHO本部	感染症情報ｾﾝﾀｰ	感染研セミナー講演「改訂世界保健規則(IHR2005)に基づく感染症等のアウトブレイクにおける情報収集と対応について」 (WHO)
19.11.15		ベトナム	Dang Duc Anh	ﾍﾞﾄﾅﾑ国立衛生疫学研究所(NIHE)	所長 企画調整主幹 細菌第二部	ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)副所長他来訪、情報・意見交換等 (ベトナム国立衛生疫学研究所)
			Phan L.T.Huong			
19.11.19	～12.14	ベトナム	Hoang Thi Thu Ha	Hygiene and Epidemiology	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 動物管理室 ｴｲｽﾞ研究ｾﾝﾀｰ 細菌第一部 細菌第二部 獣医科学部	JICA国別研修「ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)能力強化計画プロジェクト」 (JICA)
			Nguyen Vi Thuy			
19.11.26		米国	Adnrea Crunkhorn	ｻﾑｽ准将米陸軍ﾍﾙｽｸﾘﾆｯｸ	所長 副所長 企画調整主幹 感染症情報ｾﾝﾀｰ ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	在日米陸軍座間キャンプ医療本部関係者来訪、意見交換、施設見学 (在日米陸軍座間キャンプ医療本部)
			Eric Morgan			
			Bob Jones			
			Nancy Vause	米陸軍太平洋環境衛生技術局		
			Sandra Alvey			
			Steven Knapp			
			Simon Strating			
			Jolanta Jacobs			
			Jason Miller			
			Jian Guan			
			Bernice Ettore			
			William Mortley			
			Suzuki	米陸軍座間ｷｬﾝﾌﾟ医療本部		
19.11.26	～11.27	ニュージーランド	David Fetherstone	Gloval Measles Laboratory Network ,WHO,Geneve	所長 ウイルス第二部 ウイルス第三部	WHO麻疹根絶計画ウイルス検査部担当官来訪、査察、感染研セミナー講演「WHOの麻疹根絶計画の現状とウイルス検査室の役割」 (WPRO)
		韓国	Youngmee Jee	WHO,Manila		

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

19.11.27 及び12.5	～11.29	インドネシア	Lia Marliana Nani Handayani	National Agency of Drug and Food Control	細菌第二部	JICA国別研修(インドネシア)「医薬品情報および医薬品管理/医薬品製造管理」 (JICA)
			SUGIANTO Muhammad Taufil Sari Mutiarani	Ministry of Health		
19.11.29		韓国	MOON JIN WOONG	国立仁川(ｲﾝﾁｮﾝ)検疫所	感染症情報ｾﾝﾀｰ ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	韓国国立検疫所検疫官来訪、感染症情報の収集・分析・提供に関する研修、施設見学 (韓国国立検疫所)
			CHOI EUN SUK	国立仁川(ｲﾝﾁｮﾝ)空港検疫所		
			JEON IN SOO	国立仁川(ｲﾝﾁｮﾝ)空港検疫所		
			LEE EUN JOO	国立釜山(ﾌﾟｻﾝ)検疫所		
			KIM JAE SUK	国立仁川(ｲﾝﾁｮﾝ)検疫所		
			KANG YOUNG GU	国立群山(ｸﾝｻﾝ)検疫所		
			CHO YOUNG JA	国立木浦(ﾓｸﾎﾟ)検疫所		
			DO OK SOOK	国立麗水(ﾖｽ)検疫所		
			NO SOO JA	国立統営(ﾄﾞﾝﾖﾝ)検疫所		
			CHOI GYEONG HAN	国立馬山(ﾏｻﾝ)検疫所		
			PARK YOUNG CHUN	国立金海(ｷﾑﾍ)検疫所		
			HWANG SUN MI	国立蔚山(ｳﾙｻﾝ)検疫所		
			GO PAL GON	国立浦項(ﾎﾟﾊﾝ)検疫所		
			JANG JEONG SOON	国立東海(ﾄﾝﾍ)検疫所		
			SO SUK HO	国立済州(ﾁｪｼﾞｭ)検疫所		
			KIM SUNG HEE	疾病管理本部検疫支援チーム		
19.11.30		タイ	Sakarindr Bhumiratana	National Science and Technology Development Agency	所長 副所長 企画調整主幹 ウイルス第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 動物管理室	タイNSTDA長官来訪、意見交換、施設見学 (放射線医学総合研究所)
			Sirirurg Songsivilai			
19.12.3	～12.18	インドネシア	MUHAMMAD NASRUM Massi	Ministry of Health and Family Welfare	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染症情報ｾﾝﾀｰ 動物管理室 感染病理部 病原体ｹﾞﾉﾑ解析ｾﾝﾀｰ	JICA地域別研修「アジア地域新興感染症バイオハザード対策」 (JICA)
		タイ	RATCHTRACHEN CHAI Orn-Anong	National Institute of Health,Department of Medical Sciences		
		中国	Wang,Lei	Chinese Center for Disease Control and Prevention		
		ﾊﾞﾝｸﾞﾗﾃﾞｨｼｭ	JAMIL Khondoker	Ministry of Health		
		ミャンマー	THI Thi Tun	National Health Laboratory		
		ラオス	PHOUTHAVANE Traykhouane	Center for Laboratory & Epidemiology.MOH		
			VONGSOUVATH Manivanh	Mahost Hospital		
19.12.7		米国	Francis A.Ennis	University of Massachusetts Medical School	所長 企画調整主幹 ウイルス第一部 獣医科学部 昆虫医科学部 動物管理室	マサチューセッツ医大感染症･ワクチン研究センター長来訪、意見･情報交換、感染研セミナー講演「デング熱･デング出血熱における免疫応答、病態形成機序及びワクチン開発」 (マサチューセッツ医科大学)
19.12.11		韓国	Yoon Young Ja	Welfare Policy Division Gyeonggi Provincial Government	感染症情報ｾﾝﾀｰ	大韓結核協会 京畿道(キョンギドウ)支部 海外研修団来訪、感染症サーベイランス等研修 (大韓結核協会)
			Leem Ok Kyeng			
			Park Myung Sab			
			Kim Jin Hee			
			Jang Seon Soon			
			Kim Sook Ja			
			Kang Mi Ae			
			Kim Eun Sook			
			Park Sung Goun			
			Lee Hung Suk			
			mountain Kim	TOUR WELL		
			Yoon Young Tae	SEIWA		
19.12.18		中国	銭 元太	安徽省衛生庁人事処	感染症情報ｾﾝﾀｰ	中国安徽省保健衛生研修団来訪 (中国安徽省)
			陳 根旺	安徽省肺科病院		
			方 化龍	安徽省監査庁		
			黄 発源	安徽省疾病予防制御ｾﾝﾀｰ		
			劉 潔	安徽省結核病防治研究所		
			王 慶	安徽省肺科病院		
			姜 瑞平	六安市衛生局		
			余 龍	六安市人民医院		
			張 良明	合肥市伝染病医院		
			胡 中旺	合肥市疾病予防制御ｾﾝﾀｰ		
			呉 勇	蕪湖市第三人民医院		
			王 勇	銅陵市疾病予防制御ｾﾝﾀｰ		
			潘 金鳳	銅陵市第二人民医院		
			程 玉杰	安慶市衛生局		
			楊 燦華	安慶市伝染病医院		

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

19.12.20		ウルグアイ	CORDEIRO Garcia Nicolas	Facultad de Medicina,Univiersidad de la Republica	細菌第二部 業務管理課	JICA集団研修「第4回薬剤耐性病原体の実験室診断(Ⅱ)コース」 (JICA)
		キリバス	TOATU Teweia	Ministry of Health &Medical Services		
		中国	Huang Ying	The First Affillated Hospital of Dedougou		
		パレスチナ	Qawariq Salah N.A.	Ramallah Governmental Hospital		
		バングラディシュ	KHAN Tarek Mahbub	Sir Salimullah Medical College		
		ブルキナファソ	TRAORE Drissa	Regional Hospital of Anhui Medical University		
		ボツワナ	THUBUKA Janet Ashaie	Nyangabawe Hospital		
			TAWANANA Ephraim			
19.12.20	～20.12.26	インドネシア	Andi Utama	ｲﾝﾄﾞﾈｼｱ科学院	ウイルス第二部	日本学術振興会二国間交流事業インドネシア(LIPI)との共同研究 (日本学術振興会)
20.1.7	～1.25	中国	Hu Yu-shan	広州市疾病予防ｺﾝﾄﾛｰﾙｾﾝﾀｰ	細菌第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 放射能管理室	JICA中国広州院内感染プロジェクト「病原体検索コース(１)」研修 (JICA)
20.1.21	～2.8	エジプト	NASR Eman Mohamed Elmaamoun	Holdong Company of Vaccines and Biological Products	所長 ウイルス第二部 ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA集団研修ポリオ根絶計画ウイルス検査技術コース「世界ポリオ根絶のための実験室診断技術」 (JICA)
		ガーナ	ALALE Michael Karim	Noguchi Memorial Institute For Medical Research		
		コートジボワール	ADJOGOUA Edgard Valery	Institute Pasteur of Cote D'Ivoir		
		ナイジェリア	OYEMAKINDE Bolajoko Olufunmilayo	WHO National Polio Laboratory		
			AKANDE Adefunke Oyewumi			
		モンゴル	PUREV Suvd	National Polio Laboratory,Public Health Institute		
		パキスタン	Mehar Angez	National Institute of Health		
20.1.21	～4.18	GUAN,Jing	GUAN,Jing	Xinjiang Uygur Autonomous Regional Center for Disease Control and Prevention	所長 ウイルス第二部 ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA中国国別研修「ポリオ実験室診断技術」 (JICA)
		YAN,Dong-Mei	YAN,Dong-Mei	Chinese Center for Disease Control and Prevention		
20.1.24	～1.25	中国	Zheng Jing Shan	中国疾病予防控制中心免疫規画中心	所長 感染症情報ｾﾝﾀｰ 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	JICA「中国予防接種事業強化プロジェクトカウンターパート」研修 (国立国際医療センター)
			Ao Rui	四川省疾病予防控制中心		
			Sun Xue Jun	中国衛生部疾病控制局		
20.1.25		ベトナム	Nguyen Tran Hien	ﾍﾞﾄﾅﾑ国立衛生疫学研究所 (NIHE)	所長 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 獣医科学部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染症情報ｾﾝﾀｰ ｴｲｽﾞ研究ｾﾝﾀｰ	ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)所長、副所長来訪　覚書調印式、感染研セミナー講演 「National Institute of Hygiene and Epidemiology:Present and Future」 (ベトナム国立衛生疫学研究所)
			Dang Duc Anh			

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

20.1.30	～2.5	エルサルバドル	ARGUERA MONTOYA Rosa Nelly	Ministry of Public Health and Social Welfare	血液・安全性研究部 感染症情報ｾﾝﾀｰ ウイルス第一部 細菌第一部 寄生動物部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA地域別研修「血液スクリーニング検査向上(中米地域)」 (JICA)
		グアテマラ	CAMPOS GIRON Amalia Alejandrina	Transfusional Medicine and Blood Banks Program,Ministry of Health		
			Merida Chete Heiddy Lissets			
			ALVAREZ TUBAC Licia Matilda			
			FIGUEROA GABRIEL Mildred Carolina			
		コスタリカ	ARGUERA MONTOYA Rosa Nelly	Costa Rican Social Security Fund		
		ニカラグア	FRANCO Janelma	SILAIS-Matagalpa,Ministry of Health		
			MEDINA Lina Virginia	Regional Hospital in Granada City		
		パナマ	BALLESTEROS BROCE Maura Maruquel	Santo Thomas Hospital		
			CEDENO ORTEGA Roy Saider			
		ホンジュラス	ZELAYA PINEDA Ines Adela	Blood Banks		
20.2.4		ウガンダ	Banura Patorick	ﾏｻｶ病院	寄生動物部 昆虫医科学部 感染症情報ｾﾝﾀｰ	JICA集団研修「国際寄生虫予防指導者セミナーコース」 (日本寄生虫予防会)
		エチオピア	Gazahegn Tamir Mersso	ｱﾑﾊﾗ地域保健局		
		ガーナ	Daniel Boamah	ｶﾞｰﾅ国立大学野口記念医学研究所		
		ケニヤ	Doria Wairimu	国立ｹﾆﾔ医学研究所		
		コロンビア	Rupen Santiago	国立保健研究所調査部		
		ザンビア	Justin Malemba	保健省		
		ﾊﾞﾝｸﾞﾗﾃﾞｨｼｭ	Rahman Mir Shamsur	保健省保健部国立社会・予防医学研究所		
		ﾊﾟﾌﾟｱﾆｭｰｷﾞﾆｱ	Mary Daun	国立保健研究所		
		ブルキナファソ	Adama Gansane	保健省　ﾏﾗﾘｱ研究ｾﾝﾀｰ		
		ペルー	Ibarcena Leon Mario	ｶﾙﾛｽ・ｱﾙﾊﾞｰﾄ・ｾﾀﾞﾝ国立病院		
		ミャンマー	Tun Aung	保健省保健部		
20.2.6	～2.7	中国	Shen Zhuang	北京市衛生局CDC	感染症情報ｾﾝﾀｰ ウイルス第三部	日本公衆衛生協会招へい外国人研究者来訪、鳥、新型インフルエンザについての公衆衛生対応、検査体制研修、実験室見学、意見交換等 (日本公衆衛生協会)
20.2.15		韓国	Chung Kee-Hey	韓国国立保健社会研究院	寄生動物部 細菌第一部 ウイルス第一部	韓国国立保健社会研究院保健医療研究本部食品栄養対策チーム職員来訪 (韓国国立保健社会研究院)
			Kim Jeongseon			
			Jeong Jin Wook			
20.2.15		韓国	KIM GYONG HWAN	Division of General Affairs and Innovation,KCDC	国際協力室	韓国疾病管理本部職員来訪-感染研の組織等について- (韓国CDC)
			LEE HANGYU			
			KIM JIYEONG			
			PARK SANGICK	Division of Intractable		
			KANG DUKCHAN	IBS Consulting Company		
20.2.18	～3.7	中国	JIANG,Yue-Ting	広州医学院第一附属病院	細菌第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 放射能管理室	JICA中国広州院内感染プロジェクト「病原体検索コース(１)」研修 (JICA)
20.2.18	～3.7	インドネシア	Krisna Nur Andriana Pangest	ｲﾝﾄﾞﾈｼｱ共和国国立保健研究開発研究所	ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	ウイルス検査に関する共同研究 (インドネシア国立保健研究開発研究所)
			Eka Pratiwi			

国際協力室

平成１９年度
外国人研修等受入について

20.2.27		ケニア	MOHAMMED Jaffer	保健省	ﾊﾝｾﾝ病研究ｾﾝﾀｰ 感染症情報ｾﾝﾀｰ	JICA地域別研修「英語圏アフリカ地域地域格差是正のための保健行政システム改善」コース (沖縄県看護協会)
		ザンビア	ZULU Priscilla	保健省ﾁﾊﾞﾀ地区保健事務所		
			BANDA Issac	保健省ﾎﾟﾝｸﾞｴ県保健事務所		
		スーダン	ABDALLA Suliman Abdel Gabbar	連邦保健省一次医療局（北部ｽｰﾀﾞﾝ政府）		
			RUMUNU John Pasquale Karlino	保健省予防医療局（南部ｽｰﾀﾞﾝ政府）		
20.3.10	～3.14	台湾	Chein-Hsin Liu	台湾CDC	細菌第二部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 動物管理室 血液･安全性研究部	台湾CDC抗毒素製剤品質管理担当者研修 (台湾CDC)
20.3.12		中国	張　秀浜	黒龍江省疾病予防ｾﾝﾀｰ	感染症情報ｾﾝﾀｰ	中国黒龍江省CDC訪日団来所 (日中医学交流センター)
			李　明華			
			張　炎龍			
			馬　玉傑			
			程　明			
			韓　震霖	牡丹江市疾病予防ｾﾝﾀｰ		
			李　莉	大慶市疾病予防ｾﾝﾀｰ		
20.3.21		ベトナム	Phan Huu Phu	ﾍﾞﾄﾅﾑ国立小児病院(ﾊﾉｲ)	細菌第二部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	ベトナム国立小児病院医師来所、施設見学・意見交換・感染研セミナー講演「実際のインフルエンザH5N1症例について」 (ベトナム国立小児病院)
			Pho Hong Diep			
			MAI THI HONG HANH			
			Tuan Ta Anh			

別表2

国際協力室

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	平成19
アイルランド										1	1
アメリカ合衆国								3	6	60	85
アラブ首長国連邦											1
イギリス								2	10	17	24
イタリア									3	2	5
インド			2	1			3	4	2	4	15
インドネシア	2	1	1	1				3	12	10	8
ウガンダ		1									
ウクライナ										1	
エジプト	1	1	2	1		1	1				1
エチオピア		1				1	1				1
エルサルバドル										1	
オランダ										4	2
オーストラリア								2		19	9
オーストリア										5	2
ガーナ	8	3	3		3	1	3				
カナダ								1	2	19	10
カメルーン			1								
韓国								2	6	15	12
カンボジア	2	1	1	1	2	1	1			4	1
キューバ										1	
ギリシャ										1	2
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	7
スイス								30	19	30	27
スウェーデン								1		2	3
スペイン										1	1
スリランカ								1			2
スロヴェニア											1
セネガル			1								
ソロモン諸島										2	2
タイ	2	5	7	8	10	10	8	10	5	18	23
台湾							1	4	4	17	11
タンザニア		1	1	1							
中国	7	5	3	1		2	8	10	12	39	59
デンマーク										2	1
ドイツ									2	12	12
ドミニカ共和国										1	
トルコ			1	3	2	1				1	1
ナイジェリア											1
ニューカレドニア									1		
ニュージーランド										3	2
パキスタン							1		1		1
パラオ										1	
バルバドス											1
バングラデシュ	2									2	2
東ティモール								2			
フィリピン	1	3	3	3	1		1	4	4	16	14
フィンランド										2	1
ブラジル										2	1
フランス				1				3	2	16	11
ベトナム	2					2	2	8	7	26	26
ベルギー									2	2	3
ポルトガル										6	
ポーランド										1	2
マルタ									2		
マレーシア		2	3	2				1	2	1	1
南アフリカ								2			2
ミャンマー						1				5	4
メキシコ								1	1		6
モンゴル			1	2		2					1
ラオス		2	1								4
ルクセンブルグ											1
ロシア										3	
合　計	27	26	32	25	18	22	31	94	109	387	413

１５．バイオセーフティ管理室

室長　杉山　和良

概　要

バイオセーフティ管理室は､病原体等安全管理規程(以下､管理規程)に基づき､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(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)および共同利用施設である BSL3 と 4 の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･研修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。

平成 18 年 12 月に、感染症法の一部改正が行われ、平成 19 年 6 月 1 日から施行された。これを受けて、管理規程の見直しの作業を行い、感染症法で定める感染症発生予防規程の内容を盛り込んだ管理規程を平成 19 年 6 月 1 日から施行した。その後､バイオリスク管理委員会にて、管理規程の一部改正および病原体等暴露対応要領等の見直し作業を行った。また､「BSL2 および BSL3 実験室」運営規則(案)､「高度封じ込め施設」運営規則(案)、同委員会規程(案)、病原体等事故対応要領(案)および特定病原体等の施設内管理区域間運搬要領(案)等の作成作業を行った。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、新たに BSL2 実験室の運営規則(案)によって規定されることとなる。

病原体取扱い者への教育訓練として、新規に取扱う者に対しては２ヶ月毎に、また、今年度は継続者についての講習会を 5 月に実施した。19 年 6 月からの感染症法施行に当たり、改正予定の管理規程の内容についての説明を行った。感染研から発送される病原体、検体、生物由来で非危険物の液体材料およびプラスミド等について今後導入予定の発送チェックシートや梱包方法、並びに新たに設けられるバイオリスク管理運営委員の役割等について解説した。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。

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および高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するポビドンヨードおよび界面活性剤による不活性化効果の研究、抗酸菌、レジオネラに関する研究および病原体の迅速診断に関する研究等を行った。

第 50 回米国バイオセーフティ学会総会および第 11 回欧州バイオセーフティ学会総会に参加し、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。

人事としては、11 月 1 日付けでハンセン病研究センター病原微生物部の山崎利雄主任研究官が当室へ移動となった。同日付けで、伊木繁雄が、また 1 月 15 日付けで嶋崎典子が研究官として着任した。

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

(1) 病原体輸送マニュアル作成のための資料収集､内容検討を行い、輸送・運搬の要領を作成した。病原体の保存管理に関連して､RFID の ID タグ付けシステムにより、総合的な病原体管理システム実現の可能性を検証した。国内のポリオウイルス保有施設についてより詳細な調査を行った。また、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実際に使用し、課題を検討した。バイオセーフティ管理者の重要性に鑑み、病原体取扱機関においてはバイオセーフティ管理者の配置が必要であることを示した。バイオセキュリティについて、米国、カナダ、英国等の研究機関と研究協力を行い、わが国へのバイオセキュリティリスク評価法の導入に必要な情報収集と、教育法について調査し、現場での対応に活用できる評価ソフトのベータ版を作成した。国際ラボラトリーネットワークに参加し、情報収集し、国際基準の作成および病原体輸送の国際的枠組みの確立に関する取り組みに協力した。

［杉山和良、高木弘隆、 佐多徹太郎(感染病理)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)、重松美加(感染症情報)、清水博之(ウイルス 2)、森川茂(ウイルス 1)、倉根一郎(ウイルス 1)、倉田毅(富山衛生研)、原井基博(富士ソフト)］

(2) 特定病原体の輸送についての問題点の把握のために結核、腸管出血性大腸菌・チフス菌等、インフルエンザウイルスおよび非特定病原体ではあるが溶連菌についてアンケート調査を実施した。結核菌については保健所および結核病床を持つ病院を対象として、その他については地方衛生研究所全国協議会メンバーを対象として実施した。改正感染症法の内容と輸送を含む病原体取扱い基準の一層の周知が必要であること等が示された。サーベイランス事業には国連規格容器の確保および病原体の取扱・輸送基準の緩和が必要である。

［佐多徹太郎(感染病理)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)、重松美加(感染症情報)、鹿住祐子(結核研)、御手洗聡(結核研)、寺嶋淳(細菌 1)、池辺忠義(細菌 1)、小渕正次(ウイルス 3)、杉山和良、嶋崎典子、伊木繁雄］

(3) 感染症法による特定病原体の輸送について､いくつかのケースを想定し、手続き、実際の輸送のシミュレーション計画を立て、実施することで問題点について調査した。二種(病原体)を１回、三種を 3 回行った。関係省庁、関係機関の整合性のとれた病原体の管理と輸送を行うための意見交換が必要であり、安全保障と感染症対策のバランスの取れた一元的な基準とルールの提示が必要と考えられる。

［安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)、藤本嗣人(感染症情報)、鹿住祐子(結核研)、山崎利雄、伊木繁雄］

(4) 病原体の保管･管理と輸送に関するワークショップ

バイオセーフティ･バイオセキュリティ体制の構築と共にそれらの知識・規則等の情報を伝達する、教育・訓練等が重要であるので、引き続き、特に改正感染症法の施行後の課題を中心として､地衛研ブロック単位で適正な病原体の輸送についての実習を含む講習会を実施した。情報の収集(教材の準備、講習の行い方に関する技術等)と感染症法下の輸送に関する情報提供を行った｡衛生微生物技術協議会の九州ブロック、中国・四国ブロック、関東・甲信・静ブロック北海道・東北・新潟ブロックの 4 箇所で、ブロック内の衛生研究所において病原体等の検査研究に従事する担当職員を対象とした｡今後、輸送における具体的な手続方法、輸送時の梱包・表示の仕方等のマニュアル作成が必要である。

［安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス１)、重松美加(感染症情報)、佐多徹太郎(感染病理)、杉山和良、山崎利雄、伊木繁雄、嶋崎典子］

2. BSL3 実験室空調システムの検証

BSL3 実験室内の室圧変動や安全キャビネットの風量変化などの空調システムについて総合的に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研究

(1) バイオハザード対策専用防護服の防護性能などについて、国内外の情報(規格、文献、関連学会、施設訪問など)を継続的に収集している。

［篠原克明、渡邉道彦、小野澤哲夫、高木弘隆、杉山和良］

(2) バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する研究

現存のバイオハザード対策専用防護服の防護性能、特に浮遊粒子浸透防護性能及び飛沫粒子浸透防護性能の要求される性能レベルについて総合的に検討している。個別の試験装置や試験方法については、別項(嶋崎典子)に記す。

［篠原克明、嶋崎典子、渡邉道彦、小野澤哲夫、熊谷慎介、戸谷千夏、磯田実、森本美智子］

(3) 抗菌素材のバイオハザード対策専用防護服用としての抗菌機能性評価に関する研究

近年注目されている抗菌素材のバイオハザード対策用防護服素材としての有用性を検証するために、各種素材の抗菌性能評価方法を検討しており、抗菌素材数種について黄色ブドウ球菌に対する抗菌性能を評価した。その結果、普通ブイヨンや人工血液などのキャリアーの成分の違いによって、抗菌効果の発現性に差が認められた。培養液等キャリアー成分は様々あり、インヒビターとなって抗菌素材の効果が十分に発現しない可能性が示唆されたので、防護服素材の抗菌性能評価方法について更なる検討が必要と言える。

［嶋崎典子、篠原克明、森本美智子、熊谷慎介、戸谷千夏、磯田実、小野澤哲夫］

(4) バイオハザード対策専用防護服用素材の浮遊粒子浸透防護性能に関する研究

バイオハザード対策専用防護服用素材の浮遊粒子浸透防護性能について、浮遊粒子に対する浸透防護性能を評価するための負荷圧力変化型の浮遊粒子浸透防護性試験装置の開発と試作を行った。この負荷圧力変化型試験装置は、全身型防護服着用時の動作に伴う防護服内圧力の変動を実際に測定し、その変動圧力幅を基に仕様を決定した。また、今回試作した負荷圧力変化型試験装置に用いる粒子負荷装置の性能を、黄色ブドウ球菌とアンダーセンサンプラーを用いて再検証し、浮遊粒子の粒径分布特性を確認した。

［嶋崎典子、篠原克明、熊谷慎介］

4. バイオセキュリティ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、試作と、性能の検証を継続している。また、データ管理システムの開発と構築を行い、有用性についてフィールド試験を継続している。

［篠原克明、熊谷慎介、戸谷千夏、磯田実］

5. ノロウイルス代替としてのネコカリシウイルス(FCV)及び高病原性鳥インフルエンザウイルス(HPAIV)に対する不活性化薬剤の検索と評価に関する研究

FCV に対する不活性化薬剤についてはポビドンヨードおよび数種類の界面活性剤に関し、濃度および反応時間について評価を行った。現存する汎用手指消毒剤の中で唯一効果があるとされているポビドンヨードについては反応比率 1:1、反応時間 2 分としたとき、ポビドンヨード 0.1%以上で FCV3 株に対し、5$\log_{10}$$TCID_{50}$以上の感染価減少が認められた。また界面活性剤の一部でも不活性化効果が認められるものがあった。HPAIV では代表的な陽イオン界面活性剤及びノニオン系界面活性剤数種類を用いて不活性化効果を検討したところ、ポビドンヨードと同条件のときに HPAIV2 株において 4$\log_{10}$$TCID_{50}$の感染価減少が認められた。特にノニオン系界面活性剤ではより低濃度で同様の効果が認められた。

※　本研究は花王株式会社との共同研究契約に基づく研究成果である。

［高木弘隆、杉山和良］

6. チタンアパタイト(Ti-ap)をコーティングしたフィルター上におけるウイルス不活性化効果に関する研究

有機物分解に有効とされるチタン-UV 照射処理法は現在テントや建築物外壁など様々な分野に応用されて、一部では微生物の不活性化にも有効とされている。今回 Ti-ap をコーティングしたフィルターを用いて、その表面上におけるウイルス不活性化効果について検討した。供試ウイルスは FCV-F9 株、ヒトアデノウイルス(HAdV)-GB3 株(3 型)と臨床分離株(2 型)、インフルエンザ A ウイルス 2 株(H1N1、H3N2)の 5 種類を用いた。1cm^{2}の試験片にウイルス液を滴下し室温にて 10 分乾燥後、UV356nm の照射(強度 1,200～1,400μW･cm)を開始した。一定時間ごとに試験片を回収し、培養用培地にて溶出させ感染価を測定した。その結果 FCV-F9 および HAdV2 株では照射 10 分で $5\log_{10}TCID_{50}$ の感染価減少が認められた。一方インフルエンザウイルスは膜そのものへの吸着が強く、容易に溶出されないことが認められた。

※ 本研究は旭化成株式会社との共同研究契約に基づく研究成果である。

［高木弘隆、杉山和良］

7. 鳥由来高病原性鳥インフルエンザウイルス(HPAIV)の哺乳類細胞への馴化に関する研究

鳥より分離された HPAIV は鶏卵による増殖・継代が一般的であるが、抗原回収や評価試験において手技の簡素化と再現性の向上を目指すべく、in vitro 増殖・評価系について検討した。HPAIV3 株を用い鶏卵胎児細胞(CEF)を対照とし、その他 7-8 種類の哺乳類細胞により細胞変性効果(CPE)と増殖性(MDCK 細胞による感染価算出)を検討したところ、数種類の哺乳細胞ですみやか馴化とウイルス増殖が確認された。またヒト腸管系細胞を数種類用いたところ、明瞭な CPE が認められるものの virion 形成に至らず、一般的なヒトインフルエンザウイルスとは異なる傾向がみられた。またウイルス増殖性は細胞 10,000～50,000 個あたり 1virion 程度の感染で非常に向上することが認められた。

［高木弘隆、杉山和良］

8. 強電解水による FCV 不活性化に関する研究

ノロウイルス代替として FCV を用いて、強電解水による不活性化効果を検討した。供試株は F9 と臨床分離株 2 株とし、電解水については酸性水が pH2.4-2.6、有効塩素濃度 25-60ppm におさまるもの、アルカリ性水が pH11 以上であるものをそれぞれ使用した。反応比率ウイルス:電解水＝1:4 では効果に再現性が見られず、ばらつく結果となった。反応比率ウイルス:電解水＝1:9 とした場合、酸性水では F9 で 1 分、臨床株 2 株では 2 分で $5\log_{10}TCID_{50}$ の感染価減少となり、アルカリ性水では F9 及び臨床株 1 株で 10 分、残りの臨床株 1 株では 20 分で $5\log_{10}TCID_{50}$ の感染価減少となった。アルカリ剤では先に炭酸塩による検討で同様の効果が 5 分以内に得られていることから、アルカリ条件下における FCV 不活性化はイオン強度もしくはアルカリ塩の種類に依存するものと考えられる。

［高木弘隆、杉山和良］

II. 抗酸菌に関する研究

1. ダニから分離された抗酸菌の同定

ダニから分離された抗酸菌の同定を、11 項目の生化学的検査法、DNA-DNA ハイブリダイゼーション法、16S rRNA の塩基配列を調べる塩基配列決定法にて行った結果、*Mycobacterium chelonae* と同定した。*M. chelonae* は、通常ヒトの皮膚から分離されるが、ダニから分離された珍しいケースであった。

［山崎利雄・川端寛樹(細菌第 1 部)］

2. ヒトの皮膚由来抗酸菌の同定

ヒトの皮膚から分離され DDH 法により、*M. marinum* と同定された菌株中に、黄オレンジ色の他に灰白色のコロニーが観察されたということで分離同定依頼を受けた。原株を希釈し純化後、単コロニーより増菌させた 15 菌株について 15 項目の生化学的検査法、DDH 法、16S rRNA の塩基配列を調べる塩基配列決定法を行い、全て *M. shinsuense* と同定された。灰白コロニーは、観察中に色が変わる光発色性の菌であり、わが国で分離されるケースがまれな菌種であった。

灰白コロニーは、観察中に色が変わる光発色性の菌であり、わが国で分離されるケースがまれな菌種であった。
［山崎利雄・伊藤芳幸(三重大学)］

3. *M. avium* の Variable Numvers of Tandem Repears (VNTR)型別解析析

浴槽水から分離された *M. avium* より DNA を抽出し、西森らが報告した 17 組のプライマーを用いて PCR を行い、PCR 産物の電気泳動により DNA サイズを測定し、含まれる VNTR 数を調べ、*M. avium* の菌株間の違いを検討した。また、われわれが保存している *M. avium* との違いも検討した。*M. avium* 症の患者さん宅の循環浴槽から分離された *M. avium* は、VNTR 法では、同じ菌株由来と判定されたが、RFLP では、それぞれのバンドパターンが異なるので、別由来の菌であると判定された。浴槽水由来のクラスター形成率は 16.7%(2/12 株)、濾材は 25%(1/4 株)であった。患者さん由来のクラスター形成率は 14.0%(6/43 株)であった。鳥由来のクラスター形成率は 16.7%(2/12 株)であった。
［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)、前田伸治(結核研究所)］

4. 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

結核菌の迅速薬剤感受性試験のために、二次抗結核薬である Capreomycin (CPM)、Cycloserine (CS)、Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)、Emviomycin (EVM)について、ATP を測定する方法(ATP 法)と参照法の結果を比較し、ATP 法の信頼性を検討した。臨床分離菌 109 株について寒天比率法と ATP 法との一致率は、CPM 92.7%、CS 95.4%、TH 81.7%、PAS 86.2%、EVM 96.3%であり、ビットスペクトル法との一致率は、CS 92.7%、TH 78.0%、PAS 78.9%、EVM 94.5%であった。ATP 法は、二次抗結核薬についても、結核菌薬剤感受性試験法として、5 日間で判定可能な迅速な検査法であるが、TH、PAS の ATP 法の濃度については、検討が必要である。
［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)］

III. レジオネラに関する研究

1. 市販 DDH キットで同定できないレジオネラ属菌種の同定法の確立

市販 DDH キットで同定できないレジオネラ菌種を、DDH 法により同定可能にする事を最終目的として、*Legionella pneumophila*、*L. feeleii*、*L. micdadei* を用いて基準株のプレートへの固定方法を検討し、基準株 DNA のプレートへの固定法を確立した。
［山崎利雄・前川純子・倉文明(細菌第１部)］

IV. 病原体の迅速検出に関する研究

1. RT-LAMP 法による臨床検体からの HAV 検出に関する評価

LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification)法は迅速、特別な機械不要などの利点から、フィールドでの使用が拡大しつつある。そこで、我々が先に確立した HAV の RT-LAMP 法について臨床検体からの HAV 検出を評価するため、臨床検体(糞便 36, 血清 16)を用い、市販の HAV 定量キット(LightCycler による RT-PCR 法)と成績を比較した。その結果、HAV の RT-LAMP 法は市販の RT-PCR 法とほぼ同等の検出感度であったが、定量性に問題があることが示された。
［嶋崎典子、米山徹夫(ウイルス二部)］

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 のベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)能力強化計画プロジェクトにおいて、バイオセーフティに関する技術協力を行った。バイオセーフティ部員に、所内管理規程の作成、BSL3 対応のマルチラボ等を含めバイオセーフティ管理運営法の全般および教育訓練について等の助言・指導を行った。無償協力によって建設中の BSL3 実験室について、完成後の運営に必要な設備、機材等についての運用法等について指導を行った。さらに、この BSL3 実験室の性能検証に関わる作業を行った。以上の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等に、杉山、篠原および高木が NIHE にて指導を行

った。また、NIHE から、バイオセーフティ部員(設備維持管理担当者)２名と機材管理部長１名を、日本に招聘し、バイオセーフティ管理手法、空調設備維持方法、安全キャビネット、滅菌装置等の原理と取扱い、保守等についての研修を行った。

II. WHO 関連

フィリッピン熱帯病研究所(RITM)の BSL3 実験施設の改修につき助言指導した。

研修業務

I. バイオリスク管理講習会

新規受講者を対象としたバイオリスク管理講習会は年間予定に従い 2 ヶ月に一度、6 回実施した。継続者についての講習会を 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、21 回開催した。佐多徹太郎感染病理部長がバイオリスク管理委員長を務め、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についての講義を行った。

1. バイオリスク管理講習会受講者数

(1) 平成 19 年度　新規・継続講習会

実施月日	新規受講者数	継続受講者数
4 月 9 日	51	
5 月 22 日		228
5 月 23 日		214
5 月 24 日		113
5 月 25 日		26
6 月 5 日	28	6
6 月 6 日		45
8 月 1 日	40	
10 月 2 日	30	
12 月 4 日	33	
2 月 1 日	21	
計	203	632

(2) 平成 19 年度　外国人対象講習会

実施日	受講者数
4 月 2 日	2
4 月 5 日	1
4 月 6 日	2
4 月 16 日	1
6 月 14 日	1
6 月 20 日	1
7 月 17 日	2
7 月 31 日	2
8 月 8 日	1
8 月 29 日	2
9 月 10 日	1
10 月 9 日	1
10 月 30 日	1
11 月 20 日	2
1 月 7 日	1
1 月 21 日	2
1 月 29 日	2
2 月 18 日	1
2 月 26 日	2
3 月 3 日	1
3 月 21 日	1
計	30

II. JICA のバイオセーフティアジア研修

JICA の主催する研修において、アジア地域のバイオセーフティ担当者を対象とした、新興感染症に係るバイオセーフティ制御に関するトレーニングコースを 3 年間の予定で新たに導入し、バイオセーフティ管理室が企画実施した。平成 19 年 12 月に感染研において、3 週間コースで、WHO 指針をベースとして、バイオリスクマネジメント、実験室技術、病原体輸送等についての講義・実習を行った。アジア 6 カ国から 7 名が参加した。今後、更なる内容の充実が必要である。

その他

I． BSL3 実験室の管理・運営および利用状況

BSL3 の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、高木弘隆研究官および藤井弘毅、千葉裕子、浅沼みゆき非常勤職員が担当した。村山庁舎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。新規採用者の山崎利雄主任研究官、伊木繁雄研究官、嶋崎典子研究官は両庁舎の管理運営法の技術習得を行った。引き続き、各庁舎 BSL3 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 BSL3 実験室利用者に対する講習等の教育指導等を行った。

BSL3 実験室の利用登録者と BSL3 実験室利用者講習受講者を表に示した。

1． 平成 19 年度　BSL3 実験室登録者数

庁舎名	登録者数
戸山庁舎	96
村山庁舎	56
計	152

2． 平成 19 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	2	2	2	2
5 月	3	3	3	7
6 月	0	0	1	3
7 月	1	1	0	0
8 月	1	1	1	2
9 月	1	1	3	4
10 月	0	0	3	4
11 月	0	0	3	3
12 月	4	5	2	2
1 月	1	1	0	0
2 月	0	0	1	1
3 月	0	0	0	0
計	13	14	19	28

II． 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、中四国、関東、東北ブロック研修会等)、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。地方衛生研究所ブロックでの研修会では感染症法と輸送についての実習を含むワークショップ形式で行った。感染研が受け入れている保健医療科学院および国際協力事業団(JICA；エイズ国際研修、ポリオ国際研修)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のなかでバイオセーフティについての講義を引き続き行った。

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、BSL2,BSL3 の管理運営法、病原体の消毒方法およびバイオリスク管理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。

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、2007 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、バイオセキュリティおよび病原体輸送についてのシンポジウムとワークショップを米国の専門家を講師として招聘し、実施した。また、カナダのバイオリスク管理専門家による感染研バイオセーフティセミナーを開催した。

III． 村山庁舎 9 号棟

1． 村山庁舎 9 号棟 BSL3 実験室の施設､設備及び運営に関する業務

建設中の村山庁舎 9 号棟 BSL3 実験室の施設､設備に関する検証及び助言ならびに BSL3 実験室の運営に関する検証及び助言を行っている。

［篠原克明］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

なし

2. 和文発表

1) 宮村達男、杉山和良、佐多徹太郎、安藤秀二、重松美加： 感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2007-2008 版 WHO 2007 年 (翻訳) 国立感染症研究所
2) 杉山和良:改正感染症法と CDC ガイドラインについて 月刊薬事 Vol.49, No.11, 1699-1704, 2007
3) 杉山和良:病原微生物等の適正管理の実際 公衆衛生 Vol.71, No.10, 841-844, 2007
4) 杉山和良:感染症法における病原体の分類と管理体制 化学療法の領域 Vol.24, No.4, 547-552, 2008
5) 杉山和良:V 病原体の輸送 病原体等安全取扱・管理指針 日本細菌学会 85-100, 2008
6) 篠原克明:バイオハザード対策の原理. 空気清浄. Vol.44. No.5. 4-9. 2007 年. 1 月.
7) 篠原克明:バイオハザード対策用防護服. セイフティ・ダイジェスト. (Safety & Health Digest)Vol.53. No.4. 24-27. 2007. 4 月. 社団法人 日本保安用品協会(JSAA)
8) 嶋崎典子、岡田義昭、米山徹夫:医薬品からの感染が危惧されるウイルス疾患と安全対策. 月刊薬事 49(11): 566-568, 2007.
9) 伊木繁雄、地主 勝、佐藤千秋、長野秀樹、奥井登代、岡野素彦：2006 年度の北海道におけるインフルエンザの疫学調査 北海道立衛生研究所報 57：87－90, 2007
10) 地主 勝、伊木繁雄、長野秀樹、奥井登代、岡野素彦:2006 年度の北海道における麻疹 PA 抗体保有調査 北海道立衛生研究所報 57：83－85, 2007

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Shinohara, K., Takagi, H., Sugiyama, K., Kurata, T., Takizawa, T., Watahiki, M., Shimokoube, M., Tukui,S., Kogure, K., Ogino, S. Temperature distribution of waste in autoclave. American Biological Safety Association, 50th Annual Biological Safety Conference, October 7-10, 2007, Nashville, USA.
2) Shinohara, K., Nagasawa, H., Satoh, K., Kumagai, S., Shimasaki, N. Actual pressure changes in protective clothing. European Biological Safety Association, 11th Annual Conference, April 3-4, 2008, Florence, Italy.
3) Shinohara, K., Fukui, T., Fukumoto, K., Obara, K., Ishihara, M. How to control the airflow and pressure for BSL-3 facilities. European Biological Safety Association, 11th Annual Conference, April 3-4, 2008, Florence, Italy.
4) Sugiyama, K. Revised infectious disease control law and biosafety and biosecurity in Japan. Japan-Taiwan Symposium on Influenza Control and Biosafety, September 6-7, 2007, Tokyo
5) Takagi, H. Applied biological safety and biological security by new devices and techniques. Japan-Taiwan Symposium on Influenza Control and Biosafety, September 6-7, 2007, Tokyo
6) Shinohara, K. Development of testing methods for protective clothing materials. Japan-Taiwan Symposium on Influenza Control and Biosafety, September 6-7, 2007, Tokyo

2. 国内学会

1) 杉山和良:バイオセーフティとバイオセキュリティの動向と国立感染症研究所における対応 日本環境感染学会 第 23 回総会シンポジウム、2008 年 2 月、長崎
2) 山崎省二、高鳥浩介、狩野文雄、横地明、篠原克明、青山敏信、池田耕一、柳宇、木の本雅通、三上壮介：クリーンルームの微生物汚染評価。第 25 回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会、2007

年、4 月、東京。

3) 篠原克明、熊谷慎介、明星敏彦：バイオハザード対策用防護服について。第 25 回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会、2007 年、4 月、東京。

4) 篠原克明、高木弘隆、杉山和良、倉田毅、滝沢剛則、綿引正則、下河辺学、津久井直至： 高圧蒸気滅菌器内の温度分布の検討。日本防菌防黴学会 第 34 回年次大会、2007 年 8 月、大阪。

5) 嶋崎典子、清原知子、戸塚敦子、梅森清子、岡田義昭、米山徹夫：加熱および加圧によるＡ型肝炎ウイルスの不活化－株間の差異の検討－：日本ウイルス学会第 55 回学術集会，札幌，2007 年 10 月。

6) 山崎利雄、相澤志保子、服部真一朗、宮本友司、山本三郎、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、第 77 回実験結核研究会、2007、6 月、大阪

7) 山崎利雄、相澤志保子、服部真一朗、宮本友司、山本三郎、加齢モルモットにおける BCG ワクチン再接種の結核防御効果、第 82 回日本結核病学会総会、2007、6 月、大阪.

8) 前川純子、森本洋、熊田裕子、藤田雅弘、黒木俊郎、杉山寛治、緒方喜久代、縣邦雄、山崎利雄、渡辺治雄、倉文明、掛け流し式温泉成分検査、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、第 81 回日本細菌学会総会、2007、3 月、京都

9) 伊木繁雄、高木弘隆、後藤 浩、川又 亨、地主 勝、森本 洋、池田徹也、駒込理佳、木村浩一、清水俊一、山口敬治、前田秋彦、杉山和良、岡野素彦：地方衛生研究所におけるバイオセーフティ研修の試み（第 2 報）。第 7 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2007 年 11 月、東京。

10) 伊木繁雄、地主 勝、佐藤千秋、長野秀樹：2006 年度の北海道におけるインフルエンザの疫学調査。第 59 回北海道公衆衛生学会、2007 年 11 月、札幌。

１６．放 射 能 管 理 室

室長 土田 耕三

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。平成１９年度の放射性同位元素の保管、使用、廃棄に関しては、放射線業務従事者によって的確におこなわれ、また排気や排水中の放射能濃度、環境の空間線量率等は定められている基準値よりもはるかに少ないものであった。設備の稼働も正常に保たれている。

国立感染症研究所・独立行政法人国立健康・栄養研究所　戸山研究庁舎(戸山)、放射性同位元素等取扱規則(規則)、国立感染症研究所村山庁舎(村山)　放射性同位元素等取扱規則(規則)を平成１９年５月に改正した。また国立感染症研究所ハンセン病研究センター(ハンセン)　放射性同位元素等管理取扱細則(細則)を同年同月に新たに定めた。これによって３施設の放射性同位元素の取り扱いに関して、放射線障害予防規程とともに統一された定めが出来上がった。また、昨年、放射性同位元素等による放射線障害の防止に関する法律(法)の改正があり、下限数量以下の放射性同位元素は、RI管理区域外で使用できることになったが、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、改正した規則及び細則に、RI管理区域外での使用を認めないことを明記した。

放射線取扱主任者は、戸山が土田耕三・藤本浩文、村山が武田直和（ウイルス第二部・第一室長）、ハンセンは中永和枝（生体防御部・主任研究官）と鈴木幸一（生体防御部・第三室長）が任命されている。また、新たに第１種放射線取扱主任者試験に合格し、文部科学省講習会登録資格講習会を終了したものが、戸山２名、村山３名あった。

放射線業務従事者登録に関して、新規に登録する者に対する講習会（新規者講習会）を２カ月おきに年６回、継続して登録する者に対する講習会(継続者講習会)を、戸山研究庁舎で５回、村山庁舎とハンセン病研究センターでそれぞれ１回行った。また英語で行う外国人向け新規者講習会を、３回行った。新規者講習会受講者は日本語８９名、外国語５名、継続者講習会は３６２名であった。新規者講習会受講者は講習終了後、確認テストを行い、全員合格した。継続者講習会は、改正した規則の説明を行い、放射性同位元素の安全取扱の徹底を図った。

土田、武田、藤本、鈴木は法の定めに従って、放射線取扱主任者定期講習に参加し、また、土田、武田、高田、藤本、菅原は主任者部会年次大会、放射線安全管理研修会及び講習会に参加し、放射線安全管理に対する新たな知識の習得を行った。

放射性同位元素の有効使用を図るべく、戸山RI管理区域の縮小に関するアンケートを実施し、各部の意見を集約した。この結果は放射能委員会を通して公表し、今後の放射性同位元素の使用に関して参考となる資料を提供した。

人事異動では作道隆が、東京大学新領域創成研究科から研究員として着任した。

本年度も経常研究費、文部科学省、日本学術振興会や財団からの研究費によって、以下の研究を行った。

Ⅰ．放射線によるDNA損傷とその修復機構の解析
II．各生物種ゲノム構造から明らかにする転移因子の水平伝播についての考察
III．放射線による生物学的影響を可視化するための生物試料の探索
VI．医学への応用を目指した生体内脂質動態の解明

Ⅰ．放射性同位元素使用状況

１．戸山

（独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む）

（単位　kBq）

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	866120	260850	403450
^{14}C	135423	34813	43574
^{32}P	1207875	1581750	1400490
^{33}P	0	0	0
^{35}S	402398	242750	346898
^{51}Cr	0	0	0
^{125}I	74444	269	444

保管量下限数量比合計 13987.0

２．村山

（単位　kBq）

	前年度繰越量	入庫量	使用量

^{3}H	173572	83250	66850
^{14}C	8347	12950	13300
^{32}P	41500	240500	249940
^{33}P	0	37000	37000
^{35}S	75290	945350	935850
^{51}Cr	0	0	0
^{125}I	0	0	0

保管量下限数量比合計 322.4

Ⅱ．従事者登録数

１．戸山　　３２６名
（独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山　　１１３名

3．ハンセン　１６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19年 4月 6日	30	新規
5月 8日	142	継続
5月 9日	125	継続
5月11日	65	継続(村山)
5月16日	14	継続(ハンセン)
6月 4日	23	新規
6月 6日	10	継続
6月26日	5	継続
7月 3日	1	継続
8月 3日	10	新規
10月 3日	16	新規
12月 3日	5	新規
平成20年 2月 4日	5	新規
合計	451	

２．外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成19年 4月 9日	3	新規
平成20年 1月 9日	1	新規
2月18日	1	新規
合計	5	

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。本年度日本蚕糸学会賞を土田耕三、進歩賞を高田直子・藤本浩文・土田耕三が受賞した。

Ⅰ．放射線によるDNA損傷とその修復機構の解析

生物に与える放射線の影響のうち、最も影響が大きいと考えられるのがDNAの損傷である。これらの損傷は修復されなければ突然変異源となり、細胞がガン化する一因となると考えられている。当室では、放射線照射によるDNA損傷の頻度、また、損傷を受けたDNAはどのように修復されているのかに注目して研究を行っている。

（１）PCR法を利用した放射線によるDNA損傷頻度検出法の開発

昨年に引き続き、プラスミドDNAをモデルとし、リアルタイムPCRを利用したDNA損傷頻度測定手法の開発を行っている。閉環状構造を持つプラスミドに対する放射線照射後のPCRによる増幅度は、事前の熱処理の条件によって約10倍も変化することが明らかになった。この現象を利用することで、本手法を用いて放射線照射によって生じる切断に至らないDNA損傷も検出できる可能性が示唆された。

［斎藤（原子力機構），前川（琉球大），藤本，高田，作道，土田］

（２）Kuタンパク質によるDNA二重鎖切断の認識・結合機構の解明

放射線に起因するDNA損傷のうち、DNA二本鎖切断は最も重篤な損傷の一つである。Kuタンパク質は最初にこの二本鎖切断を認識・結合し、二本鎖切断修復経路の一つである非相同末端再結合過程を開始するキータンパク質である。DNA末端間の結合に関与していると予想されるKuタンパク質のアミノ酸部位に注目し、その部位を変異させたタンパク質を用いて両者の結合力がどのように変化するかを計算化学的手法によって検証した。損傷DNAを包み込むKuタンパク質のリングに位置するリジン残基は、アセチル化されるとDNA結合能力に影響を与えると考えられている。そこで、候補となりうるリジン残基を選定し、その一部もしくは全部をグルタミン（アセチル化モデル）およびアルギニン（非アセチル化モデル）にそれぞれ置換した変異体モデルを作成し、DNA分子を加えてMDシミュレーションを行った。計算結果を基にDNA-Kuタンパク質間の結合力を推定した結果、非アセチル化モデル＞野生型モデル＞アセチル化モデルの順で両分子の結合力は下がることを明らかにした。

［斎藤（原子力機構），小池（放医研），藤本，前川

（琉球大），高田，作道，土田］

（３）YファミリーDNAポリメラーゼのDNA合成時におけるミスマッチ伸張反応

生物が持つ様々なDNA合成酵素のうち、Yファミリーに属するポリメラーゼは、放射線等によって生じるDNA損傷部位を乗り越えてDNA合成を行える能力を持つ。このうちヒトのYファミリーDNAポリメラーゼの一つpolκは鋳型鎖とプライマー鎖3'末端がミスマッチ塩基対を形成した状態からでもプライマー伸張を行う事ができるという特徴をもつ。計算化学的手法を用いて解析した結果、通常DNA合成時にリボ体とデオキシリボ体を選別するのに利用されているsteric gateと呼ばれるアミノ酸残基がpolκの伸張反応時にミスマッチとなっているプライマー末端の塩基を支える役目を果たしている可能性が示唆された。
［佐々（東京薬科大），能美（国立衛研），藤本，前川（琉球大），高田，作道，土田］

II. 各生物種ゲノム構造から明らかにする転移因子の水平伝播についての考察

*Drosophila mauritiana*で同定されたDNA型のトランスポゾン*marinar*は、多くの生物種のゲノム中で相同配列（MLEs）が見つかっており、種を超えて水平伝播するトランスポゾンの有望なモデルである。MLEsは、その宿主ゲノムへの侵入時期に応じて多くのサブファリミリーを持つが、そのうちの１つに注目し系統解析を行う事で、同一種における地理的移動を詳細に追跡できるのではないかと考えた。中国から韓国・日本にかけて広く分布する鱗翅目昆虫クワコから単離したMLEsの１サブサミリーの配列を比較解析した結果、同一種に見えるクワコが本州を中心とする日本型と中国・韓国・九州・北海道を含む大陸型に分類できることが判明した。このことは特定のMLEsの配列が、クワコゲノムへのMLEsの挿入時期とクワコの地理的移動を知る指標となりうることを示している。
［川西，中島,前川（琉球大），伴野（九大），藤本，高田，作道，土田］

III. 放射線による生物学的影響を可視化するための生物試料の探索

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た。ガンマ線照射後原基発生を観察することで、ガンマ線照射線量によって現れる影響を可視化、定量できる方法を確立した。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（琉球大）、小林（原子力機構）、白井（信州大）、木口（信州大）、高田、藤本、土田］

VI．医学への応用を目指した生体内脂質動態の解明

脂質は細胞膜構成成分や栄養分、また生理活性メディエイターとして生体に必須の成分である。脂質は動物体内での細菌認識機構やウイルスの複製にも重要な役割を果たしていることが近年報告されており、生体内の脂質動態の解明は感染症研究を含む医学分野への応用性を持つ研究課題である。また、放射線の照射が細胞膜の脂質構成に影響することも知られている。水が豊富な生体内において水に溶けない脂質を輸送するには何らかの装置が必要であり、その装置となる遺伝子の同定と機能の解明を行っている。

1．CBP遺伝子の機能解析

カロテノイドは細菌から動植物に至るまで生物種を問わず存在する脂質であり、その抗酸化作用から臨床医学的にも重要な脂質である。例えば院内感染症の主要原因細菌MRSAはカロテノイドを産生することで好中球が作る活性酸素種に抵抗性を有している。また、視覚の維持に重要であるヒト網膜黄斑にはカロテノイドが蓄積しており、高齢者失明の第一原因である加齢黄斑変性症はカロテノイドの経口投与で予防される。しかしながらカロテノイドの生体内輸送機構はほとんど未解明である。カイコのカロテノイド輸送を支配する遺伝子座の一つ黄血（*ly*）についてゲノム配列の解析を行い、*ly*が細胞内カロテノイド結合蛋白質（CBP）をコードすることを明らかにした。*ly*の劣性対立遺伝子白血（+^{ly}）を持つ個体にCBPを強制発現させたところ、*ly*への表現型への復帰が観察され、*ly*がCBPをコードすることを機能的に実証した。CBPはカロテノイド輸送を担う細胞内蛋白質の初めての報告である。カイコの近縁種からCBPの相同遺伝子を同定し、CBPの配列保存部位について検討した。
［作道、中島（信州大）、藤本、瀬筒（生物研）、小林（生物研）、内野（生物研）、田村（生物研）、岩野（日大）、中垣（信州大）、片岡（東大）、嶋田（東大）、伴野（九大）、Bernstein P. (Univ. Utah)、土田］

2．apoLp遺伝子の解析

リポタンパク質は動物体液における脂質循環を担うタンパク質である。カイコの体液リポタンパク質アポリポホリン-III（apoLp-III）について、発生初期での発現を調べたところ、産卵直後の胚には発現が見られなかったが、産卵後24時間後から胚子において一過性の発現が見られた。これは、体液が形成されない発生初期においてリポタンパク質が胚子自身によって合成されていることを示している。この体液形成以前のリポタンパク質の役割について解析を進めている。
［横山（日大）、中島（信州大）、作道、高田、藤本、岩野（日大）、中垣（信州大）、土田］

3．apoLTP遺伝子の解析

脂質組成は組織によって異なる。この脂質組成の違いを生む機構として、体液内の脂質転移因子（apoLTP）の関与が考えられるが、その分子生物学的な解明は進んで

いない。昆虫体液のapoLTPを精製し、その精製した蛋白質をコードする遺伝子配列を同定した。
［横山（日大）、作道、高田、藤本、岩野（日大）、中垣（信州大）、土田］

4．新規脂質輸送遺伝子の探索
脂質輸送に関わるカイコの遺伝子座の一つについて、その遺伝子座がコードする遺伝子を同定することを目的としてポジショナルクローニングを行った。遺伝子が座位するゲノム上の範囲を狭め、候補となる遺伝子を得た。その遺伝子は哺乳類の細菌認識に関わる遺伝子と相同性を有していた。現在その遺伝子の機能の詳細を調べている。
［作道、藤本、飯塚（生物研）、瀬筒（生物研）、田村（生物研）、生川（生物研）、山本（生物研）、三田（生物研）、伴野（九大）、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．放射能委員会、ＲＩ３施設協議会等の開催

2．放射線取扱主任者講習会等へ出席し研修した。

3．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おこなった。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表
1.　欧文発表

1) Fujimoto H., Pinak M., Nemoto T., Bunta J.K., (2007) Structural analysis of base mispairing in DNA containing oxidative guanine lesion, *CEJP*, **5**, 49-61.
2) Sakudoh T., Sezutsu H., Nakashima T., Kobayashi I., Fujimoto H., Uchino K., Banno Y., Iwano H., Maekawa H., Tamura T., Kataoka H., Tsuchida K. (2007) Carotenoid silk coloration is controlled by a carotenoid-binding protein, a product of the Yellow blood gene, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 8941-8946.
3) Sakudoh T., Takada N., Fujimoto H., Tsuchida K. (2007) Mechanism of tissue specificity of carotenoids delivery in the silkworm, *Carotenoid Science*, **11**, 1-5.
4) Hara W., Sosnicki S., Banno Y., Fujimoto H., Takada N., Maekawa H., Fujii H., Wells M.A., Tsuchida K. (2007) Linkage analysis of carotenoid-binding protein of *Bombyx mori* by restriction fragment length polymorphism, *J. Insect Biotech. Seric.*, **76**, 149-154.
5) Kawanishi Y., Takaishi R., Banno Y., Fujimoto H., Nho S. K., Maekawa H., Nakajima Y., (2007) Sequence comparison of mariner-like elements among the populations of *Bombyx mandarina* inhabiting China, Korea and Japan, *J. Insect Biotech. Seric.*, **76**, 79-87.
6) Yamauchi E., Watanabe R., Oikawa M., Fujimoto H., Yamada A., Saito K., Murakami M., Hashido K., Tsuchida K., Takada N., Fugo H., Tu Z., Maekawa H. (2007) Application of real time PCR for the quantitative detection of radiation-induced genomic DNA strand breaks, *J. Insect Biotech. Seric.*, **77**, 17-24.

2.　邦文発表

1) 土田耕三・作道隆・中島健陽・藤本浩文・高田直子・片岡宏誌・瀬筒秀樹・田村俊樹（2007）カイコが黄色の繭を作るメカニズム―カロチノイド選択的輸送の解明，ブレインテクノニュース，**123**，26-30.
2) 土田耕三(2007) 目で見るバイオ、バイオプラザ 21，**6**，3.
3) 川西祐一・伴野豊・藤本浩文・中島裕美子・前川秀彰(2008) カイコとクワコの進化的繋がり　＝転移因子研究との関わりを含めて＝，Entomotech，**32**，79-86.
4) 作道隆，土田耕三(2008) 体色色素カロテノイドの選択的輸送を担う蛋白質．蛋白質 核酸 酵素，53，125-131.
5) 土田耕三，作道隆，伴野豊（2008）黄は白にまさる―カイコの繭の色から．生物の科学 遺伝，62，15-20.

Ⅱ．学 会 発 表

放射能管理室

1. 国際学会

1) Fujimoto H., Pinak M., Bunta J.K., Nemoto T., Takada N., Maekawa H., Tsuchida K. Molecular dynamics (MD) simulation of Ku heterodimer with double strand DNA molecule, The 13th International Congress of Radiation Research (ICRR2008), July, 2007, San Francisco USA.
2) Fujimoto H., Pinak M., Bunta J.K., Nemoto T., Takada N., Maekawa H., Tsuchida K. Structural analysis of the interaction between the Ku protein and DNA by using a molecular dynamic simulation technique, New Nuclear Research Symposium Biological Response to Low Dose Radiation, Nov. 2007, Tokyo, Japan.

招待講演

3) Tsuchida K. Intercellular carotenoid transport by Y gene. Gordon Research Conference, Ventura, USA, 2007.

2. 国内学会

1) 中島健陽・藤本浩文・高田直子・前川秀彰・中垣雅雄・土田耕三.クワコにもカロチノイド結合タンパク質が存在する. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会,つくば, 2007 年 4 月.
2) 作道隆, 瀬筒秀樹, 小林功, 内野恵郎, 片岡宏誌, 田村俊樹, 土田耕三. カロテノイド結合タンパク質遺伝子の導入による白血白繭系統からの黄血黄繭の発現.蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, つくば, 2007 年 4 月.
3) 作道隆. 繭の色を支配する黄血遺伝子の同定. 昆虫遺伝学研究会, つくば, 2007 年 4 月.
4) 藤本 浩文, Miroslav Pinak, Juraj Kotulic Bunta, 根本 俊行, 前川 秀彰, 作道 隆, 高田 直子, 土田 耕三,「Ku タンパク質による DNA 二本鎖切断末端認識機構の分子動力学的解析」, 第 21 回分子シミュレーション討論会, 金沢, 2007 年 11 月.
5) 藤本 浩文, Miroslav Pinak, Juraj Kotulic Bunta, 根本 俊行, 前川 秀彰, 作道 隆, 高田 直子, 土田 耕三,「分子動力学的シミュレーションを用いた Ku タンパク質と DNA 分子の結合能に関わるアミノ酸残基の検索」第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2007), 横浜, 2007 年 12 月.
6) 中島健陽, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 中垣雅雄, 土田耕三. カイコとクワコのカロテノイド結合タンパク質遺伝子の比較. 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会, 横浜, 2007 年 12 月.
7) 土田耕三, 横山健, 中島健陽, 作道隆, 高田直子, 藤本浩文, 岩野秀俊. カイコ胚発生期におけるアポリポホリンーIII 発現の経時観察. 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会, 横浜, 2007 年 12 月.
8) 作道隆, 中島健陽, 藤本浩文, 高田直子, 土田耕三. カイコを色づける黄血遺伝子の構造. 昆虫ゲノム研究会, 東京, 2008 年 3 月.
9) 中島健陽, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 中垣雅雄, 嶋田透, 土田耕三. クワコカロテノイド結合タンパク質遺伝子の解析. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 名古屋, 2008 年 3 月.
10) 横山健, 作道隆, 中島健陽, 藤本浩文, 高田直子, 岩野秀俊, 土田耕三. カイコ apo Lipid Transfer Particle-III の DNA 塩基配列の決定. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 名古屋, 2008 年 3 月.
11) 土田耕三. カイコ *Y* 遺伝子とその対立遺伝子の分子機構の解明. 蚕糸学賞受賞者記念講演, 名古屋, 2008 年 3 月.

招待講演

土田耕三　カロテノイドの吸収と体内輸送系の解明、岩手大学農学部 2007 年.

研究内容新聞等紹介

毎日新聞 2007 年 5 月 8 日、日経バイオ電子版 2007 年 5 月 8 日、朝日新聞　2007 年 5 月 21 日、高知新聞 2007 年 5 月 28 日、中部経済新聞 2007 年 6 月 1 日、北海道新聞 2007 年 6 月 7 日、静岡新聞 2007 年 6 月 10 日、大分合同新聞 2007 年 6 月 11 日、岩手日報、2007 年 7 月 3 日、その他

１７．動 物 管 理 室

室 長　山 田　靖 子

概　要

平成 18 年度に「動物の愛護及び管理に関する法律」、「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」、「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」が施行および策定され、それに基づいて感染研内の動物実験に関わる規程が策定および改正された。平成 19 年度は新規程に則った運用を開始し、初年度の大きな作業は、感染研内のすべての動物実験施設の所長による承認であった。動物実験委員会は各動物実験区域から施設申請書を提出させ、飼養・保管等に関して現場立ち入り調査を行い、所長に結果報告を行った。すべての施設は所長の承認を得たが、改善すべき事項に対して今後改善計画を進めることとなる。

感染研では生物学的製剤の国家検定に国内ブリーダー生産のモルモットを使用しているが、従来使用していたクリーングレードの生産が打ち切られることになった。検定担当部によりデータの再現性が確認された後、SPF グレードに切り替えられた。また、戸山庁舎においては動物輸送箱をリサイクル用プラスチック容器に変更した。

平成 19 年度にバイオリスク管理委員会は感染研から搬出される物品を検査する体制を立ち上げた。感染研から搬出される動物については、動物管理室が梱包時の確認を行うこととなり、搬出チェックリスト等のルールを策定した。

戸山庁舎動物実験管理区では、洗浄室にパスルーム、管理区出入り口に手洗い用流し台、各飼育室に緊急放送受信用スピーカーを設置し、管理区の運用面で従来の問題点を払拭することができた。

村山庁舎では、動物飼育担当者が飼育中のカニクイザルに咬まれる事故が１件発生した。事故報告を行い、その後の健康調査を続けて問題がないことを確認した。また、動物管理室内の連絡体制など善後策を検討した。

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を行っている。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、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、モルモットサイトメガロウイルスの血清診断法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。

所外からの施設見学および講演希望に対して、5 月中国動物実験施設視察団、6 月東京大学獣医学科、10 月ソウル大学、12 月アジアバイオセーフティ地域研修会に対応した。また、国内から動物実験施設の管理運営の研修を目的とした研究生１名を受け入れた。

平成 20 年 3 月に主任研究官　須崎百合子、動物飼育担当　増子芳郎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 年度に動物実験に関わる感染研内の各種規程を改正したが、改正後の講習会を受講した人数は 534 名となり、平成 19 年度に申請された動物実験計画は 274 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 20 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 338 人、村山庁舎 180 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 9 日	戸山	26		43
6 月 5 日	戸山	18		21
7 月 17 日	*戸山*	*1*		*3*
7 月 17 日	村山		2	
7 月 19 日	村山		6	
8 月 1 日	戸山	9		13
10 月 2 日	戸山	13		16

10 月 17 日	村山		1	
11 月 19 日	*戸山*			*2*
12 月 4 日	戸山	7		9
12 月 4 日	*戸山*			*1*
12 月 21 日	村山		2	
1 月 29 日	*戸山*			*1*
2 月 1 日	戸山	8		11
合計		82 （新規）	11 （新規）	120 （年度内受講者数）

（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。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、平井明香、増子芳郎、小川敏雄、山田靖子]

II　実験動物の感染症に関する研究

II-1　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 (B6/R1) マウスは CEACAM1a(R1)を、抵抗性 SJL マウスは CEACAM1b(R2)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、遺伝子組換えにより R1 を R2 に置換した C57BL/6（B6/R2）マウスを作製した。B6/R2 マウスにおける R2 蛋白の発現は、B6/R1 マウスの R1 および SJL マウスの R2 と同程度であることが確認された。そこで、B6/R1 および SJL マウスと共に 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結果、B6/R2 マウスは B6/R1 マウスと比べ MHV 感染時の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。また、B6/R2 マウスは、R2 を保有する SJL マウスより高い抵抗性を示した。以上のことから、C57BL/6 と SJL の感受性の差は、CEACAM1 (R1,R2)の受容体活性だけでは説明できないと考えられ、本遺伝子以外にも MHV 感受性に関与する遺伝子が存在する可能性が示唆された。[平井明香、網康至、山田靖子、田口文広 [1)]（[1)] ウイルス第 3 部)]

II-2　モルモットサイトメガロウイルス血清診断法の検討

モルモットサイトメガロウイルス(GPCMV)はヨーロッパでは高頻度に実験用モルモットに汚染が確認されているが、日本では調査さえ行われていない。日本の汚染検査を行う目的で、血清診断法を検討した。第１に GPCMV 感染細胞の Lysate を抗原として ELISA を試みた。感染モルモット血清を陽性コントロールとしたが、陽性血清で十分な反応が得られなかった。第２に GPCMV 感染細胞をスライドグラス上で固定し、蛍光抗体法を試みた。感染血清で細胞の核部分に十分な蛍光反応を得たが、検査した血清の中には感染細胞の核と反応するものがあり、特異的な反応との区別が付きにくいことが判明した。第３に発現させた GPCMV-IE2 蛋白を抗原とした ELISA を試みたが、感染血清で十分な陽性反応が得られなかった。さらなる検討が必要である。

[山田靖子、田原口元子、滝本一広、野沢直樹 [1)]、井上直樹 [1)]（[1)] ウイルス第１部）]

III　モデル動物の開発

III-1 麻疹ウイルス感染症モデル動物の開発と病態解析

麻疹ウイルスの脳内侵入経路を明らかにする目的で、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。血清中の抗麻疹ウイルス抗体の反応性を感染 B95a 細胞溶解産物を抗原としてウエスタンブロッティング法により解析を行ったところ、脳脊髄液中の麻疹ウイルス中和抗体が持続して検出された個体では、感染１年後から分子量 16～18kD の蛋白を認識する抗体がこの個体のみに観察された。現在この反応する蛋白について解析中である。

[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）を飲水に混ぜて若齢（約 2 ヶ月齢）の BK48 マウスに長期（7 ヶ月）間投与し、脳の 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 32.3%、基底核で 37.5%、小脳で 22.8%、脳幹で 39.3%に減少し、投与群のアシアロ GM1 は非投与群に比べ、大脳で 37.1%、基底核で 41.1%、小脳で 33.7%、脳幹で 59.5%に減少した。若齢時から NOEV を投与したことにより、GM1 および GA1 の蓄積が抑制されたことが示唆された。［滝本一広, 鈴木義之 [1] ([1] 国際医療福祉大学大学院)］

発 表 業 績 一 覧

I 誌上発表

I-1 欧文発表

1) Hara M, Kikuchi T, Sata T, Nakajima N, Ami Y, Sato Y, Tanaka K, Narita T, Ono F, Akari H, Terao K, Mukai R. (2007): 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(2):281-8.
2) Fumio Ike, Franck Bourgade, Kazutaka Ohsawa, Hiroshi Sato, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, Ichiro Kurane, Kazuhiro Takimoto, Yasuko K Yamada, Jean Jaubert, Marion Berard, Hatsumi Nakata, Noriko Hiraiwa, Kazuyuki Mekada, Akira Takakura, Toshio Itoh, Yuichi Obata, Atsushi Yoshiki, and Xavier Montagutelli. (2007): Lymphocytic choriomeningitis infection undetected by dirty-bedding sentinel monitoring and revealed after embryo transfer of an inbred strain derived from wild mice. Comparative Medicine. 57(3):272-281.
3) Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, Ohkubo M, Watanabe H, Iwasaki H, Matsuda J, Noguchi Y, Takimoto K, Itoh M, Tabe M, Iida M, Kubo T, Ogawa S, Nanba E, Higaki K, Ohno K, Brady RO. (2007): Chemical chaperone therapy: clinical effect in murine G(M1)-gangliosidosis. Annals of neurology. 62(6):671-675.

I-2 和文発表

1) 網 康至(2007): SSPE モデル動物開発の試み。日本臨床、65(8)、1506-1512.
2) 山田靖子(2007): 実験動物の感染症―マウス肝炎ウイルス(MHV)の現状と課題―。アニテックス、19（２）、48-50.

Ⅱ 学会発表

II -1 国内学会

1) 田原口元子、牛尾博子、滝本一広、山田靖子：マウス肝炎ウイルス感染におけるマスト細胞の役割。第 143 回日本獣医学会学術集会、平成 19 年 4 月、筑波。
2) 福士秀悦、前田 健、平井明香、新倉 綾、山田靖子、横山 勝、吉川泰弘、水谷哲也、酒井宏治、西條政幸、倉根一郎、森川 茂：コウモリ由来 ACE2 を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析。第 55 回日本ウイルス学会、平成 19 年 10 月、札幌。
3) 福士秀悦、平井明香、新倉 綾、山田靖子、前田 健、吉川泰弘、横山 勝、水谷哲也、酒井宏治、西條政幸、倉根一郎、森川 茂：コウモリ由来 ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析。人と動物の共通感染症研究会学術集会、平成 19 年 11 月、東京。
4) 山田靖子：動物実験におけるバイオセーフティ。第 7 回日本バイオセーフティ学会総会、平成 19 年 11 月、東京。
5) 滝本一広：ELISA による実験動物の LCMV 汚染検査、理研シンポジウム「マイクロ流体チップの研究開発-デバイス開発と感染症検査分析への応用-」、平成 20 年 2 月、和光。

（別表１）

定期的微生物モニタリング成績

病原体検査項目		検査方法	年間検査結果　（陽性数/検査数）					
			戸山庁舎			村山分室		
			マウス	ウサギ	モルモット	マウス	ウサギ	モルモット
サルモネラ	Salmonella spp.	培養	0/264	0/2	0/10	0/192	0/72	0/96
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/264	0/2	0/10	0/192	0/72	0/96
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	0/264	0/2	0/10	82/192	0/72	0/96
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	28/264	0/11	21/55	65/192	0/72	58/96
腸粘膜肥厚菌	Citrobacter rodentium	培養	0/264			0/192		
肺パスツレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/264			0/192		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/264			0/192		
肺マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養･血清反応	0/264			0/192		
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	0/264	0/2	0/10	0/192	0/72	0/96
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus(MHV)	血清反応	0/264			0/192		
エクトロメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/96			0/64		
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス	Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)	血清反応	0/96			0/64		
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/264					
スピロヌクレウス（ヘキサミタ）	Spironucleus muris (Hexamita muris)	鏡検	0/264					
ネズミ盲腸蟯虫	Syphacia spp.	鏡検	0/264					
ネズミ大腸蟯虫	Aspiculuris tetraptera	鏡検	0/264					
嚢尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検･肉眼所見	0/264					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/264					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/264					
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．検定検査品質保証室

室 長　山 口　一 成

概　要

当室は、生物学的製剤および抗菌性物質製剤の国家検定・検査における成績の総合評価ならびに標準品の管理・評価などを通じて、より一層の国家検定・検査の信頼性の確保を図るために、平成 19 年 4 月 1 日に新設された。初代の室長として山口一成が、血液・安全性研究部長との併任で就任した。平成 19 年 5 月 10 日には、血液・安全性研究部 内藤誠之郎、細菌第二部 落合雅樹、ウイルス第三部 大槻紀之が、当室に併任された。平成 19 年 10 月 1 日には、内藤誠之郎が当室に配置換えとなり、血液・安全性研究部に併任された。平成 19 年 10 月 15 日には、当室の技術補助員として内田孝子が採用された。

本年度の前半は、部屋の什器類の整備および事業計画の作成などの新しい部屋を立ち上げるための準備作業にあてられた。10 月には、正職員として配置換えにより内藤が着任し、補助員として内田が採用されたことから、業務を遂行する体制が整った。以下に、本年度、当室で行った品質管理、品質保証に関する主な業務項目を挙げると、１．検定・検査業務必携の編集と発行、２．検定検査品質保証室ホームページの開設、３．国家検定の実施に関わる標準作業手順書（SOP）の取扱要領の策定、４．国家検定の実施に関わる SOP 原本の当室での一元管理システムの導入、５．生物学的製剤基準試験法の改良・開発研究に関する調査の実施、６．検定業務評価委員会による定期査察への参加、などである。また、生物学的製剤に関する研究業務として、引き続き、内藤を中心に、１．経皮ワクチンに関する研究 ２．血液製剤に対する発熱試験法の見直しに関する研究 が行われた。

近年、各方面で品質マネジメントシステム整備の重要性が叫ばれており、各国の国家検定試験所（National Control Laboratory, NCL）においても、試験所の品質マネジメントシステムの国際的デファクトスタンダードである ISO 17025:2005 を導入する動きがある。国立感染症研究所としても、NCL として国際的にも理解の得られる国家検定の品質および信頼性の水準を維持するためには、より一層の品質保証体制の整備が求められると思われる。当室では、これに対応して、来年度以降も国家検定・検査に関わる品質マネジメントシステムの整備に尽力してゆく所存である。さらなる SOP 整備の推進、各種の指針・規程等の策定、関連する委員会（品質保証運営委員会、検定業務評価委員会、教育研修小委員会、検定機器小委員会、検定コンピュータ小委員会）との連携と分担の明確化が今後の課題である。

業　績

調査・研究

Ⅰ．生物学的製剤に関する研究

1．経皮ワクチンに関する研究

(1) 経皮ワクチンによる粘膜免疫応答の誘導

卵白アルブミン（OVA）溶液を含有したガーゼパッチを、マウスの耳介に 16 時間添付する方法で経皮免疫した。同様の免疫を 3 回繰り返した後、糞便抽出液中の抗体を ELISA 法で測定したところ、有意な OVA 特異的 IgA および IgG 抗体が検出された。以上より、皮膚免疫系と粘膜免疫系に何らかのクロストークの機構があることが示唆された。[内藤誠之郎、前山順一（血液・安全性研究部）]

(2) 経皮ワクチンによる IgE 抗体産生

OVA 溶液を含有したガーゼパッチを、マウスの耳介に 16 時間添付する方法で経皮免疫した。同様の免疫を 3 回繰り返した後、血清中の IgE 抗体を抗体 capture-ELISA 法で測定したところ、有意な OVA 特異的 IgE 抗体が検出された。アジュバントとして CpG-ODN またはコレラトキシン B サブユニットを、OVA と同時に投与したところ、OVA 特異的 IgE 抗体産生は減少する傾向が認められた。[内藤誠之郎、前山順一（血液・安全性研究部）]

(3) スギ花粉蛋白の経皮免疫

経皮ワクチンをスギ花粉症の免疫療法（減感作療法）に応用する目的で、スギ花粉蛋白（SBP）を含んだガーゼパッチをマウスの耳介に 16 時間貼付する方法で経皮免疫した。試薬として販売（和光純薬）されている濃度（200 μg/ml）の SBP を経皮免疫した場合（マウスあたり 10 μg投与）には、血清中に有意な SBP 特異的 IgG 抗体産生は検出できなかったが、5 倍に濃縮して投与したところ（マウスあたり 50 μg投与）、有意な抗体産生が誘導

された。[内藤誠之郎、阪口雅弘（麻布大学）]

２．血液製剤に対する発熱試験法の見直しに関する研究

(1) ウサギへの検体投与量の見直し

前年度に引き続き、５種類の血液製剤（静注用人免疫グロブリン製剤、乾燥濃縮人血液凝固第 VIII 因子製剤、人ハプトグロビン製剤、乾燥人フィブリノゲン製剤、5%人血清アルブミン製剤）について、エンドトキシン添加製剤を新旧２種類の投与量でウサギに投与して発熱反応を測定し、投与量を増量することに問題がないかどうか確認するためのデータを集積した。その結果、いずれの製剤においても、現投与量に比べて新投与量の方が強い発熱反応を誘導する傾向が認められ、投与量を増量することに問題は認められなかった。したがって、臨床投与量との整合性および国際調和の観点から、これら５種類の血液製剤については、発熱試験法におけるウサギへの投与量を増量することが適当であると考えられた。[内藤誠之郎、前山順一（血液・安全性研究部）、山口一成]

(2) 血液製剤によるエンドトキシン発熱反応の増強

エンドトキシン規格値を適正に設定するために、血液製剤によるエンドトキシン発熱活性に対する増強作用を検討した。21 品目の血液製剤について検討し、乾燥濃縮人血液凝固第 VIII 因子製剤、乾燥濃縮人血液凝固第 IX 因子製剤、乾燥人フィブリノゲン製剤、乾燥濃縮人アンチトロンビン III 製剤および乾燥濃縮人活性化プロテイン C 製剤において、3.6 倍から 8.9 倍の有意な発熱増強活性を認めた。これらの製剤のエンドトキシン規格値は、増強率に応じて補正すべきであると考えられた。人免疫グロブリン製剤 15 品目については、逆に発熱を抑制する傾向を認めた。人ハプトグロビン製剤では、エンドトキシン発熱活性に対する有意な影響は認められなかった。[内藤誠之郎、浜口　功（血液・安全性研究部）、山口一成]

(3) エンドトキシン規格値の算定と試験法適用の可能性

個々の血液製剤について、エンドトキシン発熱活性の増強作用も考慮に入れてエンドトキシン規格値を算出した。さらに、算出したエンドトキシン規格値にもとづいて最大有効希釈倍数（MVD）を試算し、個々の血液製剤についてエンドトキシン試験法適用の技術的可能性を判断した。その結果、乾燥濃縮人アンチトロンビン III 製剤を除いて、エンドトキシン試験法の適用が可能であると考えられた。同製剤は、強い反応阻害作用があり、通常の方法ではエンドトキシン試験法の適用が困難と考えられた。エンドトキシン試験法ではエンドトキシン以外の発熱性物質を検出できないことに留意する必要があるが、実際上の発熱性物質混入リスクとエンドトキシン試験法導入によるメリットを勘案し、発熱試験法に替えてエンドトキシン試験法を導入することを、積極的に検討すべきと考えられた。[内藤誠之郎；浜口　功、益見厚子（血液・安全性研究部）；落合雅樹、山本明彦、堀内善信（細菌第二部）；山口一成]

品質管理に関する業務

Ⅰ．標準作業手順書（SOP）の管理に関する業務

1. 国家検定に関する SOP の取扱要領の制定

これまで各検定担当部室にまかされていた SOP の文書管理について、所内で統一的な取扱いをするために、国家検定に関する SOP を「作成」「修正」「改訂」「廃止」する場合の各取扱要領を定めた。これらの取扱要領は、品質保証運営委員会での審議を経て、平成 20 年 1 月 24 日に業務運営委員会で承認されたのち、平成 20 年 2 月 7 日に検定協議会で承認された。[内藤誠之郎、内田孝子、落合雅樹、大槻紀之、山口一成]

2. 国家検定に関する SOP 原本の検定検査品質保証室での一元管理の導入

国家検定に関する SOP の管理を徹底するために、原本を検定検査品質保証室で一元管理することが、平成 19 年 12 月 27 日の業務運営委員会で決定された。これを受けて、平成 20 年 3 月 17 日から、各担当室からの SOP 原本提出の受付を開始した。SOP 原本は、「検定検査試験手順書作成要綱」に照らして様式を検査した後に受け付けて、部室ごとに整理してファイルし、施錠保管庫に保管した。受け付けた SOP 原本は、マスターファイルに登録し、検定検査品質保証室のホームページ上で確認できるようにした。今回提出された SOP 原本を通覧したところ、内容、様式に統一性が欠ける問題点が明らかになった。今後、「検定検査試験手順書作成要綱」の改定、標準様式の提示などにより標準化を図ることが必要と考えられた。[内藤誠之郎、内田孝子、山口一成]

Ⅱ．標準品の管理に関する業務

1. 標準品の管理に関する国際研修への参加

平成 20 年 3 月 11-12 日に英国 National Institute of Biological Standards and Control（NIBSC、国立生物学的製剤研究所）で開催された国際研修”Principles of Biological Standardization Training Course”（生物学的製剤標準化の原理）に参加して、標準品に関する理解を深めるとともに、

講師および参加者との意見交換を行った。[内藤誠之郎、清原知子（ウイルス第二部)、岩城正昭（細菌第二部）]

Ⅲ．教育・訓練に関する業務

1. 検定・検査業務必携の編集、発行

検定・検査業務必携は、検定業務を適正に執行するために必要な情報をまとめた参考書である。はじめて検定に携わる者にとっては入門書となり、すでに検定に携わっている者にとっては、必要に応じて参照すべきマニュアルである。前回の改訂から 2 年が経過し、実態と相違する部分も出てきたことから、改訂作業を行い、平成 20 年 3 月に新版を発行した。また、今年度からは、検定検査品質保証室のホームページでも検定・検査業務必携を閲覧できるようにし、必要に応じて改訂原稿を掲載することにした。[内藤誠之郎、内田孝子、山口一成]

Ⅳ．内部監査に関する業務

1. 検定業務評価委員会による査察への参加

生物学的製剤の品質管理に関わる業務が遺漏なく執り行われていることを確認することを目的に、年に１回、検定業務評価委員会による定期査察が行われている。今年度は、当室が発足して初年度ということで、すべての査察に同行して、必要に応じて意見を述べた。[内藤誠之郎]

Ⅴ．生物学的製剤基準に関する業務

1. インフルエンザ HA ワクチンの白血球減少試験に関する検討会の開催

インフルエンザ HA ワクチンのマウス白血球減少試験について、所内関係者（細菌第二部、ウイルス第三部、血液･安全性研究部、免疫部）による議論の場を設定し、今後の方針を決定した。会議の要旨は、議事録にまとめた。[内藤誠之郎、山口一成]

2. 生物学的製剤基準試験法の改良･開発研究に関する調査

生物学的製剤基準の試験法を、科学技術の進歩および社会的要求の変化に応じて改良・開発していくことは、生物学的製剤の品質、安全性および有効性を確保していく上で重要である。この方向での研究開発を促進する方策を探るために、所内で実施されている研究に関してアンケート調査を実施した。さらに、複数上がった研究課題について業務運営委員会で選任された評価委員に評価していただき、５課題について厚生労働科学研究費補助金の交付を申請した。[内藤誠之郎、山口一成]

3. 沈降新型インフルエンザワクチン（H5N1 株）の生物学的製剤基準英訳版の校正

沈降新型インフルエンザワクチン（H5N1 株）の製造販売が承認され、あらたに生物学的製剤基準が定められた。ウイルス第三部第一室で作成した基準の英訳版について、他の基準との整合性などの観点から校正を行なった。[内藤誠之郎]

Ⅵ．その他

1. 検定検査品質保証室のホームページの開設

検定検査業務の円滑な遂行に資するために、NIH-Net User’s Page の委員会のページに検定検査品質保証室のホームページを開設した。このサイトを利用して、検定検査関係の内規や検定・検査業務必携などの閲覧および検定検査品質保証室への届け出様式のダウンロードができるようにした。また、検定検査関係の各種の情報提供を行った。[内田孝子、内藤誠之郎、山口一成]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1) Naito S, Maeyama J, Mizukami T, Takahashi M, Hamaguchi I, Yamaguchi K. Transcutaneous immunization by merely prolonging the duration of antigen presence on the skin of mice induces a potent antigen-specific antibody response even in the absence of an adjuvant. Vaccine 25: 8762-70, 2007.

2) Kuramitsu M, Hamaguchi I, Mizukami T, Masumi A, Momose H, Takizawa M, Mochizuki M, Naito S, Yamaguchi K. Deficient RSP19 protein production induces cell cycle arrest in erythroid progenitor cells. British Journal of Haematology 140: 348-59, 2007.

3) Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Noce T, Hamaguchi I, Yamaguchi K. Identification of transcripts commonly expressed in both hematopoietic and germ-line stem cells. Stem Cells and Development 17: 67-80, 2008.

4) Mizukami T, Imai J, Hamaguchi I, Kawamura M, Momose H, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K. Application of DNA microarray technology to influenza A/Vietnam/1194/2004(H5N1) vaccine safety evaluation. Vaccine 26: 2270-83, 2008.

2．和文発表

1）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): 226-31, 2007.

2）内藤誠之郎：発熱性物質試験法. GMP 微生物試験法, 佐々木次雄, 棚元憲一, 川村邦夫編.（株）じほう, in press.

Ⅱ. 学 会 発 表

1．国際学会

1）Naito S, Ochiai M, Yamamoto A, Maeyama J, Masumi A, Hamaguchi I, Yamaguchi K, Horiuchi Y. Application of the Limulus amebocyte lysate test to various blood products as an alternative method to the rabbit pyrogen test. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Science. August 21-25, 2007, Tokyo.

2）Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Mochizuki M, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Noce T, Hamaguchi I, and Yamaguchi K: Identification of transcripts commonly expressed in both hematopoietic and germline stem cells.-Spp1 (Secreted phosphoprotein 1) is essential for the early niche formation in the bone marrow. 第５回国際幹細胞学会 （Cairns Australia） 2007,6.

3）Masumi A, Hamaguchi I, Mizukami T, Kuramitsu M, Momose H, Takizawa K, Naito S,Yamaguchi K：The role for Interferon regulatory factor-2 on hematopoietic differentiation. 第 50 回国際インターフェロン・サイトカイン学会（Oxford, England）2007. 9.

2．国内学会

1）益見厚子、浜口　功、水上拓郎、倉光　球、百瀬暖佳、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 の造血幹細胞分化に及ぼす役割．第 127 回日本薬学会．平成 19 年 3 月，富山．

2）水上拓郎、浜口功、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：生殖幹細胞と造血幹細胞の分子基盤の解明．第143回日本獣医学会学術集会，平成19年4月，筑波．

3）倉光球、浜口功、水上拓郎、百瀬暖佳、滝沢和也、益見厚子、望月雅代、内藤誠之郎、山口一成：先天性赤芽球癆におけるリボソームタンパク質 S19(RPS19)の遺伝子変異と細胞増殖との関係の解析．第 55 回日本輸血・細胞治療学会，平成 19 年 5 月，福岡．

4）水上拓郎・浜口功・滝沢和也・倉光球・百瀬暖佳・内藤誠之郎・益見厚子・岡田誠治*・山口一成：髄外造血機構を用いた造血幹細胞ニッチの解析. 第69回日本血液学会総会，平成19年10月，横浜．

5）倉光球、浜口功、水上拓郎、益見厚子、百瀬暖佳、滝沢和也、望月雅代、内藤誠之郎、山口一成：リボソームタンパク質S19の遺伝子変異に伴う細胞周期のG1/G0停止と先天性赤芽球癆との関係．第69回日本血液学会総会，平成19年10月，横浜．

6）百瀬暖佳、浜口功、倉光球、水上拓郎、益見厚子、滝澤和也、内藤誠之郎、山口一成：受容体型チロシンキナーゼTie2によるAngiopoietin-1の発現調節機構の解析．第69回日本血液学会総会，平成19年10月，横浜．

7）益見厚子、浜口功、水上拓郎、倉光球、滝沢和也、百瀬暖佳、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の巨核球分化における役割．第69回日本血液学会総会，平成19年10月，横浜．

8）内藤誠之郎，前山順一，水上拓郎，長谷川秀樹，浜口功，山口一成：経皮ワクチンに関する研究―抗原の皮膚送達促進による免疫効果の増強とインフルエンザHAワクチンへの応用. 第11回日本ワクチン学会，平成 19 年 12 月，横浜.

9）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，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パンデミックインフルエンザワクチン（H5N1）の安全性・有効性評価法の試み．第 11 回日本ワクチン学会，平成 19 年 12 月，横浜.

10）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、水谷哲也、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（QuantiGene Plex 法）を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み. 第 11 回ワクチン学会，平成 19 年 12 月，横浜.

11）水上拓郎・浜口　功・滝沢和也・倉光　球・百瀬暖佳・内藤誠之郎・益見厚子・岡田誠治・山口一成：髄外造血機構を用いた造血幹細胞ニッチの解析．第 145 回日本獣医学会，平成 20 年 3 月，相模原．

１９．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。

IDSC には、ラボ機能もある。予防接種関連疾患のウイルス診断、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。ことに、不明疾患のスクリーニングに関しては、感染研各専門部と競合しないような形での機能充実を図っており、また外部からの検査依頼に関して感染研の窓口機能なども要に応じて引き受けている。自治体などにおける病原体検査の標準化、検査法の伝達などの病原体診断にかかわる技術伝達講習も行っている。

IDSC は、上記のような機能を 6 室で分担ないしお互いに協力し合いながらし、主に以下のような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。 パンデミック対策は、IDSC スタッフ参加のもと一室を中心にして取り組んでいる。

第二室　（感染症情報室：多田有希室長）

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。麻疹対策は、IDSC スタッフ参加のもと、三室を中心に行っている

第四室 （病原診断室：藤本嗣人室長）

他の部の所管に属さない病原体に関すると思われる原因不明疾患の微生物学的検査、レファレンス、病原診断のための方法の開発を行っている。全国衛生微生物技術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。ことに、不明疾患のスクリーニングに関しては、感染研各専門部と競合しないような形での機能充実を図っており、また外部からの検査依頼に関して感染研の窓口機能なども果たしている。

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、センター長岡部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。

- 厚生省労働省健康危機管理調整会議委員
- 厚生労働省厚生科学審議会臨時委員（感染症分科会員、新型インフルエンザ対策ワーキンググループ委員長）
- 厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員（医療機器・体外診断薬診断部会員）
- 厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員（食中毒部会員）
- 厚生労働省疾病・障害認定審査会臨時委員（感染症・予防接種審査分科会委員長）
- 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）
- 内閣府危機管理官テロ対策アドバイザー（バイオテロ）

  など

また同様に WHO の依頼による、専門委員等の委嘱も 受けている。

- WHO 本部　IHR 国内連絡担当

・ WHO 本部　予防接種戦略策定諮問委員会
参加メンバー
・ WHO/WPRO　ポリオ根絶地域確認委員会副議
（副議長）
・ WHO/WPRO　拡大予防接種計画技術諮問委員会
参加メンバー
・ WHO/WPRO 新興感染症、IHR 技術諮問委員会
参加メンバー
その他、臨時の諮問委員等

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「効果的なサーベイランスの評価並びに改良に関する研究」（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、新型インフルエンザ対策や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、多田有希、安井良則、藤本嗣人、山下和予、重松美加、砂川富正、中島一敏、大日康史、島田智恵、菅原民枝、井内田科子、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

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「効果的な感染症サーベイランスの評価並びに改良に関する研究」（主任研究者　谷口清州）の一環として、まず、定点報告疾患について、注意報・警報システム及び全国罹患数推計の検討および検討方法の評価を継続して行った。特に本年度は、昨年度の研究として提案した「都道府県の警報レベル設定」を、厚生労働省を通じ、都道府県に事務連絡できた。さらに、全数報告疾患のうち 3 類、4 類および 5 類の一部について、時間的・空間的分布の解析を継続して行った。

［多田有希、谷口清州、重松美加、安井良則、橋本修二（藤田保健衛生大学）、川戸美由紀（藤田保健衛生大学）、大田晶子（埼玉医科大学）、泉田美智子（埼玉医科大学）、永井正規（埼玉医科大学）］

３．中央感染症情報センターの視点からの感染症サーベイランスの評価と改善に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「効果的な感染症サーベイランスの評価並びに改良に関する研究」（主任研究者　谷口清州）の一環として、中央感染症情報センターの立場から、感染症発生動向調査の現状を検討した。

2006 年 4 月稼動のシステムは、旧システムと比較して、報告の適時性向上が認められ、対象疾患の変更などにも柔軟に対応可能となっていた。一方、患者情報と病原体情報の連携状況や、入力・解析作業の効率化はさらに改善すべき点が多いといえることがわかった。今後も検討を継続し、改善を図る。

［多田有希、島田智恵、加藤信子、山下和予、吉川昌江、阿保満（東京都健康安全研究センター）、鈴木智之（群馬県衛生環境研究所）、松館宏樹（岩手県環境保健センター）、森山和郎（大阪府健康福祉部）］

４．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うち、外来受診時の症状、救急車搬送、学校欠席者、調剤薬局のサーベイランスについて実証研究を行った。一部の地域でサーベイランスを稼動させ、情報を保健所・県庁に提供し、早期共有に貢献した。研究成果を国内の症候群サーベイランスへの活用をはじめ、東南アジア、中国、韓国へ紹介した。

[大日康史、菅原民枝、吉田眞紀子、谷口清州、岡部信彦]

５．アメリカ合衆国の院内感染サーベイランスシステム事業への参画および研究的解析

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（CDC）、Mary Andrus（CDC）、Jonathan Edwards（CDC）］

６．麻疹発生ＤＢおよび百日咳発生ＤＢの構築・運用

平成 18 年の関東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 を構築し、本年度も運用した。平成 20 年からの全数報告への移行の検討に際して、サーベイランスの項目の有用性についての情報を提供した。 百日咳についても同様に、平成 19 年の集団発生を受けて、百日咳発生 DB を構築した。

［大日康史、菅原民枝 、山本（上野）久美 、多屋馨子 、安井良則 、西藤なるを(西藤こどもクリニック)、砂川富正 、岡部信彦］

７．ノロウイルス集団感染調査マニュアル案の策定・公表

厚労省監視安全課からの依頼により、食中毒および感染症の両方のパターンを取りうるノロウイルス集団感染時の調査マニュアル案を、「ノロウイルス集団発生事例に対して感染症および食品部局が共同で実施する初期実地疫学調査および微生物学検査のポイント」として公表した。内容は、疫学調査に関する記述および検査診断に関する記述の二つに大別される。しかしながら、まだ実用には遠い内容であり、今後の改善が必須である。

[谷口清州、藤本嗣人、砂川富正、松井珠乃、安井良則、高橋亮太、杉下由行、野田衛（国立医薬品食品衛生研究所）]

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．国際保健規則（IHR 2005）の改正に伴う国内体制に関する研究

IHR の改正に伴い、今までに比べて広範囲な公衆衛生学的な国際的脅威（PHEIC）への対応が求められるようになり、WHO の加盟国は国のフォーカル・ポイントを中心とした報告機構の構築や、コア・キャパシティの確立を 2012 年までに達成することが必要となった。厚生労働省新興再興感染症研究事業「改正国際保健規則への対応体制構築に関する研究」(主任研究者谷口清州）を組織し、米、英、仏、独、豪の先進各国における進捗状況について、報告システム、PHEIC の判断、サーベイランスに着目して情報収集と現地での担当者聞き取り調査を行い、日本が自国に最適は対応を、効率的に実践することを可能にする提言を報告書にまとめた。

［谷口清州、森兼啓太、砂川富正、重松美加、松井珠乃、山本（上野）久美、中島一敏］

２．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測し、公衆衛生的対応を評価、検討した。首都圏、福岡県、仙台市に加えて中京圏、関西圏、宮崎市、沖縄県、札幌市において、首都圏で一例目の新型インフルエンザ感染者がでた後に、地方都市へ感染拡大したと想定したモデルを用いて、被害拡大を予測した。また政策介入として、外出自粛の効果について検討した。それらの流行拡大に関して GIS（地理情報処理システム）を用いて表現し、自治体に提供した。

(2) 数理モデルに用いるパラメーターのうち、人々の行動に関する調査研究を行った。特に、パンデミック時の外出自粛の割合、在宅勤務体制の現状、食料備蓄の現状について検討した。

［大日康史、菅原民枝、谷口清州］

３．バイオテロ対策の数理モデルの開発

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、ペスト、炭疽菌に関して、数理モデルを用いて公衆衛生対応について評価した。その結果を、GIS（地理情報処理システム）を用いて地図上に表現し、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］

４．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、柴崎伸子、佐多徹太郎（感染

病理部)］

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）の研究分担として、バイオテロにおいて利用される可能性のある病原体保有施設を対象としたバイオセキュリティリスクとバイオセーフティリスクを低減し、効果的リスク管理の実践を目標とした研究を行った。科学的なバイオリスク評価手法の確立、リスクコミュニケーションを含めたバイオリスク低減に関する意識向上活動、日常研究活動を支援する継続教育としてのバイオリスク対応の訓練法と教材の提供について、米国、英国、カナダ、国際学術団体と協力し、国際指針の作成、ワークショップやシンポジウムの開催、翻訳どによる情報の普及、施設毎に自己診断できるバイオセキュリティリスク評価ツールの試供版作成を行った。感染症法の改正を受けて、国内の病原体輸送に関する研修会を地方ブロックごとに開催した。

[重松美加、安藤秀二（ウイルス第一部)、佐多徹太郎（感染病理）]

６．感染症法のリスクコミュニケーションに関する研究

厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業「感染症への国民啓発に効果的なリスクコミュニケーション方法と教育方法に関する研究」（主任研究者：丸井英二）の分担研究として、海外旅行、気候変動、パンデミックやバイオテロなどの感染症を取り巻く状況の変化から、あらゆる人にとって知識を身につけ、自己防衛することが重要となったことを受けて、効果的な感染症のリスクコミュニケーションの方法としての、映像、ゲーム、リーフレットの作成に協力し、国際的な感染症におけるリスクコミュニケーションの現状とツールの情報収集を行った。

[重松美加、谷口清州]

７．症候群サーベイランスを用いた高齢者福祉施設の感染症対策強化に関する研究

「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）の一環として、大分県中津保健所と共同で、同保健所管内の高齢者福祉施設を対象に施設内感染症対策に関する研究を行った。施設職員が自律的に維持運用できるよう簡略化した症候群サーベイランスを実施し、施設間ネットワークとともに保健所が感染症対策の指導、コンサルテーションの窓口となるシステムを確立した。感染症発生の早期発見早期対策のみならず、職員の能力開発の向上もみられた。

[中島一敏、谷口清州]

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、菅原民枝、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

18 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。

［大日康史、菅原民枝、前田明日香、柴崎伸子、谷口清州、厚生労働省健康局結核感染症課、18 大都市・特別区衛生主幹部局］

3. インフルエンザ様疾患罹患時の異常行動に関する研究

インフルエンザ様疾患罹患時に見られる異常行動について、2006/2007 シーズンは後ろ向き調査を、2007/2008 シーズンは前向き調査を重度、軽度にわけ実態把握を行い、安全性調査委員会に情報提供した。

［岡部信彦、大日康史、菅原民枝、谷口清州］

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、日本における透析関連感染サーベイランスのシステムを策定した。

［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、宮崎県の内科標榜医療機関を対象としたつつが虫病、日本紅斑熱のサーベイランス認知度および診断・報告状況を調査し、学会発表ならびに医療機関への情報提供を行った

［松井珠乃、佐藤弘、藤本嗣人、岡部信彦］

７．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、平成 18 年度に引き続いて、平成 19 年度も大阪府内 1 施設、愛媛県内 4 施設の合計 5 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、藤井史敏、岡部信彦、谷口清州］

８．インフルエンザ脳症の発生報告について

2006/07 シーズンの国内におけるインフルエンザとインフルエンザ脳症の発生動向について、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と、地方衛生研究所からのインフルエンザウイルス分離報告、及び 2004 年 3 月から新たに 5 類全数把握疾患として届出対象疾患となった急性脳炎の中でのインフルエンザ脳症の発生報告を集計・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、多田有希、多屋馨子、山本（上野）久美、岡部信彦、森島恒雄（岡山大学大学院小児医科学）］

９．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、茨城県、岩手県、徳島県でＳＴＤの全数把握を実施した。また、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、大日康史、多田有希］

１０．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、尖圭コンジローマ、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。定点把握については、前述の研究「性感染症（STD）発生動向調査の評価と解析」と合わせ、地域毎の定点数や診療科比率などを含め、サーベイランスのあり方・妥当性について評価することが今後の課題である。

［岡部信彦、多田有希、宮城裕人、阿保満、鈴木智之、五十嵐正巳］

１１．動物由来感染症の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「我が国における動物由来感染症の感染実体把握に資する研究」(主任研究者　高山直秀)の一環として、臨症現場における動物由来感染症の診療に役立ててもらうことを目的に、感染症法に基づき報告されている動物由来感染症のうち、E 型肝炎、オウム病、日本紅斑熱、ライム病、レプトスピラ症の症状、診断方法などを、集計した。

[多田有希、高山直秀（都立駒込病院）]

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、2007 年 4 月号：アメーバ赤痢、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：HIV/AIDS、7 月号：感染症法の改正、8 月号：デング熱・デング出血熱輸入症例、9 月号：麻疹、10 月号：ノロウイルスの流行、11 月号：インフルエンザ、12 月号：急性脳炎、2008 年 1 月号：レプトスピラ症、2 月号：ボツリヌス症、3 月号：百日咳である。

［山下和予、赤塚昌江、加藤信子、徳永真里子、野地元子、多田有希、安井良則、谷口清州、多屋馨子、藤本嗣人、伊藤健一郎、木村博一、岡部信彦、井上栄（感染症情報センター)、渡邊治雄（副所長、細菌第一部)、寺嶋淳（細菌第一部)、小泉信夫（細菌第一部)、池辺忠義（細菌第一部)、倉根一郎（ウイルス第一部)、高崎智彦(ウイルス第一部)、岸本寿男(ウイルス第一部)、脇田隆字（ウイルス第二部)、武田直和（ウイルス第二部)、米山徹夫（ウイルス第二部)、田代真人（ウイルス第三部)、小田切孝人（ウイルス第三部)、荒川宜親（細菌第二部)、蒲地一成（細菌第二部)、新谷三春（細菌第二部)、高橋元秀（細菌第二部)、見理剛（細菌第二部)、遠藤卓郎（寄生動物部)、中野由美子（寄生動物部)、小林睦生（昆虫医科学部)、今岡浩一（獣医科学部)、佐多徹太郎（感染病理部)、森亨（ハンセン病研究センター)、石井則久(ハンセン病研究センター)、中嶋建介（国際協力室)、山本直樹（エイズ研究センター)、山本茂貴(国立衛研)、北島智子(企画調整主幹)、宮村達男（所長)、吉倉廣（前所長)、滝本浩司（厚生労働省)、三木朗(厚生労働省)、高山研(厚生労働省)、三宅邦明（厚生労働省)、大森豊緑（厚生労働省)、井上隆弘（厚生労働省)、蟹江誠（厚生労働省)、小島三奈（厚生労働省)、柴辻正喜（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、ムンプス重症化例に関する疫学研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業)「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)」の分担研究として、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)。2007 年度は、上記調査結果の確認作業、集計、解析を行った。

［多屋馨子、谷口無我、山本明史］

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、山本（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ー最終評価 (第 2 報：9 月 25 日集計)ー

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業)「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)」の分担研究として、2006 年 6 月 2 日から、1 歳児(第 1 期)と 5 歳以上 7 歳未満で小学校就学前の 1 年間にあたるもの(第 2 期)を対象に、麻疹風疹混合ワクチンを用いた 2 回の定期接種が開始された。我々は、全国の市町村特別区における接種率の現状を把握する目的で、「2006 年度第 2 期麻疹・風疹ワクチン接種に関する全国調査」を実施した。往復はがきを用いて、全国市町村特別区を対象に質問票による調査を行い、最終的に、2006 年度第 2 期対象者における麻疹を含むワクチンの接種率は 79.9%、風疹を含むワクチンの接種率は 81.2%という結果を得た。2012 年までにわが国から麻疹を排除するためには、第 1 期・第 2 期共に、95%以上の接種率が必要とされている。国および都道府県の積極的な支援の下、各自治体において、対象者一人ひとりに情報が行き届くきめ細やかな対応、接種を受けやすい環境の整備、それを可能にする予算確保等、95%以上の接種率確保・維持に向けた更なる取り組みが必要と考えられた。

［山本(上野)久美、多屋馨子］

(3) 麻疹排除計画案の策定、実施

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「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）」の研究の一貫として、平成 24（2012）年という WHO 西太平洋地域における麻疹排除目標の達成に向けて、国内で必要と考えられる様々な麻疹排除に関連する計画案の策定、および実施に携わった。その代表的なものとして以下を挙げる。

－我が国における麻しん排除計画案
－都道府県における麻しん対策会議の活動案
－平成20年1月1日から開始となった麻疹および風疹の医師による麻疹届け出全数サーベイランス届出ガイドライン案
－麻疹排除に向けた積極的疫学調査ガイドライン改訂案
－医療機関での麻疹対応ガイドライン改訂案
－学校における麻しん対策ガイドライン改訂案

上記の各種ガイドライン案の内容は、厚労省・文科省等との協議により修正加筆され、合意を得て感染症情報センターホームページに順次掲載された。また、その内容の自治体等への伝達のために、平成 20 年 2 月に全国ブロック会議が開催され、全国 7 会場 8 回の説明が実施された。2012 年の麻疹排除に向けた活動の基盤として、以降も必要なガイドラインの整備、政策への提言、各種調査の実施などが、感染症情報センターとして成されていく予定である(“情報センター麻疹チーム”)。

［岡部信彦、多屋馨子、山本（上野）久美、佐藤弘、多田有希、山下和予、安井良則、島田智恵、谷口清州、森兼啓太、大日康史、菅原民枝、砂川富正、松井珠乃、中島一敏、徳田浩一、堀成美、吉田真紀子、土田賢一、木村博一、谷口無我、山本明史、山田隆雄（厚生労働省）、高山研（厚生労働省）、三宅邦明（厚生労働省）、草柳英雄（厚生労働省）、岡田就将（文部科学省）、成瀬幸宏（文部科学省）］

(4) 大学における麻疹対策の調査及び大学休校中の大学生の行動調査

平成 19 年 4 月からの関東での麻疹流行で大学での休校が多数みられ、都内で休校を実施した A 総合大学との共同研究で、麻疹流行の発症者調査、全学生調査、および休校中の大学生の行動調査を行い、大学の麻疹対策及び今後感染症危機管理の対策に役立てた。

［岡部信彦、大日康史、山本（上野）久美 、菅原民枝、谷口清州、多田有希、多屋馨子、砂川富正、安井良則］

(5) 民間(私)企業を巻き込んだ麻しん排除運動の戦略に関する研究

厚生労働科学研究費補助金(新興･再興感染症研究事業)「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)」の研究の一貫として、厚生労働省が推進する「麻しん排除計画」に従い、麻しん予防接種の普及啓発を、ターゲットとなる第三期(中学 1 年生)･第四期(高校 3 年生)に対して実行するための戦略策定を行った。

限られた予算で効果的にアプローチするため、環境省温暖化防止国民運動「チーム･マイナス 6%」の原理･原則を活用し、民間(私)企業を巻き込む方策を提示するとともに、賛同企業と同時期に統一メッセージを発信す

るため統一ロゴ案、キャンペーン実施施策案、実行計画案の検討も行った。

［岡部信彦、佐々木経世（イーソリューション株式会社）］

(6) 学校における麻しん予防接種歴・発症状況の管理及び報告ソフト仕様書

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「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）」の研究の一貫として、学校における麻しんの発生報告が、Fax や電話等で行われているため、迅速な対応ができていない状況に対し、予防・発生報告をシステムを用いて効率的に実行するための仕様書策定を行った。

学校における麻しん発生報告の現状をアンケート調査によって明らかにし、課題を整理した結果、システム戦略として、「①平時における危機意識醸成」、「②緊急時の迅速なオペレーション」、「③IT 知識が低い前提の導入・運用」、「④セキュアで安定的な運用体制」、「⑤対象疾患拡大への仕掛け」を挙げた。さらに、同戦略に従い、具体的な施策案と概要設計、ベンダー選定の基準案を策定した。

［岡部信彦、佐々木経世（イーソリューション株式会社）］

(7) 予防接種後健康被害報告の効果的な解析と、迅速な対策に繋げるための研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「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）」の分担研究として、現在の予防接種後健康被害救済申請の内容と、予防接種後副反応報告書の内容を合体して検討するための管理システム概要の構築を行うための準備と海外での情報収集を行った。

［多屋馨子、北本理恵、山本（上野）久美］

(8) 麻疹全数迅速報告システムの問題点と今後への提言（2007 年石川県麻疹迅速把握事業の経験から）

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「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）」の一貫として、「石川麻疹迅速把握事業」をもとに、麻疹の検査室診断のアルゴリズムを作成した。

［中村英夫（石川県はしかゼロ作戦委員会）、越田理恵（金沢市福祉保健局　健康推進部）、多屋馨子、岡部信彦］

(9) 麻疹の効果的制御に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討（主任研究者：清水博之）の分担研究として、麻疹教育啓発用 DVD を作成した。麻疹についての正しい知識を広く提供し、重症化例調査を用いて、麻疹の疾病としてのインパクトを正確に把握するとともに、迅速な実験室診断に向けた取り組みは、麻疹の伝播予防ならびに排除に向けた取り組みとして重要と考える。

［山本（上野）久美、多屋馨子、佐藤弘、岡部信彦］

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

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

沖縄県は日本脳炎ウイルス(JEV)の浸淫地域であるが、2005 年度以降の日本脳炎ワクチン接種の事実上中止により発生リスクは増加している。そのため、同年度より沖縄県福祉保健部健康増進課、沖縄県衛生環境研究所、琉球大学医学部病原生物学分野と共同で、全県的な JEV 感染症強化サーベイランスが実施されている。今年度日本脳炎症例は確認されなかったが、報告されていない脳炎症例が 10 例以上に上ることが後ろ向きの積極的症例探査により明らかとなり、今後の課題となった。ワクチン接種が行われていない状況下で、依然日本脳炎の感受性者は年々増加していることから、継続的な調査研究が必要である。

［中島一敏、砂川富正、山本（上野）久美、佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦］

4．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。

［多屋馨子、山本（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)］

５．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、麻しん風しん混合ワクチン 3 期、4 期の需要分析、Hib ワクチンの需要分析を行った。

［大日康史、菅原民枝、岡部信彦］

６．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インフルエンザ、水痘、Hib ワクチンなどを対象に実施している。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。水痘ワクチンの公費補助を実施している自治体においては、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。

［大日康史、菅原民枝、岡部信彦］

７．トラベラーズワクチンで予防が可能な疾患の発生状況に関する研究

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、ワクチン接種の必要性評価の基礎資料として、海外渡航者における効果的な感染症予防に役立てることを目的に、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、2005 年、2006 年に引き続き解析した。

［岡部信彦、多田有希、島田智恵、山本（上野）久美、多屋馨子］

８．トラベラーズワクチンで予防が可能な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、2006 年度にアンケート調査を実施した。そのデータを、2006 年度に引き続き解析し、啓発を行うべき対象者や方法を検討した。本年度はこの研究を含めた研究成果をもとに、研究班で、予防啓発のためのパンフレットを作成することができた。

［岡部信彦、多田有希、島田 智恵、菅原民枝、大日康史］

９．B 型ウイルス性肝炎の発生動向に関する研究

厚生労働科学研究費補助金　肝炎等克服緊急対策研究事業「肝炎ウイルス感染防御を目指したワクチン接種の基盤構築」（主任研究者　水落利明）の一環として、感染症法のもとで行われている感染症発生動向調査において届出られた B 型肝炎の報告状況をまとめた。2005～2007 年は毎年 200 例前後で推移し、30 代男性に多く、国内での性的接触によるものに増加がみられた。血液由来感染として重要である本疾患は、従来の母子感染対策、医療行為による感染対策に加えて、性感染症としての対策が必要といえた。

［岡部信彦、多田有希］

10．B 型肝炎ウイルスの水平感染に関する研究

厚生労働科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業「肝炎ウイルス感染防御を目指したワクチン接種の基盤構築」（主任研究者 水落利明）の一環として、保育施設における血液の取り扱いに関してアンケート調査を実施し、その実態について研究した。保育施設でのB型肝炎ウイルスの水平感染を予防するためには、universal vaccination が必要であると考えられた。

［多屋馨子、越田理恵（金沢市福祉保険局）、岡部信彦］

11．疾病の流行状況とワクチンの意義及び健康教育、情報伝達に関する研究

厚生労働科学研究医薬品･医用機器等レギュレトリーサイエンス総合研究事業ワクチンの有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究（主任研究者　神谷　齊）の分担研究として、基礎疾患を有する小児に対する予防接種のあり方に関する研究と、AND 調査に関すル検討を実施した。また、2008 年 4 月実施の麻疹風疹に関する定期予防接種制度を伝達するために、今回新たに定期予防接種の対象となった者ならびに一般国民に対する情報伝達手段として、麻疹に関する教育啓発用 DVD を作成し、HP 上に公開すると共に、作成した DVD を希望のあった自治体、保健所、医療機関、教育機関等に配布した。

［岡部信彦、宮崎千明（福岡市立西部療育センター）、粟屋豊（聖母病院小児科）、多屋　馨子、山本（上野）久美、佐藤　弘］

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、在留邦人を対象に実施されたワクチンの接種時期と種類に注目し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．インフルエンザウイルスの排出期間に関する研究

インフルエンザ患者の解熱後における感染性ウイルスの排出を調査した。インフルエンザウイルス診断キットで陽性であった小児の咽頭拭い液を急性期および解熱後採取し、MDCK 細胞によるウイルス分離を行った。抗ウイルス薬の使用、ワクチン接種の有無等の点から解析する予定である。

［荒木和子、秋山千枝子（あきやま子どもクリニック）、多屋馨子］

２．インフルエンザウイルスの検出法ならびに検出部位に関する臨床的検討

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「ウイルス感染症の対外診断薬の再評価に関する基盤整備に関する研究」（主任研究者　山口一成)の分担研究者として、2007 年 2 月~2008 年 3 月(2 シーズン)に、山口内科耳鼻咽喉科でインフルエンザと診断した患者から鼻咽頭(鼻甲介、上咽頭、中咽頭)拭い液を採取し、病初期におけるインフルエンザウイルスの増殖部位に関して検討した。RT-PCR 法を用いて、インフルエンザウイルスゲノムの検出を行い、型と亜型を決定した。また、リアルタイム PCR 法を用いて、検出部位毎にウイルス量を定量した。

また、国内で市販されているインフルエンザ迅速診断キットの感度を比較検討した。

[浜本いつき、山口展正、多屋馨子、荒木和子、佐藤弘、藤本嗣人、岡部信彦]

３．OPV 初回投与後の糞便中から検出されたポリオウイルス２型株にみられたゲノム変異

OPV 由来株によるポリオ(VAPP)はワクチン株が生体内で増殖中に起きたゲノム変異によるとされている。そこで、健康な小児における、ワクチン株のゲノム変異を調べた。OPV 接種した１歳５ヶ月男児の糞便を 35 日間経時的に採取し、血清型別ポリオウイルスの排出は real-time PCR により調べた。このうち接種後３，６，８，10，20 日の便を対象とし、プラッククローニング法により各日 10 株、計 50 株の２型ウイルスを得た。RD 細胞で１代のみ継代後，RNA を抽出し逆転写酵素反応により cDNA を作成した。ウイルスゲノムの５箇所（5'NC-VP2, VP3-VP1, 2A-2C, 2C-3C, 3D）の各々約 1000bp から 2000bp を PCR で増幅後シークエンスを行い，変異を調べた。

［荒木和子、多屋馨子、岡部信彦］

４．成人麻疹および新生児麻疹の検査室診断

2007 年 3～6 月にかけて発生した麻疹患者（疑い含む）の検査室診断を実施した。成人例および母子感染が疑われた新生児麻疹患者について麻疹ウイルスの遺伝子検出・塩基配列の解読、抗体検出を行った結果、すべての患者から麻疹ウイルス遺伝子が検出され、それらは近年流行している遺伝子型D5 に近縁であった。

［佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦］

５．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。本因子は免疫沈降法により NS3 と直接的な結合が認められ、両者の結合領域を決定した。本因子のノックダウンによる細胞内 HCV 複製の阻害効果が得られた。また、JFH1 株を導入したヒト肝癌細胞内の本因子をノックダウンしたところ、感染性の HCV RNA 量および培養上清中に放出されるウイルス量の抑制が認められた。

［浜本いつき、村上恭子（ウイルス第二部）、勝二郁夫（神戸大学大学院医学系研究科）］

６．アデノウイルスによる咽頭結膜熱の大規模流行要因に関する研究

2003～2006 年にアデノウイルス 3 型による咽頭結膜熱の全国流行が発生した。その要因はこれまで明らかでなかった。そこで、流行アデノウイルスのヘキソン領域について調査した。その結果、2003 年の咽頭結膜熱流行時から、これまで流行していなかったアデノウイルスの遺伝子タイプ（Ad3x）が流行していることが明らかになった。このウイルスは 1998～1999 年に韓国で咽頭結膜熱の大規模流行を引き起こしたウイルスと同じ遺伝子配列を持っていることが明らかになった。

[藤本嗣人、浜本いつき、谷口清州、近平雅嗣(兵庫県立健康環境科学研究センター)、岡部信彦、渡邊香奈子（新潟県衛生研究所）、岩切章（宮崎県衛生環境研究所）]

７．高速 PCR 法によるウイルス検査システムの開発

2008 年度から開始する超高速 PCR システムのウイルス検査への適用のための予備実験を実施した。

[藤本嗣人、小長谷昌未(トラスト)、坪井邦雄(トラスト)、谷口清州、浜本いつき、児玉崇(トラスト)、近平雅嗣（兵庫県立健康環境科学研究セ）、榎本美貴（兵庫県立健康環境科学研究セ）、岡部信彦]

8. エンテロウイルス遺伝子診断法における市販 RNA 抽出キット選択の影響に関する研究

遺伝子診断法を行う際に利用される市販のウイルスゲノム抽出キットの選択が、結果に関与する可能性に関しては, ほとんど報告が見られない。そこで, RT-PCR 法によるエンテロウイルス遺伝子の増幅を、市販の複数のウイルスゲノム抽出用のカラム法キットで実施して結果を比較した。結果, キットの選択によりその結果が異なるものとなる事例があることがわかった（感染症誌 82：55～57, 2008）。

[宗村 徹也、藤本 嗣人、近平 雅嗣 (兵庫県立健康環境科学研究セ)、木村 博一、西尾 治、吉田 弘、岡部 信彦、辻 勉(星薬大)]

9. エンテロウイルス 71 の塩基配列に関する研究

重症事例から採集したエンテロウイルス71株の塩基配列を調べた。3UTR 領域について全塩基配列を決定した。

[宗村 徹也、藤本 嗣人]

１０．急性胃腸炎患者からの検体についての病原ウイルス遺伝子の検出及び遺伝子型の確定

(1) 伊勢原及び大阪から、また秋田県玉川温泉で発生したノロウイルスによる急性胃腸炎患者の便検体からのノロウイルス遺伝子の検出及び遺伝子型解析を行った。

(2) 三重県のカキ養殖海域から採取したカキ及び海産プランクトンからのノロウイルス遺伝子の検出及び遺伝子型解析を行った。

[松野重夫、斎藤 博之（秋田県健康環境センター）、村上裕子、岡部信彦]

１１．急性気管支肺炎乳幼児から検出された RS ウイルス（RSV）の分子疫学に関する研究

Respiratory Syncitial ウイルス(RSV)は、乳幼児の気管支炎や気管支肺炎の主たる病原ウイルスとしてよく知られている。しかし、本ウイルスの分子疫学には不明な点が多い。そこで、2005～2006 年にかけて、入院加療を必要とした神奈川県在住の気管支炎乳幼児患者から分離された RSV17 株の Nucleoprotein(*N*)遺伝子に関する分子疫学解析を行った。その結果、10 株は Subgroup A、7 株は Subgroup B に分類された。また、

各 Subgroup 間の N 遺伝子の塩基配列のホモロジーは高く(99%以上)、遺伝学的に近縁な RSV が本疾患に関与していたことが推定された。

［菅井和子（国立病院機構横浜医療センター、塚越博之（群馬県衛生環境研究所)、水田克巳（山形県衛生研究所)、木村博一、秋山美穂、岡部信彦、野田雅博（ウイルス 3 部)、田代眞人（同)］

１２．川崎病患者における好中球接着分子発現に関する研究

川崎病（KD）における血管炎は、冠動脈瘤形成などに大きな役割を果たすことが示唆されている。また、KD 患者の血管炎の病態には好中球や炎症性サイトカインが深く関与することは示唆されている。そこで、KD 患者の好中球接着分子（CD11b/CD18）発現ならびに血清サイトカインのプロファイリングを行った。その結果、KD 急性期においては、有意な好中球の CD11b 発現の増強と血清中の炎症性サイトカイン（IL-6、G-CSF）濃度の増加が見られた。また、これらの変化は、治療薬のγ-グロブリンの投与により速やかな改善が見られることもわかった(Kobayashi T., et al., Clin Exp Immunol, 148(1)：112-118, 2007)。［小林徹（群馬大学小児科）、井上佳也（同）、森川昭廣（同）、木村博一］

１３．群馬県の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(Morita Y et al., Jpn J Infect Dis, 60(6)：402-404, 2007)。

［森田幸雄（群馬県衛生環境研究所）、加藤政彦（同）、小澤邦壽（同）、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］

１４．活性酸素種を含む電解水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

活性酸素種（ヒドロキシラジカルなど）を含む電解水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（群馬県衛生環境研究所）、森田幸雄（同）井関正博（三洋電機株式会社）、鈴木大輔（同）、木村博一］

１５．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 19 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（山口県環境保健研究センター）、岡本玲子（同）、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）］

１６．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。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(Sakano C et al., J Vet Med Sci in press)。[坂野智恵子（群馬県衛生環境研究所)、塩野雅孝、森田幸雄、小沢邦壽、信澤敏夫（群馬県食肉衛生検査所)、壁谷英則（日本大学)、丸山総一、木村博一]

１７．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）］

１８．腸管病原性大腸菌（ＥＰＥＣ）の研究

55 株の typical EPEC について、BFP 線毛の発現に関与する遺伝子 *perA･perC･bfpF* の保有状況と 3 型分泌機構に関連する contact hemolysis 活性を調べた。

自己凝集能の強い *bfpA*-HMA 型 2、3、6 はすべて陽性であった。凝集能がない 4 株のうち 2 株はこれらの遺伝子を保有していなかった。しかし、残りの 2 株と *bfpA*-HMA1、4、5 型で自己凝集能の弱い株はすべての遺伝子を保有していた。また、自己凝集能と contact hemolysis の結果は一致していた。自己凝集能の低下はバンドリンの構造そのものか、両者の発現に関与する *per* 遺伝子の変異が原因として考えられる。

[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)、岡村登(東京医科歯科大学)]

１９．海外渡航下痢症患者から分離された大腸菌の病原性関連遺伝子保有状況

海外渡航者下痢患者由来大腸菌の下痢原性大腸菌病原遺伝子（LT、ST、VT、*invE*、*eae*、*aggR*、*astA*、*afaD*）保有状況を調査した。名古屋検疫所中部空港検疫所支所において患者 189 人から直採管で採便した。主な旅行先は東南アジアであった。

病原性は未解明の“*astA*単独保有大腸菌”が 50 人で最も多く、ETEC（47 人）、 EAggEC（25 人）、EPEC（7 人）、DAEC（5 人）であった。29 人は複数のカテゴリーの下痢原性大腸菌に感染していた。EAggEC は旅行者下痢症の原因菌とされているが、それを裏付けていた。海外渡航者の下痢症検査に大腸菌を入れる必要があると思われた。

[伊藤健一郎、重松美加、飯田真里子、熊谷則道（名古屋検疫所中部空港検疫支所）、一戸邦彦（同）、久世敏輝（同）、吉澤慎悟（同）、原田誠（名古屋検疫所）、橋本迪子（同）]

２０．腸管凝集性付着性大腸菌（EAggEC）の研究

EAggEC（*aggR* 陽性）について病原性関連遺伝子を調べた。最近報告された *hdaA* を含め 4 種類の線毛遺伝子を対象とした。日本分離株 28 株、海外渡航者 57 株、タイ国分離 7 株と標準 2 株の 96 株を調べた。*hdaA* が 31.3%（O86：H27 等）、*aafA*（17.7%、O126：H27 や O44：H18）、*agg3A*（3.1%）、*aggA*(11.5%)であった。残りの 36.5%のうち日本の主要な血清型 O111：H21 と海外渡航者由来の O127:H21 は clump 形成能が強く、*aggB*（invasin）を保有しており、バリアントであることが予想された。長期保存株では *aggR* 陰性コロニーが高率にあった。

[伊藤健一郎、Orn-Anong Ratchtrachenchai(タイ国保健衛生研究所)、山﨑貢(愛知県)、成松浩志(大分県)、倉園貴至(埼玉県)、蛭田徳昭(横須賀市)、森屋一雄(佐賀県)、上野伸広(鹿児島県)、野田裕之(山梨県)、熊谷則道、橋本迪子（中部空港）]

２１．2 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、改訂した標準化喫食調査票、行動調査票を活用し九州・山口地区 19 自治体で、積極的疫学調査を行った。

平成19年の赤痢の国内発生数は147例で大半がソンネ菌であった。そのうち集団事例が少なくとも４件あった。一つは学生実習に使用した菌によるものであった。９月の調査開始後の九州・山口地区の事例は１件のみで、標準調査票による調査は行われなかった。

食品汚染状況について文献調査を行った。わが国を含め先進工業国では食品から赤痢菌が分離されることは極めて稀だが、赤痢が蔓延している途上国では、食品から菌分離の報告が相当数あった。

[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、平成 19 年 4 月・6 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。

［多田有希、安井良則、島田智恵、佐藤 弘、中里篤、加藤信子、大竹由里子、松岡静香、柴崎伸子、前田明日香、FETP 研修生 8&9 期生、松井一乃、中島一敏、砂川富正、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、平成 19 年 4 月・6 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、多田有希、安井良則、島田智恵、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、柴崎伸子、前田明日香、FETP 研修生 8 期&9 期生、松井一乃、中島一敏、砂川富正、大山卓昭、山本（上野）久美］

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、データベースの管理、集計解析、月報および年報の作成、配布に関する一連の作業を継続的に実施した。

(1) 情報処理：NESID の病原体検出情報システムに登録された新しいデータの確認と公開処理を毎日行なった。2007 年 1 月－2007 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 8,313 件、病原体個票は病原菌が地研・保健所 3,525、検疫所 1,044 件、ウイルス（リケッチア，クラミジアを含む）が地研 16,050 件、検疫所 11 件、集団発生病原体票は病原菌が地研 208 件、検疫所 15 件、ウイルスが地研 876 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌が地研 300 件、ウイルスが 6 件であった。

(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 28 巻）および第 28 巻索引が編集・印刷発行された。特集記事については英訳を行い同時に掲載した。

(3) 年報の編集：病原体情報に関する年報は、欧文による 2003 年年報を、Japan J. Infect. Dis., 2004 Vol.57 Supplement として編集・発行した。

(4) 感染性腸炎研究会に参加する都市立感染症指定医療機関が入力した感染性腸炎患者調査票 1,085 件についてデータの確認と集計を行ない、年度末の総会資料および感染症学会発表資料として提供した。

［山下和予、赤塚昌江、加藤信子、野地元子、徳永真

里子、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) 「病原微生物検出情報（IASR）」ホームページに、印刷版と平行して毎月 HTML 版の病原微生物検出情報月報を国内外に提供した。また、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更新して掲載した。

(2) 病原体情報報告機関に対して、迅速に情報を還元するために、毎日 NESID の病原体検出情報システムに登録された新しいデータの確認と公開処理を行ない、還元情報速報閲覧と定型帳票ダウンロードのページを更新した。

(3) 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と集計表および累積データに基づく統計表とグラフを IASR ホームページに掲載した（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）。

(4) 地方衛生研究所などから提供された速報記事を随時 IASR ホームページに掲載した。

(5) 地研からの病原体個票によるインフルエンザウイルス分離報告を集計し、日本の週別型別分離数データとして WHO の FluNet へのアップロードを流行期間中毎週行った。

(6) 地研からの集団発生病原体票によるノロウイルス集団発生事例報告を、流行期間中毎週集計し、グラフ・集計表とともに速報として IASR ホームページに掲載した。

(7)地研からの病原体個票による麻疹ウイルス分離・検出報告を集計し、グラフとともに速報として随時 IASR ホームページに掲載した。

(8) 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、毎月の予定やシステム運用の連絡、ウイルス第三部から地研への連絡、FluNet・ノロウイルス速報・麻疹ウイルス速報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。2007 年度は 2006/2007 年シーズンに含まれる 2006 年第 14 週～第 32 週、2007/2008 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、多田有希、谷口清州］

Ⅱ．感染症発生動向調査のシステムに関する業務

「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。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。NESID 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。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、疑い症例調査支援、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 年度以降は、システム稼動後の改良点の検討を継続して行うとともに、法改正等に伴って必要となった改修に関わっている。

(1) 感染症発生動向調査（患者情報）システム

2006 年 4 月から運用開始した感染症発生動向調査システムのうち、感染症発生動向調査（患者情報）では、厚生労働省、システム開発会社とともに、法改正等に

よる対象疾患の追加・変更や保健所の統廃合など関連した改修事項について、適宜対応している。また、システム稼動開始後に発生した問題点や改善すべき点（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）について検討し、可能な限り順次改修を行った。今後も改良すべき点、その解決方法を検討・実行していく。

［多田有希、安井良則、加藤信子、島田智恵、中里篤、松岡静香、大竹由里子、柴田博子、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5月6日に運用開始した病原体検出情報サブシステムは、前年後に引き続きまだ不具合が発生しているため、逐次プログラム修正の検証を行なっている。また、新しい病原体や型別に対応するため、随時コードの追加・変更を行って、最近の情報の収集・還元・公開を可能にしている。

［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が稼働して２年目となり、データ入力、集計、検索など一連の作業が滞りなく行われた。一方で、データ入力（登録、修正）について各自治体より担当者の作業時間の負担を軽減するための改善を望む声も多く、今後の課題として他の電子ファイルからの流用なども考慮したシステムの改善を検討していく。

［北本理恵、佐藤弘、多屋馨子］

Ⅲ. 感染症に関する情報収集・発信業務

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、柴崎伸子、前田明日香、安井良則、森兼啓太、島田智恵、多田有希、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)、Health Protection Report (英国)、Health Protection Scotland Weekly Report (スコットランド)、Communicable Disease Intelligence(豪州)、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、多田有希、安井良則、島田智恵、FETP研修生8期&9期生、浜本いつき、菅原民枝、森兼啓太、大山卓昭、砂川富正、中島一敏、松井一乃、大日康史、谷口清州、多屋馨子］

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。2007年度にはインフルエンザのコーナーにおいて異常行動の情報を提供し、またインフルエンザ流行レベルマップの更新情報を掲載した。鳥インフルエンザのコーナーでは、WHOのホームページに掲載されている情報を日本語訳して掲載し、またその他の情報についても提供を行った。2007年に10代、20代を中心に流行した麻疹については、国内の流行状況に関する情報、対策のための各種ガイドライン、Q&A、麻疹発生データベース、麻疹が全数把握疾患となったことに伴う届け出基準・様式の変更等、様々な情報の提供を行った。

［安井良則、多田有希、島田智恵、山下和予、松岡静香、大竹由里子、柴崎伸子、前田明日香、加藤信子、森兼啓太、佐藤弘、山本（上野）久美、多屋馨子、大日康史、菅原民江、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、山本（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 19 年度感染症流行予測調査のうち、インフルエンザ HI 抗体保有状況を 2007 年 12 月 26 日から 2008 年 2 月 5 日まで計 3 回、ブタの日本脳炎 HI 抗体保有状況を 2007 年 7 月 12 日から 12 月 28 日まで計 18 回、速報としてホームページ上に公開した。

［佐藤弘、多屋馨子、北本理恵、山本(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 19 年度版を作成した。

［多屋馨子、佐藤弘、谷口無我、山本明史、山本（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、山本（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、岡部信彦、荒川宜親（細菌第 2 部）、鈴木里和（同）、山根一和（同）、小西敏郎（NTT 東日本関東病院）、針原康（同）、フィンガルリンク株式会社、徳本史郎（厚生労働省医政局指導課）、片岡穣（同）］

２．国内院内感染症集団発生事例に対する調査支援

VRE 集団保菌事例（愛知県西尾市）

C. difficile 関連疾患集団発生事例（滋賀県蒲生郡）

［森兼啓太、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。

［砂川富正、重松美加、森兼啓太、松井珠乃、上野久美、大日康史、多田有希、安井良則、谷口清州、岡部信彦］

２．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。昨年度までに遡り検索した文献情報のデータベースと2005年9月以降の前向き収集した評価済み情報データベースの維持を行った。また、2007年度の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。既存の情報検索および蓄積・検索データベースのシステムの改良と、よりよい検出アルゴリズム開発のために関しての検討を開始した。

［谷口清州、重松美加、多屋馨子、柴田博子、岡部信彦、渡邉治雄（副所長)］

３．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）に関して、WHO や OIE（国際獣疫事務局）より発信された情報を整理し、随時日本語に翻訳し情報センターのホームページに掲出し、国民の情報ニーズに対応した。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ための情報収集と指針作成を行った。

［森兼啓太、砂川富正、中島一敏、大山卓昭、FETP8期&9 期、大竹由里子、柴崎伸子、前田明日香、谷口清州、岡部信彦］

４．インフルエンザパンデミック対策

アジア各国での H5N1 亜型ウイルスの人感染を受け、パンデミックのフェーズ 4 以降についても国家対策が必要となり、厚生労働省の新型インフルエンザ対策行動計画の改定とガイドラインの作成が行われた。この過程の議論に参加し、科学的な支援を行った。また、これに伴う感染症法上の新型インフルエンザの取り扱いの変更などの検討について、国際情勢の情報収集と提供、サーベイランスシステムの準備などを行った。また、個人および一般家庭・コミュニティ・市町村、事業者・職場などの各種の設定における指針の改定および作成に、新型インフルエンザ対策専門家会議委員として協力した。

［安井良則、砂川富正、中島一敏（4 -5 月)、森兼啓太、山本（上野）久美、多屋馨子、大日康史、谷口清州、岡部信彦、］

５．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を提供した。医療従事者およびそれ以外からの要望がある情報も掲載した。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、松岡静香、多田有希、安井良則、大山卓昭、砂川富正、FETP 研修生 8 期&9 期］

国際協力関係業務

Ⅰ．国際的調査協力及び支援

１．ASEAN+3　EID programme に対する技術支援

ASEAN+3 における Emerging Infectious Disease program に対して、3 回の会議に出席し、報告書のとりまとめや感染研の貢献について技術協力を行った。

[谷口清州、岡部信彦、渡邉治雄（副所長）]

２．GHSAG に対する技術支援

G7 国とメキシコによる、Global Health Security Initiative の技術的な WG である、GHSAG に対して、各国における調査や戦略の樹立について日本の立場から議論に参加し、技術支援を行った。また 2007 年 9 月 24、25 日に京都において early　detection に関するワークショップを開催した。

[森兼啓太、安井良則、砂川富正、松井珠乃、重松美加、谷口清州、岡部信彦、Nigel Collier（国立情報学研究所)、牧野友彦（厚生労働省厚生科学課）]

３．WHO に対する技術的支援

WHO あるいはその地域事務所の活動に関して、GOARN 会議、その他の国際会議へ出席やガイドラインの作成について、技術的支援を行った。

[森兼啓太、砂川富正、中島一敏、松井珠乃、重松美加、谷口清州、多屋馨子、多田有希、岡部信彦]

４．インドネシア FETP との交流および同国におけるサーベイランス強化支援

国際医療協力研究委託事業「感染症アウトブレイクに対する効果的な国際協力のあり方に関する研究」の費用を用いて、2008 年 9 月より再開が予定され、同国内外において活躍が期待されるインドネシア FETP との交流を行った。具体的には、インドネシア大学（ジャカルタ）およびガジャマダ大学（ヨグヤカルタ）に設置される同プログラムを訪問し、日本との比較、課題について協議した。さらに支援を具体化すべく、バンテン州タンゲラン郡を訪問し、同地域におけるサーベイランスについて情報を収集し、問題点を協議した。

[砂川富正、村上仁（国立国際医療センター）]

Ⅱ．国際研修

１．海外からの来所者への感染症情報センターの活動および感染症対策に関する情報提供と広報

国立国際医療センター海外研修生、JICA 留学生、各国保健医療および政府関係者などの来所時に、感染症情報センターの活動、国内感染症の発生動向、国内および国際連携による感染症対策の現状、予防接種、鳥インフルエンザ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、大山卓昭、砂川富正、中島一敏、山下和予、多田有希、多屋馨子］

２．海外からの来所者への国立感染症研究所と地方衛生研究所の協力に関する説明

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対策に関する地方衛生研究所と国立感染症研究所の役割および協力について研修した。

[藤本嗣人、岡部信彦]

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 9 年目となり、平成 19 年 4 月、9 期生 6 名（池田雄史、掘成美、吉田眞紀子、杉下由之、土田賢一)を迎えた。平成 20 年 3 月には 8 期生 3 名(五十嵐正巳、高橋亮太、徳田浩一）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人材養成体制が充実した。

２．感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 19 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（東京都練馬区）
- 施設内 VRE 集団発生事例（埼玉県入間郡）
- 施設内病原性大腸菌 O157 感染症集団発生事例（東京都西東京市）
- 施設内百日咳集団発生事例（高知県南国市）
- 施設内 VRE 集団発生事例（愛知県西尾市）
- 施設内クロストリジウム菌感染症集団発生事例（滋賀県蒲生郡）
- 施設内麻疹集団発生事例（東京都千代田区）

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, Enrique Tayag；7-8 月）とともに、国際的な感染症サーベイランス（Angela Merianos;；11 月)、分子疫学の最新情報および実用法（Lee Riley；1 月)、予防接種対象疾患の予防対策（Harry Hull；2 月）に関するセミナーを開催した。

４．教育研修経験

教育経験のための研修として、全国感染症危機管理

研修会での講義、地方自治体の感染症危機管理研修会（秋田県、東京都、神奈川県、岡山県等）での講義・討論をおこなった。

５．感染症疫学研究

平成19年度に研修終了した8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）を所得した。

「男性淋菌感染症に関する性感染症定点サーベイランス評価」五十嵐正巳

「レプトスピラ症の診断と報告に関する研究」高橋亮太

「腸管出血性大腸菌の家族内二次感染防止に関する研究」徳田浩一

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

性感染症の発生動向に基づいた提言

ウエストナイル熱に関する他国の状況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、FETP 8 期&9 期、感染症情報センタースタッフ一同］

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 27 日、28 日に開催した。2007 年度の事務局は、谷口清州、重松美加、長壁美智子が担当した。研修内容として、「国の健康危機管理体制について～改正国際保健規則（IHR2005）総論～」「感染症法改正と新型インフルエンザ対策」「改正国際保健規則（IHR2005）と地域健康危機管理について」「医療法改正に伴う地域での院内感染対策について」「薬剤耐性菌感染症の最近の動向（新型耐性菌 と強毒型 *C.difficile*）」「旧日本陸軍病院のカルテに記されたスペイン風邪の検証」「Risk communication とは」「危機発生時におけるメディア対応心得」「新型インフルエンザに関する拡大伝播モデル」「沖縄県北部地区における麻疹流行時の対策」「東京都教育委員会における麻疹流行への対応」「宮崎県におけるレプトスピラ症発生事例に対する実施疫学調査」「宮崎の H5N1 亜型鳥インフルエンザアウトブレイク」、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 100 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研修新興再興感染症技術研修を、平成 19 年 9 月 10 日から 9 月 14 日まで国立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食中毒ウイルス検査業務に従事する専門職員を対象として、食中毒ウイルスの新しい知識及び検査技術の習得を目的としている。受講生は、保健所 9 名・地方衛生研究所 9 名の合計 18 名であった。本研修は感染症情報センターをはじめとして、感染研関連各部室、群馬県衛生環境研究所の協力を得て遂行された。［木村博一、伊藤健一郎、秋山美穂］

２．細菌コース

国立保健医療科学院による特定課程細菌コースを、平成 19 年 11 月 12 日から 11 月 30 日まで、最初の 2

週間を保健医療科学院で、最後の 1 週間を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初級者を対象として、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。遺伝子検査を初めて保健医療科学院の実習室で行った。保健所９名・地方衛生研究所２１名の合計３０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、岡山県環境保健センター、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］

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 19 年度は対象疾患として、百日咳、クリプトスポリジウム、インフルエンザ、フラビウイルス、深在性真菌症、麻疹、病原性大腸菌、下痢症ウイルス、結核、病原体管理・輸送チクングニヤ、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 1920 年 2 月、当感染研で 2 日間、全国の地方衛生研究所の技術担当者を対象に二日間開催され、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、生物活性物質部、昆虫医科学部、感染症情報センター、ハンセン病センター、結核研究所等の協力により行われた。
［山本(上野)久美、多屋馨子、藤本嗣人、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、砂川富正、岡部信彦」

４．留学生の研修

ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）から東京大学へ留学中の Nguyen　Minh 氏を長期受け入れし、ベトナムにおける地区毎の 10 年間のインフルエンザサーベイランスの疫学曲線の作成及び地理情報システムを活用したマップ作成を行った。同国での症候群サーベイランスの可能性についての検討も行った。
［大日康史］

５．医師卒後研修

国立感染症研究所で開催された医師卒後研修の一貫として、予防接種～麻疹・インフルエンザを主として～について説明した。2007．12.
［多屋馨子］

その他

Ⅰ．情報提供及び広報活動

１．電話、メールによる問い合わせ業務

予防接種、麻疹、風疹、ポリオ、人獣共通感染症、SARS、パンデミック、インフルエンザ、鳥インフルエンザ、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、多田有希、安井良則、多屋馨子、佐藤弘、山本（上野）久美、藤本嗣人、松野重夫、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、砂川富正、中島一敏、多田有希、安井良則、多屋馨子、藤本嗣人］

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、国内パンデミック対策ガイドライン解説、麻疹流行状況など）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 人以上となっており、Risk communinication の一手段として、メデイア側の協力も得て継続、実施している。

［岡部信彦、情報センタースタッフ一同］

Ⅱ．血清銀行に関する業務

１．血清の保管

感染症流行予測調査事業のため各都道府県において収集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 19 年度に受け入れた血清は、計 3263 であった

［多屋馨子、荒木和子、谷口無我、山本明史、佐藤弘、山本（上野）久美、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１研究に対して計 1008 本の分与を行った。

［多屋馨子、荒木和子、谷口無我、山本明史、佐藤弘、山本（上野）久美、岡部信彦］

３．職員血清の保管

平成 19 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．血清銀行保管血清の管理

上記１．３．で保管された血清の管理を行った。

［多屋馨子、荒木和子、谷口無我、山本明史、佐藤弘、新井　智、山本（上野）久美、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

⑴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 2007 を公開した。

⑵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、柴崎伸子、佐藤弘、山本（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難同定アデノウイルスの同定を行った。また、アデノウイルス分離用細胞を分与した。アデノウイルス検査法について検討し、地方衛生研究所の検査支援を行い、検査法の標準化に取り組んだ。

ノロウイルスレファレンスセンターでは 2006～2007 年シーズンに引き続き、2007 ～2008 年シーズンも全国の衛生研究所の協力のもとに、ＰＣＲ産物の提供を得て民間の会社に遺伝子解析を委託して調査を実

施した。
［岡部信彦、藤本嗣人、松野重夫、荒木和子、村上裕子］

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、多屋馨子、安井良則、中島一敏、大日康史、山本（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］
厚生労働省　薬事・食品衛生審議会食中毒部会委員
[谷口清州]

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、微生物学講座：非常勤講師）
- 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）
- 東京大学大学院医学系研究科非常勤講師（公衆衛生学）
- 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）
- 聖母大学非常勤講師（国際保健）

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）

藤本嗣人
- 東京大学大学院発達医学教室客員研究員（アデノウイルスの分子疫学）

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）
- 大阪大学大学院医学系研究科非常勤講師（国際疾病疫学）
- 東京医科歯科大学医学部医学科（公衆衛生実習）
- 長崎大学熱帯医学研究所（長崎大学熱帯医学研修課程）

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

行政依頼検査に対応したほか、病院などからの不明病原体に対応した。麻疹流行時の検査等も実施した。

	行政	研究	合計
ウイルス分離同定	2	780	782
核酸・抗原検出	14	1200	1214
血清反応	0	14	14
合計	16	1994	2010

Ⅷ. 研究員・研究生

氏　　名	身　　分	期　　間	出　　身
中村明子	客員研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京大学
金沢　保	客員研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	産業医科大学
押谷　仁	客員研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東北大学大学院
西尾　治	客員研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	元職員
John M. kobayashi	客員研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	ワシントン保健局
菅原民枝	流動研究員	H19. 4. 1- H19. 8.31	財団法人公衆衛生協会
浜本いつき	流動研究員	H19.4. 1- H20. 3.31	ヒューマンサイエンス振興財団
五十嵐正巳（FETP）	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	自衛隊舞鶴病院
高橋亮太　（FETP）	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	陸上自衛隊
池田雄史　（FETP）	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	(独)国立病院機構南京都病院
田中好太郎（FETP）	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	日本赤十字社医療センター
堀　成美　（FETP）	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	都立駒込病院
吉田眞紀子 (FETP)	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	市立堺病院
杉下由行　（FETP）	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京都福祉保健局
土田賢一　（FETP)	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	横浜市港南福祉保健センター
中瀬克巳	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	岡山市保健所
加來浩器	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東北大学大学院
田中　毅	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	成田空港検疫所
松永泰子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	元職員
藤井達也	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	三宿病院・自衛隊中央病院
逸見佳美	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	医療法人川久保病院
島田　靖	協力研究員	H19. 4. 1- H20.1.31	日本医科大学付属病院多摩永山病院
吉田英樹	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	大阪市保健所
森　伸生	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	森こども病院
齋藤章暢	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	埼玉県衛生研究所
増田和貴	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京都健康局
三村敬司	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	陸上自衛隊衛生学校
山口　亮	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	北海道庁石狩保健福祉事務所
森山和郎	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	大阪府健康福祉部地域保健感染症課
鈴木葉子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 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	H19. 4. 1- H20. 3.31	岩手県環境保健研究センター
森下高行	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	愛知県食品衛生検査所
松﨑充宏	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	(社)日本海事検定協会
宗村徹也	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	横浜市食肉衛生検査所

飯田真里子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京医科歯科大学大学院
太田正樹	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	財団法人結核研究所
神垣太郎	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東北大学大学院
小林幹子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東北大学先進医工学研究機構
登坂直規	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京医科歯科大学
阿保　満	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京都健康安全研究センター
鷲見　宏	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	兵庫県健康生活部健康局
鈴木智之	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	群馬県感染症制御センター
田中幸江	協力研究員	H19. 4. 1- H19. 4.30	元職員
愛木智香子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	(財)日本冷凍食品検査協会
小林康人	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京サラヤ(株)
加藤由実	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京サラヤ(株)
Yafen Cheng	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	台湾 CDC
宮城裕人	協力研究員	H18.10. 1- H19. 3.31	聖マリア病院
隈下祐一	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	サラヤ(株)
野澤康平	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	三洋電機(株)
鈴木大輔	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	三洋電機(株)
井内田科子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	ベルギー王国大使館　ベルギー・フランダース政府　貿易投資局（科学技術）
Nguyen Minh	協力研究員	H19.8.1-H20.3.31	東京大学、ベトナム国立衛生疫学研究所
村上裕子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	
岡崎　薫	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	東京都立八王子小児病院
赤尾寿美子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	マニハ食品(株)
神谷　元	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	エモリー大学大学院
小長谷　昌未	協力研究員	H20. 3. 1- H20. 3.31	トラスト(株)
橋本　和宏	協力研究員	H20. 1. 1- H20. 3.31	トラスト(株)
古屋貴子	協力研究員	H19. 4. 1- H19.10.31	ｱﾌﾟﾗｲﾄﾞﾊﾞｲｵｼｽﾃﾑｽﾞｼﾞｬﾊﾟﾝ(株)
植木由幸	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	(財)日本冷凍食品検査協会
楠田美和子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	サラヤ(株)
有田知子	協力研究員	H19. 6. 1- H20. 3.31	(独)日本スポーツ振興ｾﾝﾀｰ
川原林伸昭	協力研究員	H19. 10. 1- H20. 3.31	防衛省
吉田昌功	協力研究員	H19. 10. 1- H20. 3.31	防衛省
牧　隆之	協力研究員	H19. 10. 1- H20. 3.31	防衛省
川端利信	協力研究員	H19. 10. 1- H20. 3.31	防衛省
柏原　茂	協力研究員	H19. 10. 1- H20. 3.31	防衛省

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1) Ohkusa Y, Sugawara T. Application of an individual-based model with real data for transportation mode and location to pandemic influenza. J Infect Chemother, 13(6)： 380-389, 2007.

2) Kikuchi K, Ohkusa Y, Sugawara T, Taniguchi K, Okabe N： Syndromic Surveillance for Early Detection of Nosocomial Outbreaks. In：Daniel Zeng et al. ed. Intelligence and Security Informatics： Biosurveillance vol 4506： 202-208. Berlin / Heidelberg： Springer, 2007 (June) .

3) Taniguchi K, Hashimoto S, Kawado M, Murakami Y, Izumida M, Ohta A, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Nagai M： Overview of Infectious Disease Surveillance System in Japan, 1999-2005. Journal of Epidemiology, 17 (supplement)；S3-S13, 2007.

4) Ohta A, Murakami Y, Hashimoto S, Nagai M, Kawado M, Izumida M, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Taniguchi K：Epidemics of Influenza and Pediatric Diseases Observed in Infectious Disease Surveillance in Japan, 1999-2005. Journal of Epidemiology, 17 (supplement)；S14-S22, 2007.

5) Murakami Y, Hashimoto S, Ohta A, Kawado M, Izumida M, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Taniguchi K, Nagai M： Wide-area Epidemics of Influenza and Pediatric Diseases from Infectious Disease Surveillance in Japan, 1999-2005. Journal of Epidemiology, 17 (supplement)；S23-S31, 2007.

6) Kawado M, Hashimoto S, Murakami Y, Izumida M, Ohta A, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Taniguchi K, Nagai M： Annual and Weekly Incidence Rates of Influenza and Pediatric Diseases Estimated from Infectious Disease Surveillance Data in Japan, 2002-2005. Journal of Epidemiology, 17 (supplement)；S32-S41, 2007.

7) Izumida M, Nagai M, Ohta A, Hashimoto S, Kawado M, Murakami Y, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Taniguchi K： Epidemics of Drug-resistant Bacterial Infections Observed in Infectious Disease Surveillance in Japan, 2001-2005. Journal of Epidemiology, 17 (supplement)；S42-S47, 2007.

8) Hashimoto S, Kawado M, Murakami Y, Izumida M, Ohta A, Tada Y, Shigematsu M, Yasui Y, Taniguchi K, Nagai M： Epidemics of Vector-borne Diseases Observed in Infectious Disease Surveillance in Japan, 2000-2005. Journal of Epidemiology, 17 (supplement)；S48-S55, 2007.

9) Kawazoe A, Chanlekha H, Shigematsu M, Collier N： Structuring an event ontology for disease outbreak detection. BMC Bioinformatics, 9 (Suppl 3)： S8, 2008.

10) Watanabe C, Matsui T, Inaoka T, Kadono K, Miyzaki K, Bae M, Ono T, Ohtsuka R, Bokul A. Dermatological and nutritional/growth effects among children living in arsenic-contaminated communities in rural Bangladesh. Journal of Environmental Science and Health, Part A： Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 42： 1835-1841, 2007.

11) Inoue Y, Ono T, Matsui T, Miyasaka J, Kinoshita Y, Ihn H： Epidemiological survey of *Vibrio vulnificus* infection in Japan between 1999 and 2003. J Dermatol, 35(3)： 129-39, 2008.

12) Maeda H, Y. Ohkusa and K. Aihara,Effect of facility closure in the SEIR epidemic model, Artificial Life and Robotics,12(1,2),pp.172-175,2008

13) Editorial Committee of Findings of Infectious Agents in Japan： Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan, 2003. Japanese Journal of Infectious Diseases, 57(Suppl), 2004.

14) Tabara, K., Arai, S., Kawabuchi, T, Itagaki, A., Ishihara, C., Satoh, H., Okabe, N., Tsuji, M. Molecular survey of *Babesia microti*, *Ehrlichia* species and *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis in wild rodents from Shimane prefecture, Japan. Microbiology and Immunology. 51：359-367. 2007.

15) Arai, S., Song, J.-W., Sumibcay, L., Bennett, S. N., Nerurkar, V. R., Parmenter, C., Cook, J. A., Yates, T. L., Yanagihara, R. Hantavirus in Northern Short-tailed Shrew, United States. Emerging Infectious Diseases. 13： 1420-1423. 2007.

16) Song, J.- W., Kang, H. J., Song, K. -J., Truong, T. T., Bennett, S. N., Arai, S., Truong, N. U., Yanagihara, R. Newfound hantavirus in Chinese mole shrew, Vietnam. Emerging Infectious Diseases. 13： 1784-1787. 2007.

17) Song, J. -W., Gu, S. H., Bennett, S. N., Arai, S., Puorger, M., Hilbe, M., Yanagihara, R. Seewis virus, a genetically distinct hantavirus in the Eurasian common shrew (*Sorex araneus*). Virology journal. 4： 114. 2007

18) Nomura T, Fujimoto T, Ebisutani C, Horiguchi H, Ando S： The first fatal case of Japanese spotted fever confirmed by serological and microbiological tests in Awaji Island, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases, 60： 241-243, 2007

19) Fujimoto T, Shinohara M, Ito M, Okafuji T, Okafuji T, Nishio O, Yoshida H, Shimizu H, Chikahira M, Phan GT, 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. Clinical Laboratory, 53： 605-609, 2007

20) Fujimoto T, Hamamoto I, Taniguchi K, Chikahira M, Okabe N： Molecular epidemiology of adenovirus type 3 detected from 1994 to 2006 in Hyogo Prefecture, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases, 61： 143-145, 2008

21) Shimada A, Hayashi Y, Ogasawara M, Park M, Kato M, Minakami H, Kito T, Kojima S, Kawa-Ha K, Kimura H, Pro-inflammatory cytokinemia is frequently found in Down syndrome patients with hematological disorders. Leukemia Research, 31(9)： 1207-1211, 2007

22) Jha VC, Morita Y, Dhakal M, Besnet B, Sato T, Nagai A, Kozawa K, Kimura H. Isolation and genetic diversity of *Mycobacterium* spp. obtained from milking buffaloes and cows in Nepal. Journal of Veterinary Medical Science, 69(8)：819-825, 2007

23) Shimada A, Taketani T, Kikuchi A, Hanada R, Arakawa H, Kimura H, Chen YY, Hayashi Y. AML1 mutation and FLT3-internal tandem duplication in leukemia transformed from Myelodysplastic syndrome. Journal of Pediatric Hematology and Oncology, 29 (9)：666-667, 2007

24) Saitoh M, Kimura H, Kozawa K, Nishio O, Shoji A. Detection and phylogenetic analysis of norovirus in *Corbicula fluminea* in a freshwater river in Japan. Microbiology and Immunology, 51(9): 815-822, 2007

25) Goto T, Kimura H, Numazaki K, Akiyama M, Kato M, Noda M, Nozaki Y, Tanaka-Taya K, Taniguchi K, Yamagata T, Oogane T, Momoi YM, Okabe N. A case of menigoenchephalitis associated with G1P [8] rotavirus infection in a Japanese infant. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 39 (11)： 1067-1070, 2007

26) Tsukagoshi H, Koketsu M, Kato M, Kurabayashi M, Nishina A, Kimura H. Superoxide radical (O_2^-) scavenge effects from polymorphonuclear leukocytes and toxicity in human cell lines of newly synthesized organic selenium compounds. FEBS J, 274 (23)： 6046-6054, 2007

27) Morita Y, Suzuki T, Shiono M, Shiobara M, Saitoh M, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Ishioka T, Kato M, Kozawa K, Taya-Tanaka K, Yasui Y, Noda M, Okabe N, Kimura H. Phylogenetic analysis of nucleoprotein (*N*) gene in measles viruses prevalent in Gunma, Japan in 2007. Japanese Journal of Infectious Diseases, 60 (6)： 402-404, 2007

28) Morita Y, Kogure H, Sandoh M, Kawashima G, Sato Y, Nanba S, Shoda Y, Suzuki T, Shiono M, Shiobara M, Kato M, Kozawa K, Noda M, Okabe N, Kimura H. An Imported Dengue Fever Case by Dengue Virus 3 (DENV-3) Infection in Gunma, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases, 61(1)： 90-92, 2008

29) Okazaki K, Kondo M, Kato M, Kakinuma R, Nishida A, Kimura H. Elevation of high mobility group box-1 (HMGB-1) concentration in asphyxiated neonates. Neonatology, 94(2)：105-109, 2008.

30) Ikebe T, Hiraswa K, Suzuki R, Ohya H, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C, Kawahara R, Tomita M, Ogata K, Endoh M, Okuno R, Tada Y, Okabe N, Watanabe H. Distribution of *emm* genotypes among group A streptococcus isolates from patients with severe invasive streptococcal infections in Japan,

2001-2005. Epidemiol. Infect. 135, 1227-1229, 2007 .

２．和文発表

1) 谷口清州. 鳥インフルエンザの現状. 食と健康, 51(4)： 50-59, 2007.
2) 谷口清州. 新型インフルエンザについて. 救急救命, 10(2)： 12-15, 2007.
3) 谷口清州. 鳥インフルエンザウイルス感染症の世界的現状. 日本内科学雑誌, 96(11)：2386-2392, 2007.
4) 中島雪夫, 児玉和夫, 大日康史, 菅原民枝, 谷口清州, 岡部信彦： 新型インフルエンザ対策のための症候群サーベイランスのテスト結果. 島根県医師会ニュース, 695： 20-24, 2007.
5) 中山裕雄, 大日康史, 菅原民枝, 谷口清州, 岡部信彦： 外来受診時における症候群サーベイランスのための基礎的研究―1 年間の運用実績―. 医療と社会, 16(4)： 387-401, 2007.
6) 菅原民枝, 大日康史, 重松美加, 谷口清州, 村田厚夫, 岡部信彦：OTC(一般用医薬品)を用いての症候群サーベイランスの試み. 感染症学雑誌, 81(3)： 235-241, 2007.
7) 杉浦弘明, 菅原民枝, 菊池清, 清水史郎, 児玉和夫, 堀江卓史, 大日康史, 谷口清州, 岡部信彦：電子カルテを用いた自動運用の外来受診時症候群サーベイランスの稼動状況　出雲でのノロウイルスとインフルエンザ流行の情報共有の実証実験. 島根医学, 27(2)： 113-119, 2007.
8) 菅原民枝, 大日康史, 多屋馨子, 及川馨, 羽根田紀幸, 菊池清, 加藤文英, 山口清次, 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： ムンプスワクチンの定期接種化の費用対効果分析. 感染症学雑誌, 81(5)： 555-361, 2007.
9) 大日康史, 菅原民枝： 実際の移動データを用いての individual based model のパンデミックへの応用. 『第 3 回生物数学の理論とその応用』京都大学数理解析研究所 数理解析研究所講究録, 1551： 11-16, 2007.
10) 大日康史, 杉浦弘明： 学校における大規模流行性疾患（インフルエンザ・麻しん等）に対する国立感染症研究所の役割と地域感染症サーベイランス調査について. けんこう, 35：10-12, 2007.
11) 大日康史： 新型インフルエンザの感染シミュレーションと事業継続. 労働の科学, 62(9)： 525-529, 2007.
12) 大日康史, 菅原民枝, 多屋馨子, 上野久美, 安井良則, 西藤なるお, 砂川富正, 岡部信彦： 麻疹発生 DB(データベース)の評価. 病原微生物検出情報, 28(9)： 255－266, 2007.
13) 大日康史、菅原民枝： 医療・公衆衛生政策における生命価値の算定：諸外国での実用例と日本での研究例. 日本リスク研究学会誌, 17(2)： 57-64, 2007.
14) 大日康史, 菅原民枝, 山口清次：タンデムマス法を用いた新生児マススクリーニングの費用対効果分析. 日本マス・スクリーニング学会誌, 17(3)：27-34, 2007.
15) 大日康史：症候群サーベイランスの意義と実際. 公衆衛生, 71(10)： 845-848, 2007.
16) 高橋亮太：海外における感染症の概況. 公衆衛生, 71(7)： 548-551, 2007.
17) 徳田浩一： 腸管出血性大腸菌の家族内二次感染防止に関する研究. 国立保健医療科学院 健康危機管理分野 特別論文, 2008.
18) 高橋亮太： レプトスピラ症の診断と報告に関する研究. 国立保健医療科学院 健康危機管理分野 特別論文, 2008.
19) 五十嵐正巳： 男性淋菌感染症に関する性感染症定点サーベイランス評価. 国立保健医療科学院 健康危機管理分野 特別論文, 2008.
20) 阿保満, 鷲見宏, 松井珠乃：茨城県南部の麻疹アウトブレイク調査. 公衆衛生, 71(8)： 692-695, 2007.
21) 松井珠乃, 佐藤弘, 岡部信彦, 安藤秀二, 岸本寿男, 尹 浩信, 坂崎善門, 瀬戸山充, 成田博実：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と、2005 年における診断・届出の現状. 日本皮膚科学会雑誌, 117： 1977-1979, 2007.
22) 松井珠乃： 2 疫学調査概論 3. 調査事例. 渡邉治雄 他(編). 食中毒予防必携 第 2 版, 46-52, 日

本食品衛生協会, 2007.
23) 松井珠乃, 中島一敏, 大日康史, 菅原民江, 多屋馨子. 熊本県内の病院における職員の麻疹予防対策の現状～2006 年 8 月. 感染症学雑誌, 82(1)：58-59, 2008.
24) 浅尾香恵, 丸尾圭志, 吉野雄一郎, 小串葉月, 三宅大我, 尹 浩信, 松井珠乃： 落葉状天疱瘡から尋常性天疱瘡への移行例. 西日本皮膚科, 70：27-30, 2008.
25) 森兼啓太, 針原康, 小西敏郎：JNIS システムによる結腸・直腸手術における SSI サーベイランス. 日本外科感染症学会雑誌, 4(1)： 129-134, 2007.
26) 森兼啓太： 手術部位感染サーベイランス. Medical Technology, 35(5)： 493-497, 2007
27) 森兼啓太： 自施設の感染率とは. 感染対策 ICT ジャーナル, 2(2)： 141-143, 2007.
28) 森兼啓太： WHO の手指衛生キャンペーン. INFECTION CONTROL, 16(6)： 495, 2007.
29) 森兼啓太： サーベイランスデータの活用. INFECTION CONTROL , 16(6)： 546-555, 2007.
30) 森兼啓太： 処置と消毒薬. 調剤と情報, 13(7)：812-814, 2007.
31) 森兼啓太： 2007 年アメリカ医療疫学学会. Carlisle, 12(2)： 11, 2007.
32) 森兼啓太： SHEA の活動と SHEA2007. 感染制御, 3(3)： 205-210, 2007.
33) 森兼啓太： 精神科病院で問題となる院内感染. 日本精神科病院協会雑誌, 26(7)： 685-690, 2007.
34) 森兼啓太： MRSA の基礎講座. エキスパートナース, 23(12)： 48-51, 2007.
35) 森兼啓太： インフルエンザ・今期はどうなる？ エキスパートナース, 23(15)： 30-33, 2007.
36) 森兼啓太： MRSA の監視培養と陽性者の隔離について. INFECTION CONTROL, 16(12)：1140-1148, 2007.
37) 森兼啓太：APSIC と APSIC2007. 感染制御, 3(5)：401-404, 2007.
38) 森兼啓太： うがい・手洗い・消毒薬で感染症を予防. セルフドクター, 11(3)： 40-43, 2007.
39) 森兼啓太： 感染症動向 2008：ノロウイルス感染症. メディカル朝日, 37(1)： 60-63, 2008.
40) 森兼啓太： 手術部位感染をめぐる話題や疑問. グローバルレビュー感染防止, 2(3)： 2-5, 2008.
41) 森兼啓太： 新型インフルエンザの現状と対策. Medical Technology, 36(2)： 123-126, 2008.
42) 森兼啓太： ドイツにおける感染対策. 感染制御, 4(1)： 11-16, 2008.
43) 森兼啓太：H5N1 ウイルスの最近の流行状況. インフルエンザ, 9(2)： 119-125, 2008.
44) 森兼啓太： IV. MRSA に関するガイドライン. 藤田直久(編集). ICT がおさえておきたい MRSA 対策のすべて. 222-230, メディカ出版, 2007.
45) 森兼啓太(翻訳)： サーベイランスのための CDC ガイドライン－NHSN マニュアル 2007 年版より. メディカ出版, 2008.
46) 重松美加（翻訳)： 成島悦雄, 宮下実, 村田浩一（編). 野生動物の医学 第 6 部第 79 章, 751-755, 文永堂出版, 2007.
47) 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機関誌,vol19,no3, 183-188,2007.
48) 安井良則, 岡部信彦 :鳥インフルエンザの疫学情報について. 臨床とウイルス 35：447-455, 2007.
49) 安井良則 ：2006/2007年のインフルエンザ流行の特徴. インフルエンザ. 9 (1) 29-36, 2008.
50) 多田有希：サーベイランス①患者サーベイランス. 公衆衛生, 71 (9)：51-55, 2007.
51) 多田有希, 岡部信彦：わが国における感染症情報の収集と提供－感染症サーベイランス－. 小児外科, 39 (9)： 1103-1107, 2007.
52) 多田有希：風疹－母親の妊娠. 小児内科, 39 (10)：1745-1746, 2007.
53) 多田有希：：風疹－授乳中の母親への接種. 小児内科, 39(10)：1747-1748, 2007.
54) 多田有希：介入につながった実例 風疹・先天性風疹症候群対策. 公衆衛生, 71(11)：40-52, 2007.
55) 多田有希：麻疹の流行について. 複十字, 316：26, 2007.
56) 木村幹男, 多田有希：渡航者におけるワクチン接種の優先度. 日本医事新報, 第4331号, 2007
57) 山下和予：腸管感染症のずべて V－1. 感染症法改正とサーベイランス. 化学療法の領域, Vol.

23, S-1：177-181, 2007.

58) 山下和予：サーベイランス②病原体サーベイランス．公衆衛生, Vol. 71, No. 10：854-858, 2007.

59) 野田衛, 山下和予：ノロウイルス食中毒・感染症の現状と取組み－2006年の早期流行と多発の要因．食品衛生研究, Vol. 57, No. 11：9-18, 2007.

60) 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,2006-2008.

61) 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. 424-435, 2007- 2008.

62) 多屋馨子：能動免疫と受動免疫．最新感染症ガイド．R-Book２００６（監修：岡部信彦）RED BOOK 2006 27th Edition 翻訳日本版．1-54．日本小児医事出版社．2007．9.

63) 多屋馨子：臓器移植・免疫不全状態とウイルス感染の動態．小児科学第3版（大関武彦、近藤直実総編集）．702-706．医学書院．2008．4.

64) 多屋馨子：突発性発疹．最新医学別冊．血液5 潜伏感染ウイルスによる血液疾患新しい診断と治療の ABC．（河敬世編集.）pp158-163．最新医学社．2007．4.

65) 多屋馨子：咽頭結膜熱、ヘルパンギーナ、手足口病．保護者に伝えたいこどもの病気・検査のポイント．河野陽一編集．pp112-115．中外医学社．2007．9.

66) 岡部信彦、多屋馨子：予防接種に関する Q&A 集．細菌製剤協会．2007．9.

67) 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・感染症委員会：感染性胃腸炎と食中毒．小児保健研究．67 巻 2 号 Page411-413(2008. 03)

68) 多屋馨子：風疹ワクチン．Virus Report．4 巻 2 号 Page74-81(2007. 11)

69) 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：食中毒と感染症～保健所からみたノロウイルス感染症～．小児保健研究．67 巻 1 号 Page165-167(2008. 01)

70) 多屋馨子：インフルエンザワクチン．小児看護．31 巻 1 号 Page35-42(2008. 01)

71) 多屋馨子：NICU 入院中、退院後のワクチン対策．周産期医学．37 巻 12 号 Page1605-1611(2007. 12)

72) 多屋馨子：2007 年の東京都における麻疹流行から学ぶこと．東京小児科医会報．26 巻 2 号 Page5-10(2007. 11)

73) 多屋馨子：インフルエンザの疫学．小児科診療．70 巻 12 号 Page2179-2185(2007. 12)

74) 多屋馨子：ヘルペスウイルス感染症．薬事．49 巻 11 号 Page1653-1658(2007．10)

75) 多屋馨子：【予防接種 Q&A】わが国の風疹、風疹ワクチンの歴史． 小児内科．39 巻 10 号 Page1732-1736(2007. 10)

76) 多屋馨子：【予防接種 Q&A】 風疹 効果 風疹抗体があっても風疹に罹患することがあるのでしょうか。風疹 HI 抗体がどの程度あれば、先天性風疹症候群の発生を防ぐことができるのでしょうか．小児内科．39 巻 10 号 Page1754-1755(2007. 10)

77) 多屋馨子：【予防接種Q&A】 風疹 副反応 風疹ワクチンの副反応として気をつけておくものはあるでしょうか．小児内科．39巻10号 Page1752(2007. 10)

78) 多屋馨子：【予防接種 Q&A】 風疹 抗体価が低い場合 前回妊娠時の検査で風疹抗体価が低かったので産科医に風疹の予防接種を勧められました。中学生のときに風疹の予防接種をしていますが、再度風疹の予防接種を受けたほうがいいですか．小児内科．39 巻 10 号 Page1750-1751(2007. 10)

79) 多屋馨子：【予防接種 Q&A】 風疹 妊娠可能年齢の女性への接種 妊娠可能な年齢層の女性への接種時に注意すべきことを教えてください．小児内科．39 巻 10 号 Page1749(2007. 10)

80) 多屋馨子：2007年の麻疹流行と今後の対策．ファルマシア．43 巻 8 号 Page803-808(2007. 08)

81) 三田村敬子, 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, 日本小児保健協会予防接種・感染症委員

会:夏かぜの季節-プール熱に注意. 小児保健研究. 66 巻 4. Page595-596(2007. 07)

82) 多屋馨子:感染症の登園･登校基準. 小児科診療. 70 巻 5 号. Page767-772(2007. 05)

83) 多屋馨子:2012 年麻疹排除に向けて　はじめに. 臨床と微生物. 34:1;2008 年 1 月号

84) 多屋馨子、上野久美:【緊急特集】2007 年の麻疹流行の特徴と今後の麻疹対策. 小学写真ニュース. 822:2007. 7.

85) 多屋馨子:この春に流行した麻疹(はしか)と学校での麻疹対策. 日本学校保健会会報「学校保健」268 号　2007 年 9 月発行

86) 多屋馨子:インフルエンザを予防しよう. 中央労働災害防止協会編　安全衛生の広場. 13112:　2007. 12.

87) 多屋馨子:「感染症動向２００７」　麻疹、風疹. メディカル朝日　2008．1.

88) 山本(上野)久美, 岡部信彦:　特集　わが国における急性脳炎・脳症「1．日本の急性脳炎・脳症発生状況」小児科, 48：　381-389, 2007

89) 山本(上野)久美：　アウトブレイク　海外①　カンボジアにおけるポリオ予防接種キャンペーン. 公衆衛生, 345-349, 2007．4

90) 山本(上野)久美：　アウトブレイク　海外④　タイにおけるボツリヌス症集団発生と日本の抗毒素供給支援.　公衆衛生, 599-603, 2007．7

91) 山本(上野)久美、多屋馨子、岡部信彦：　麻疹をめぐる最近の動向.　月刊保団連, 944：41-44, 2007

92) 山本(上野)久美、多屋馨子：　2007　年麻しん流行と国を挙げた“麻しん排除計画”.　週刊医学会新聞第 2748 号, 2007 年 9 月 17 日

93) 山本(上野)久美、多屋馨子：　予防接種 Q&A　「風疹の現状と問題点」.　小児内科．39(10)：1737-1740, 2007 予防接種 Q&A「風疹の現状と問題点」

94) 新井　智、田中政宏、岡部信彦、井上智.　ワクチン接種による狂犬病の流行阻止効果.　日本獣医公衆衛生学会会誌　60:　377-382.　2007.

95) 佐藤弘, 多屋馨子:【予防接種 Q&A】風疹　効果　ワクチンを受けても免疫ができないことがあるのでしょうか. 小児内科. 39 巻 10 号 Page1753(2007. 10)

96) 佐藤弘, 多屋馨子:【予防接種 Q&A】風疹　既往が不明な場合　中学生の娘ですが風疹にかかったかどうかはっきりしません。ワクチンの接種はどのようにしたらよいでしょうか. 小児内科. 39 巻 10 号 Page1743-1744(2007. 10)

97) 佐藤弘, 多屋馨子:【予防接種 Q&A】風疹　必要性　妊娠しない男子への風疹の予防接種はなぜ必要ですか. 小児内科. 39 巻 10 号 Page1741-1742(2007. 10)

98) 宗村徹也, 藤本嗣人,　近平雅嗣, 木村博一, 西尾治, 吉田弘, 岡部信彦,　辻勉：　エンテロウイルス遺伝子診断法における市販 RNA 抽出キット選択の影響. 感染症学雑誌, 82：　55- 57、2008.

99) 藤本 嗣人：アデノウイルス感染症の診断―免疫クロマトキットを中心に. Sysmex Journal, 30：31-37、2007.

100) 吉田茂, 藤本嗣人：エンテロウイルス 71 による脳炎および中枢神経合併症について. 病原微生物検出情報,　28：　342 – 344、2007.

101) 隈下祐一, 加藤由美, 高本一夫, 古田太郎, 西尾治, 木村博一：　ノロウイルス代替のネコカリシウイルスおよび各種微生物に有効なエタノール製剤の開発.　日本防菌防黴学会誌, 35(11), 725-732, 2007.

102) 森田幸雄, 藤田雅弘, 斎藤美香, 塚越博之, 星野利得, 加藤政彦, 小澤邦寿, 西尾治, 木村博一：LightCycler®を用いたノロウイルス遺伝子検出法の検討.　日本食品微生物学会誌, 24(4),183-188, 2007.

103) 大内好美, 田中千香子, 横井一, 秋山美穂, 木村博一, 野田雅博, 田代真人：市販ウイルス保存液およびスワブ採取キットの評価.　臨床とウイルス, 36 (1), 61-64, 2008.

104) 岡部信彦：感染症法と感染症サーベイランス感染症診療ガイドライン　P. 3-10 編集･船田久　永井書店　2007,4.

105) 岡部信彦：ウイルス感染症の診断･治療･予防. 発疹性ウイルス感染症と院内感染対策.　日本病院薬剤師会雑誌 43：　497-499.　2007,

106) 岡部信彦：サーベイランスからみたインフルエンザの流行状況.　獣医畜産新報(JVIM)　2007,

60(5)：362-364.

107) 岡部信彦： 症状から食中毒を疑う． 調剤と情報, 13(7)：808-810 2007.

108) 岡部信彦（監修・分担）： 日本版 Red Book – 最新感染症がイド． 編集・米国小児科学会, 日本小児医事出版社 2007．9.

109) 岡部信彦（編集）： 小児感染症学, 診断と治療社 2007．9.

110) 岡部信彦： 感染症概論 P．2-8 小児感染症学 (編集・岡部信彦)． 診断と治療社 2007．9.

111) 岡部信彦：ポリオ根絶計画とその問題点. 感染症. 37(5)，174-178，2007.

112) 岡部信彦：疾患・治療概念の最近の変化「ノロウイルスの台頭」. JIM. 17(8)：660-662，2007.

113) 岡部信彦：鳥インフルエンザウイルス発生の世界的現状. Medico , 38(9)：307-310，2007.

114) 岡部信彦：予防接種の現状と対策 –予防接種健康被害救済制度 –. 治療学, 41(10)：1033-1036, 2007.

115) 岡部信彦・岩崎恵美子（監修）：新型インフルエンザ対策におけるリスクの管理とコミュニケーション． 診断と治療社 2007．11.

116） 岡部信彦：感染症発生動向調査（感染症サーベイランス）に見る最近のわが国のウイルス感染の状況. 薬事． 49(11)：1629-1633， 2007.

117） 岡部信彦：感染症法の改正. 感染制御. 3(6)：501-506， 2007.

118) 岡部信彦：新型インフルエンザのパンデミック対策 -鳥インフルエンザから新型インフルエンザ発生への危惧と準備の必要性-. 小児科診療. 70(12)：2229-2234， 2007.

119) 岡部信彦：わが国におけるインフルエンザの疫学臨床検査 52(1)：23-27， 2008.

120) 岡部信彦：最近の国内外における麻疹の疫学状況と麻疹排除の動き. 臨床と微生物. 35(1)：003-009, 2008.

121) 高橋亮太、岡部信彦：海外における感染症の概況公衆衛生． 71(7)：548-551, 2007.

122) 高山直秀、崎山 弘、岡部信彦：改正結核予防法 2005 年施行後の全国 BCG ワクチン累積接種率調査. 日本小児科学会雑誌． 111(8)：1042-1044, 2007.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Taniguchi K： NIID contribution to International effort for emerging diseases. WHO-Tohoku university joint forum. Sendai, Japan, 2007.4.

2) Taniguchi K： Infectious Disease Surveillance and Bioterrorism-related activities in Japan. US-Japan Biodefence symposium. Washington D.C., USA, 2007.6.

3) Taniguchi K： Options for pandemic situation： Japanese perspective. Korea-China-Japan Pandemic symposium. Soeul, South Korea, 2007.9.

4) Taniguchi K： Pandmeic surveillance in Japan. WHO informal consultation for pandemic surveillance. Geneve, Switzerland, 2007.12.

5) Morikane K, Konishi T, Harihara Y, Nishioka M, Kobayashi H： Evaluation of the risk index for colon and rectal operations in the surgical site infections surveillance system in Japan. The 17th annual scientific meeting of the Society for Healthcare Epidemiology of America. Maryland, USA, 2007.4.

6) Morikane K： Surgical site infection surveillance in Japan. The 3rd Congress of Asia Pacific Society of Infection Control. Kuala Lumpur, Malaysia, 2007.7.

7) Ohkusa Y, Sugawara T： Experimental Fully Automatic Syndromic Surveillance in Japan. The sixth annual International Society for Disease Surveillance Conference. Indianna, USA. 2007.10.

8) Sugawara T, Ohkusa Y, Sugiura H, Kodama K, Horie T, Kikuchi K, Taniguchi K, Okabe N： Construction of automatic syndromic surveillance for early detection of bioterrorism attack. The 6th International Health Economics Association World Congress. Copenhagen, Denmark, 2007. 7.

9) Shigematsu M, Gaudiosa JA, Ando S, Sugiyama K： Self assessment questionnaire tool for facility biosecurity. Asia Conference on Laboratory Biosafety and Biosecurity. Bangkok, Thailand, 2007.4.

10) Ando S, Shigematsu M, Sakata A, Sugiyama K： Survey of Public Health Laboratories in Japan. Asia

Conference on Laboratory Biosafety and Biosecurity. Bangkok, Thailand, 2007.4.

11) Collier N, Kawazoe A, Shigematsu M, Taniguchi K, Jin L, McCrae J, Dien D, Hung Q, Takeuchi K, Kawtrakul A： Ontology-driven influenza surveillance from Web rumours. Options for the Control of Influenza VI. Toronto, Canada, 2007.6.

12) Shigematsu M, Taniguchi K, Okabe N： Introduction to the System of Combined National Surveilances for Early Detection. The sixth Annual International Society for Disease Surveillance Conference. Indianna, USA. 2007.10.

13) Collier N, Kawazoe A, Doan S, Shigematsu M, Taniguchi K, Jin L, McCrae J, Chanlekha H, Dien D, Hung Q, Nam VC, Takeuchi K, Kawtrakul A： Detecting Web Rumours with a Multilingual Ontology-Supported Text Classification System. The sixth annual International Society for Disease Surveillance Conference. Indianna, USA. 2007.10.

14) Shigematsu M, Caskey S, Gaudiosa JA, Ando S： Biosecurity self-assessment tool trial run in Japan. 3rd Asia-Pacific Biosafety Association Conference. Bangkok, Thailand, 2008.3.

15) Ando S, Shigematsu M, Shimasaki N, Ikebe T, Obuchi M, Terashima J, Sugiyama K, Sata T： Problem and Confusion of Infectious Substance Transport in Japan. 3rd Asia-Pacific Biosafety Association Conference. Bangkok, Thailand, 2008.3.

16) Arai, S. Analysis of the full-length L segment of Prospect Hill virus, a prototype north American Arvicolid rodent-borne Hantavirus. Honolulu, Hawaii, USA. Annual Biomedical Sciences Symposium, University of Hawaii. March 13, 2007.

17) Arai, S. A phylogenetically distinct Hantavirus in the short-tailed shrew (*Blarina brevicauda*) in the United States. Honolulu, Hawaii, USA. Annual Biomedical Sciences Symposium, University of Hawaii. March 13, 2007.

18) Arai, S., Nerurkar, V. R., Song, J. W. and Yanagihara, R Analysis of the full-length L segment of Prospect Hill virus. Honolulu, Hawaii, USA. The VII International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses. Buenos Aires, Argentina. June 13-15, 2007.

19) Arai, S., Sumibcay, L., Song, J. W., Yates, T., Bennett, S. N., Nerurkar, V. R., Parmenter, C., Cook, J., and Yanagihara, R. A Phylogenetically Distinct Hantavirus in the Short-Tailed Shrew (*Blarina brevicauda*) in the United States. The VII International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses. Buenos Aires, Argentina. June 13-15, 2007.

20) Arai, S., Sumibcay, L., Song, J. W., Yates, T., Ohdachi, S. D., Truong, N. U., Parmenter, C., Cook, J., Truong, T. T., DeRisi, J. R., Nerurkar, V. R., and Yanagihara, R. Search for Novel Insectivore-Borne Hantaviruses. The VII International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses. Buenos Aires, Argentina. June 13-15, 2007.

21) Arai, S., Sumibcay, L., Bennett, S. N., Song, J. W., Nerurkar, V. R., Parmenter, C., Cook, J., Yates, T. and Yanagihara, R. Phylogenetically Distinct Hantaviruses in *Sorex cinereus* and *Sorex monticolus* in the United States. 56th Annual Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Philadelphia, Pennsylvania, USA. November 4-8, 2007.

22) Kyoko Murakami, Ikuo Shoji, Itsuki Hamamoto, Tetsuro Suzuki, Tatsuo Miyamura, and Takaji WakitaVirological characterization of HCV JFH-1 strain in B-lymphocytes. 14th International Symposium on Hepatitis C Virus & Related Viruses, Glasgow.2007

23) M. Iida, K. Ito, N. Okamura, Localized adhesion-related gene bfpA polymorphism and microcolonization ability of typical enteropathogenic Escherichia coli. ASM 107th General Meeting, 2007.5.21-25. Toronto.

2．国内学会

1) 谷口清州： 新型インフルエンザ（講演）. 国立感染症研究所市民公開講座. 東京, 2007.4.

2) 谷口清州： 新型インフルエンザの対応と世界各国の対応. 名古屋新型インフルエンザシンポジ

ウム. 名古屋市, 2007.5.
3) 谷口清州： 感染症だより. 日本小児科学会東京都地方会. 東京, 2007.6.
4) 谷口清州： 新型インフルエンザ対策の現状（講演）. 千葉県小児科医会. 千葉, 2007.7.
5) 谷口清州： インフルエンザとワクチンの使い方（講演）. 第 380 回国際治療談話会例会. 東京, 2007.7.
6) 谷口清州： 患者の早期探知と対応. 日本細菌学会関東支部会第 2 回シンポジウム. 東京, 2007.10.
7) 谷口清州： 新型インフルエンザへの国内外の取り組み(講演). 日本農村医学会. 長岡市, 2007.10.
8) 谷口清州： 感染症だより（講演）. 日本小児科学会東京都地方会. 東京, 2007.10.
9) 谷口清州：H5N1 鳥インフルエンザの現状. 日本小児感染症学会. 横浜, 2007.11.
10) 谷口清州： 最近の新興再興感染症(講演). 日本検査同学院例会. 東京, 2007.11.
11) 谷口清州： インフルエンザの最近の動向と広域流行対策（講演）. 日本耳鼻科学会講習会. 名古屋, 2007.11.
12) 谷口清州：健康危機の Early Detection (早期探知). 第 21 回公衆衛生情報研究協議会研究会. 埼玉, 2007.1.
13) 谷口清州： 院内感染の予防と対策（講演）. 第 15 回三重外科系感染症フォーラム. 三重, 2008.3.
14) 谷口清州：麻疹排除計画と麻疹対策について(講演）. 石川県医師会講演会. 金沢, 2008.3.
15) 大日康史、菅原民枝 他： 薬剤師学会院外処方箋情報を用いた外来受診時症候群サーベイランスの基礎的研究. 第 40 回日本薬剤師会学術大会. 神戸. 2007. 10.
16) 大日康史, 菅原民枝, 奥村徹：救急車搬送おける症候群サーベイランスの実証的研究. 第 35 回日本救急医学会総会. 大阪. 2007. 10.
17) 大日康史, 菅原民枝, 島内康宏 他： 水痘予防接種に対する公費補助制度の政策評価. 第 11 回ワクチン学会. 横浜. 2007. 12.
18) 大日康史, 菅原民枝 他： 電子カルテを利用した院内感染早期探知 システム構築の試み. 第 81 回感染症学会総会. 京都, 2007.4.
19) 大日康史, 菅原民枝, 山口清次：タンデムマス法を用いた新生児マススクリーニングの費用対効果分析. マススクリーニング学会. 千葉, 2007.9.
20) 大日康史： 数理モデルによる感染症拡大シミュレーション. 21 世紀の診断工学とその周辺研究会. 統計数理研究所. 東京, 2007.9.
21) 大日康史： 新型インフルエンザに関する拡大伝播モデル-パーソントリップデータを用いた新型インフルエンザのシミュレーション-（講演）. 危機管理研修会. 東京, 2007.9.
22) 大日康史： 新型インフルエンザに関する拡大伝播モデル. パーソントリップデータを用いた新型インフルエンザのシミュレーション（講演）. 横浜市新型インフルエンザ対策研修会. 横浜, 2007.12.
23) 菅原民枝, 大日康史, 谷口清州, 岡部信彦 他： 地域での自動的な症候群サーベイランスシステムの構築. 第 81 回感染症学会総会. 京都, 2007.4.
24) 菅原民枝, 大日康史, 谷口清州, 岡部信彦 他： 電子カルテを用いた感染症自動探知サーベイランスの実証実験と健康危機管理への応用. 第 66 回日本公衆衛生学会総会. 愛媛, 2007.10.
25) 小野塚大介, 大日康史, 菅原民枝：北部九州圏における新型インフルエンザ・シミュレーションと介入効果. 第 66 回日本公衆衛生学会総会. 愛媛, 2007.10.
26) 菅原民枝： 電子カルテを用いた「症候群サーベイランス」による院内感染対策の検討. 第 45 回病院管理学会. 横浜, 2007. 10.
27) 菅原民枝, 大日康史, 谷口清州, 岡部信彦： 新型インフルエンザを想定した外出自粛の選択の検討. 第 56 回日本感染症学会東日本地方会学術集会第 54 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会. 東京, 2007.10.
28) 菅原民枝：新型インフルエンザの感染伝播シミュレーション.GIS セミナー.東京,2008.1.
29) 菊池清, 大日康史, 菅原民枝, 谷口清州, 岡部信彦： 電子カルテを用いた院内感染早期探知サーベイランスの実用化. 第 56 回日本感染症学会東日本地方会学術集会第 54 回日本化学療法学会東

日本支部総会合同学会. 東京, 2007.10.

30) 重松美加： バイオテロとパンデミックの時代の感染症. 炎症制御治療フォーラム千葉―2007. 千葉, 2007.7.

31) 重松美加： リスクコミュニケーションってなに？ （講演）. 静岡県感染症及び食中毒処理合同研修会. 静岡, 2007.7.

32) 重松美加： 病原体の譲渡と輸送（講演・実技指導）. 平成 19 年度地域保健総合推進事業「健康危機管理における地方衛生研究所の広域連携ｼｽﾃﾑの確立」九州ブロック技術研修会. 宮崎, 2007.12.

33) 重松美加： 病原体の譲渡と輸送（講演・実技指導）. 平成 19 年度地域保健総合推進事業「健康危機管理における地方衛生研究所の広域連携ｼｽﾃﾑの確立」中国四国ブロック技術研修会. 岡山, 2008.1.

34) 重松美加： 病原体の譲渡と輸送（講演・実技指導）.「感染症法と輸送に関するワークショップ」関東・甲信・静ブロック研修会. 東京, 2008.2.

35) 重松美加： 病原体の譲渡と輸送（講演・実技指導）.「改正感染症法と輸送に関するワークショップ」北海道・東北・新潟ブロック研修会. 仙台, 2008.3.

36) 太田晶子, 村上義孝, 橋本修二, 川戸美由紀, 永井正規, 泉田美知子, 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) 警報システムに基づく流行の観察. 第 66 回日本公衆衛生学会総会. 愛媛. 2007.10.

37) 川戸美由紀, 橋本修二, 村上義孝, 泉田美知子, 太田晶子, 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週別推移. 第 66 回日本公衆衛生学会総会. 愛媛. 2007.10.

38) 泉田美知子, 永井正規, 太田晶子, 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）薬剤耐性菌感染症の流行状況. 第 66 回日本公衆衛生学会総会. 愛媛. 2007.10.

39) 橋本修二, 川戸美由紀, 村上義孝, 泉田美知子, 太田晶子, 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 4 報）全数把握対象疾患の流行状況. 第 66 回日本公衆衛生学会総会. 愛媛. 2007.10.

40) 松井珠乃, 佐藤弘, 岡部信彦, 安藤秀二, 岸本寿男, 尹 浩信, 坂崎善門, 瀬戸山充, 成田博実：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と、2005 年における診断・報告の現状. 第 5 回南九州地区合同皮膚科地方会. 鹿児島, 2007.7.

41) 松井珠乃： 施設内流行した麻疹の疫学調査、および麻疹対策の現状について（講演）. 第 27 回茨城県小児科医会研修セミナー. 2007.5.

42) 松井珠乃： なぜ今、麻疹対策が重要なのかーアウトブレイク事例からの教訓（講演）. 熊本院内感染対策研修会学術講演会. 熊本, 2007.7.

43) 森兼啓太： 病院感染サーベイランスと経済効果（講演）. 第 6 回感染と消毒セミナー. 大阪, 2007.5.

44) 森兼啓太： 感染症・その予防と対策（講演）. 川越市歯科医師会感染症講演会. 川越市, 2007.5.

45) 森兼啓太： 小児医療における院内感染対策（講演）. 都立八王子小児病院院内感染対策セミナー. 八王子市, 2007.5.

46) 森兼啓太： 病院感染サーベイランス：その意義と目的（講演）. 繋温泉病院院内感染対策研修会. 岩手, 2007.5.

47) 森兼啓太： 病院感染サーベイランスと新型インフルエンザへの備え（講演）. 中越院内感染対策セミナー. 長岡市, 2007.6.

48) 森兼啓太： 院内感染対策の基本と組織で取り組む感染対策（講演）. 横浜船員保険病院院内感染対策研修会. 横浜市, 2007.6.

49) 森兼啓太：病院感染対策の重要性と CDC ガイドラインの効果的な適用（講演）. 都立府中病院院内感染対策研修会. 府中市, 2007.6.

50) 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）. 第 4 回 SSI 防止フォーラム. 福岡, 2007.6.

51) 森兼啓太： 病院感染サーベイランスの意義と目的（講演）. 湘南鎌倉総合病院・病院感染サーベ

イランス講習会. 鎌倉市, 2007.6.

52) 森兼啓太： 手術部位感染の防止とサーベイランス（講演）. 済生会広島病院第 17 回感染対策研修会. 安芸郡（広島）, 2007.6.

53) 森兼啓太：看護における感染予防の基礎（講演）. 神奈川県看護協会教育研修会. 横浜市, 2007.7.

54) 森兼啓太： 最近の医療関連感染対策の潮流（講演）. 第 7 回病院感染フォーラム横浜. 横浜市, 2007.7.

55) 森兼啓太： 院内感染とその対策の現状（講演）. 埼玉県衛生研究所・感染症情報センター研修会. 埼玉, 2007.7.

56) 森兼啓太： CDC ガイドラインという名の黒船来航（特別講演）. 第 11 回北海道器材・感染対策研究会. 札幌市, 2007.7.

57) 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（講演）. 横浜南共済病院感染対策研修会. 横浜市, 2007.7.

58) 森兼啓太：新しい CDC ガイドラインのインパクト（教育講演）. 第 3 回 KCS エキスパートカンファレンス. 福岡市, 2007.7.

59) 森兼啓太： サーベイランス実践における国内外のサーベイランスデータの活用（講演）. 第 10 回日本感染管理ネットワーク研修会. 東京, 2007.7.

60) 森兼啓太： 手術部位感染の減少を目指して（講演）. けいゆう病院院内講演会. 横浜市, 2007.7.

61) 森兼啓太： 高齢者施設での感染症とその予防・対策（講演）. 島根県介護老人保健施設研究大会. 松江市, 2007.8.

62) 森兼啓太： 感染制御をめぐる最新のトピックス（講演）. 感染管理認定看護師のためのキャリアディベロプメント講座. 東京, 2007.9.

63) 森兼啓太： 院内感染対策実践編（講演）. 横浜船員保険病院院内感染対策研修会. 横浜市, 2007.9.

64) 森兼啓太： 手術部位感染対策とサーベイランスの意義と有効性（講演）. 筑波メディカルセンター講演会. つくば市, 2007.10.

65) 森兼啓太： 医療関連感染の現状（講演）. 第 39 回城西大学薬学部生涯教育講座. 坂戸市（埼玉）, 2007.10.

66) 森兼啓太： 病院感染サーベイランスーその目的と意義（特別講演）. 第 59 回日本消化器内視鏡技師学会. 大阪, 2007.10.

67) 森兼啓太： 最新の感染症事情（講演）. 第 10 回感染症予防歯科衛生士講習会. 東京, 2007.10.

68) 森兼啓太： 感染症と感染管理：最新の動向（講演）. 神奈川県看護協会教育研修会. 横浜市, 2007.10.

69) 森兼啓太： 院内感染対策：新型インフルエンザを中心に（講演）. 山口県立総合医療センター院内感染対策研修会. 防府市（山口）, 2007.10.

70) 森兼啓太： サーベイランス（司会）. 第 56 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 東京, 2007.10.

71) 森兼啓太： 外科手術部位感染管理とサーベイランス（特別講演）. 第 6 回栃木県院内感染防止懇話会. 宇都宮市, 2007.10.

72) 森兼啓太： 施設内での感染症を防止するためには（講演）. 平塚保健福祉事務所・感染症予防講演会. 平塚市（神奈川）, 2007.11.

73) 森兼啓太： もし、院内感染のアウトブレイクが発生したら（講演）. 名古屋第二赤十字病院・感染防止講演会. 名古屋市, 2007.11.

74) 森兼啓太： 新型インフルエンザにどう立ち向かうか：企業における対策を考える（講演）. 現代の企業リスクと事業継続経営研修会. 長野, 2007.11.

75) 森兼啓太：手術部位感染サーベイランス（講演）. 京都府立医科大学・院内感染対策研修会. 京都, 2007.11.

76) 森兼啓太： SSI サーベイランス：日本の現状と今後の課題（講演）. 第 60 回 ICD 講習会. 東京, 2007.11.

77) 森兼啓太： 手術部位感染対策のこれまでとこれから（特別講演）. 第 7 回静岡感染制御研究会. 静岡, 2007.11.

78) 森兼啓太： 国内外のガイドラインにみる院内感染対策の潮流（講演）. 第 3 回京滋院内感染対策

研究会.京都, 2007.11.

79) 森兼啓太： 新型インフルエンザにどう備えるか？（講演） 福井県坂井健康福祉センター研修会. 坂井市（福井）, 2007.11.

80) 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, 2007.11.

81) 森兼啓太： 新型インフルエンザ（講演）. 高知医療センター院内感染対策研修会. 高知, 2007.12.

82) 森兼啓太： 新型インフルエンザ（講演）. 日本看護協会看護教育研究センター研修会. 東京, 2007.12.

83) 森兼啓太： 知的障害者施設における感染症対策（講演）. 知的障害者健康管理セミナー. 高崎市, 2007.12.

84) 森兼啓太： CDC の新しい感染対策ガイドライン（特別講演）. 山陰労災病院・第 4 回 ICT 公開セミナー. 米子市, 2007.12.

85) 森兼啓太：看護における感染予防の基礎（講演）. 神奈川県看護協会教育研修会. 横浜市, 2007.12.

86) 森兼啓太： 手術部位感染サーベイランス：その実際と意義（講演）. 都立豊島病院・感染対策講演会. 東京, 2007.12.

87) 森兼啓太： 手術部位感染対策のこれまでとこれから（講演）. 東京女子医大八千代医療センター SSI セミナー. 八千代市（千葉）, 2008.1.

88) 森兼啓太： 感染制御をめぐる内外の最新トピックス（講演）. 感染管理認定看護師のためのキャリアディベロプメント講座. 東京, 2008.1.

89) 森兼啓太： 新型インフルエンザとその対策―医療面を中心として（講演）. 新型インフルエンザ対策研修会. 京都, 2008.2.

90) 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）. 国立病院機構埼玉病院研修会. 和光市, 2008.2.

91) 森兼啓太：感染管理の基礎と最新の動向（講演）. 湘南中央病院研修会. 藤沢市（神奈川）, 2008.2.

92) 森兼啓太： 手術部位感染防止のスタンダード：CDC ガイドラインとサーベイランス（特別講演）. 第 5 回北大阪感染症研究会. 大阪, 2008.2.

93) 森兼啓太： 第 4 回教育委員会講習会（司会）. 第 23 回日本環境感染学会総会. 長崎市, 2008.2.

94) 森兼啓太： CDC ガイドラインに見る手指衛生の潮流（教育セミナー）. 第 23 回日本環境感染学会総会. 長崎, 2008.2.

95) 森兼啓太： 欧米における感染対策の状況についてのアウトライン（講演）. 第 23 回日本環境感染学会総会. 長崎, 2008.2.

96) 森兼啓太： 手術部位感染防止のスタンダード：ガイドラインとサーベイランス（講演）. 天草中央総合病院院内感染対策研修会. 天草市, 2008.2.

97) 森兼啓太：病院感染対策アップトゥーデート（講演）. JICSA 感染対策セミナー. 福岡, 2008.3.

98) 森兼啓太： 病院感染サーベイランスの意義と目的（講演）. 長崎県済生会病院院内感染防止研修会. 長崎, 2008.3.

99) 森兼啓太：新型インフルエンザへの対応（講演）. 福井県済生会病院院内教育講演会. 福井, 2008.3.

100) 森兼啓太： 2008 年日本の医療関連感染対策はどこへ行く？（特別講演）. 第 4 回埼玉県感染対策セミナー. さいたま市, 2008.3.

101) 森兼啓太： 鳥インフルエンザと新型インフルエンザ（講演）. 動物由来感染症研修会. 佐賀, 2008.3.

102) 大日康史： 新型インフルエンザの感染拡大（講演）. 第 35 回日本救急医学会 ICD 講習会. 2007.10

103) 安井良則： 感染症法改正と新型インフルエンザ対策について. 大阪府保健所医師業務研修会. 2007.4

104) 安井良則, 岡部信彦： 公衆衛生対策について ―我が国における新型インフルエンザ対策―. 日本感染症学会シンポジウム. 2007.4

105) 安井良則： 鳥インフルエンザ・新型インフルエンザについて. 播磨政経懇話会. 2007.4

106) 安井良則, 多田有希, 他： 2006/07 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. 臨床ウイルス学会. 2007.6

107) 安井良則：新型インフルエンザに対する 公衆衛生対策. 鹿児島県感染症危機管理研修会. 2007.6

108) 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 19 年度保育所保健衛生専門研修会. 2007.6

109) 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, 川越市保健所研修会. 2007.7
110) 安井良則： 感染症情報センターからの情報発信とメディア対応について. 保健医療科学院保健所長研修会. 2007.7
111) 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. 堺市民間保育園保育士会. 2007.7
112) 安井良則： 感染症対策について. 山口県防疫研修会. 2007.7
113) 安井良則： 新型インフルエンザ対策ガイドラインについて. 山口県疫学調査員養成研修会. 2007.7
114) 安井良則： 新型インフルエンザについて. 中津済生会病院研修会. 2007.8
115) 安井良則： ワクチン予防可能疾患に関する最近の話題. 南河内ワクチン学術講演会. 2008.9
116) 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. 大分県保育所健康・安全保育研修会. 2007.9
117) 安井良則： 新型インフルエンザ対策ガイドラインについて. 鳥取県疫学調査員養成研修会. 2007.9
118) 安井良則： ワクチン予防可能疾患の現状と課題. 郡山市医師会定期予防接種受託講習会. 2007.10
119) 安井良則： 感染症対策について. 堺市健康づくり推進市民会議. 2007.10
120) 安井良則： 予防接種関連疾患の最近の話題. 春日部市医師会学術講演会. 2007.10
121) 安井良則, 岡部信彦： 地域が行う積極的疫学調査. 第 66 回日本公衆衛生学会総会. 2007.10
122) 安井良則： 最近話題となった感染症について. 大阪小児感染症研究会. 2007.10
123) 安井良則： 新型インフルエンザ対策について. 山形県置賜保健所研修会. 2007.11
124) 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. 佐賀県保育所健康・安全保育研修会. 2007.11
125) 安井良則, 砂川富正, 他： 2007 年の麻疹流行時における発生動向調査結果について. 第 39 回日本小児感染症学会学術総会. 2007.11
126) 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. 東京都社会福祉協議会保健部会勉強会. 2007.11
127) 安井良則： インフルエンザについて. 福岡市東区内科医会学術講演会. 2007.11
128) 安井良則： 臨床医が知っておくべき最新のウイルス感染症事情. 尼崎市内科医会学術講演会. 2007.11
129) 安井良則： ノロウイルス感染症対策研修会. 川崎市研修会. 2007.11
130) 安井良則： 感染症の知識と対応. 渋谷区保育施設研修会. 2007.11
131) 安井良則： インフルエンザを含めた感染症の最近の話題. 堺市医師会保育所嘱託医会. 2007.11
132) 安井良則： 保育所における感染症対策. 大阪府熊取町保育所研修会. 2007.11
133) 安井良則： 保育所における感染症対策. 草加市保育部会看護師部会研修会. 2007.11
134) 安井良則： 感染症の最近の話題. 大阪市立大学医学部附属病院 Infection Control 研究会. 2008.1
135) 安井良則： ノロウイルス感染症＆新型インフルエンザ. 平成 19 年度近畿中央胸部疾患センター研修会. 2008.3
136) 安井良則： 麻しん排除を目指して. 山口県麻疹研修会. 2007.3
137) 安井良則： 麻しんを含めた今後の予防接種対策について. 平成 20 年度堺市感染症研修会. 2007.3
138) 安井良則： 麻しんの現状と対策について. 福岡県教育関係者研修会. 2007.3
139) 安井良則： これからの麻しん対策について. 千葉県麻疹対策研修会. 2007.3
140) 多田有希：感染症への対応と予防. 東京都教職員研修. 東京. 2007.7
141) 多田有希：ＳTD 全般の疫学. 埼玉県性感染症予防対策推進者要請研修会. 埼玉. 2008.2
142) 多田有希：最新の感染症情報. 日本渡航医学会等主催：新型インフルエンザ・麻疹対策セミナー. 東京. 2008.2
143) 多田有希：感染症発生動向調査の実際. 感染制御部門疫学検査分野研修会. 福島. 2008.2
144) 多田有希：麻しんを含む感染症発生動向調査。衛

生検査専門技術研修．佐賀．2008.2

145) 齊藤剛仁, 伊豫田淳, 山本章二,陸彦, 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LEEとエンテロヘモリシンの協調発現制御機構. 第81回日本細菌学会総会. 京都府. 2008.3

146) 山下和予：病原体検出情報システムの現状と問題点. 第 21 回公衆衛生情報研究協議会研究会 2008.2 埼玉県和光市

147) 山本(上野)久美、多屋馨子、岡部信彦： 速報：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－. 第48回臨床ウイルス学会.富山県. 2007.6.

148) 山本(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」における 2007 年の全国麻疹発生状況. 第 39 回小児感染症学会. 横浜市. 2007.11.

149) 山本(上野)久美、多屋馨子、岡部信彦： 2006 年度第2期麻しん・風しんワクチン接種に関する全国調査最終評価. 第 11 回日本ワクチン学会. 横浜市. 2007. 12.

150) 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：2006/07 シーズン前インフルエンザ抗体保有状況（2006 年度感染症流行予測調査事業より）. 第 48 回日本臨床ウイルス学会. 富山県富山市. 2007.6.

151) 佐藤弘, 多屋馨子, 高崎智彦, 倉根一郎, 岡部信彦, 感染症流行予測調査事業担当者グループ：わが国におけるヒト及びブタの日本脳炎抗体保有状況（2006 年度感染症流行予測調査より）. 第 39 回日本小児感染症学会. 神奈川県横浜市. 2007.11.

152) 佐藤弘, 多屋馨子, 駒瀬勝啓, 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（2006 年度感染症流行予測調査より）. 第 11 回日本ワクチン学会. 神奈川県横浜市. 2007.12.

153) 荒木和子, 多屋馨子, 岡部信彦：. OPV 初回投与後の糞便中から検出されたポリオウイルス２型株にみられたゲノム変異第 10 回ワクチン学会.. 横浜 2007.12.

154) 多屋馨子、感染症情報センター麻疹風疹対策チーム：感染症情報麻疹の流行の背景と要因分析について．第 13 回予防接種に関する検討会．東京都 2007．6.

155) 多屋馨子：インフルエンザを含む感染症の動向について．平成 19 年度都道府県インフルエンザワクチン担当者会議．東京都．2007．9.

156) 多屋馨子：最近のインフルエンザに関する話題について. 第二回　札幌地区インフルエンザ講演会. 札幌市．2007．11.

157) 多屋馨子：病原微生物とホストを一体で把える予防の立場から第 48 回 ICD 講習会（第 81 回日本感染症学会総会時）．京都市．2007．4.

158) 多屋馨子：水痘・帯状疱疹の重症化例調査．第 14 回 JHIF ヘルペス感染症フォーラム．札幌市．2007．8.

159) 多屋馨子：インフルエンザと麻疹に関する話題 －ワクチンを中心に－. 第 21 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム・ランチョンセミナー. 横浜市. 2007. 5.

160) 多屋馨子：麻疹（はしか）を知る．都立井草高校麻疹研修会．東京都練馬区．2007．4.

161) 多屋馨子：ワクチンに関する最近の話題. 越谷市医師会　学術講演会. 埼玉県越谷市 2007. 6.

162) 多屋馨子：2012年 麻しん排除に向けて－横浜から麻しんゼロをめざして－. 平成19年度　横浜市衛生研究所　衛生技術研修会. 横浜市. 2008. 2.

163) 多屋馨子：今年度の麻疹流行から考える. 平成19年度感染症に関する研修会. 岡山市. 2007. 10.

164) 多屋馨子：2007年の麻疹流行の特徴と2012年麻疹排除に向けた取り組み. 麻しん対策研修会. 岡山市. 2008. 2.

165) 多屋馨子： インフルエンザの予防について. 感染研市民セミナー. 東京都武蔵村山市 2008. 1.

166) 多屋馨子：学校・職場・病院における感染制御と予防接種-本邦における Vaccine Preventable Disease の流行状況と疫学. 第23回日本環境感染学会総会. 長崎市. 2008. 2.

167) 多屋馨子：緊急提言　近年の麻疹・風疹の流行の特

徴とその対策. 第 39 回 日本小児感染症学会総会・学術集会. 横浜市. 2007. 11.

168) 多屋馨子: 2007 年の麻しんの現状と対策. 群馬県麻疹講演会. 群馬県前橋市. 2007. 6.

169) 多屋馨子:ワクチンに関する最近の話題～麻疹を中心に～. 平成19年度江戸川区医師会研修会. 東京都江戸川区. 2007. 5.

170) 多屋馨子:感染症の理解と学校における対応. 江戸川区小・中学校教育研究会合同講演会. 東京都江戸川区. 2007. 12.

171) 多屋馨子: 日常診療に役立つインフルエンザの話題～季節性のインフルエンザと新型インフルエンザ～ . 第 7 回高知県ウイルス感染症研究会. 高知市. 2008. 3.

172) 多屋馨子:百日咳に関する血清疫学調査ならびに百日咳を含むワクチンの国内接種状況. 高知県、高知県中央東福祉保健所、高知大学、高知大学医学部附属病院における百日咳合同対策会議. 高知県南国市. 2007. 8.

173) 多屋馨子:ワクチンに関する最近の話題～2007 年の麻疹流行と水痘を含めて～. 佐賀県医師会小児科医部会学術講演会. 佐賀県佐賀市. 2007. 7.

174) 多屋馨子:麻疹・風疹の感染拡大防止対策～麻疹・風疹eliminationにむけて～. 第70回鹿児島県小児科医会学術講演会. 鹿児島県鹿児島市. 2007. 6.

175) 多屋馨子:予防接種に関する最近の話題. 取手守谷地区ワクチン研究会. 茨城県取手市. 2007. 11.

176) 多屋馨子:予防接種関連疾患の最新の話題～インフルエンザ・はしかを主として～習志野市医師会・小児科医会・予防接種委員会. 千葉県千葉市. 2007. 12.

177) 多屋馨子:予防接種-改変後の現状と新たな展開. 第216回順天堂大学浦安病院小児科水曜講演会. 千葉県浦安市. 2007. 4.

178) 多屋馨子:最近のはしか・風しんの国内現状と対策～はしかを中心に～第 6 回はしかゼロ対策小児科医協議会/風しんをなくす会. 京都市. 2007. 4.

179) 多屋馨子:学校における冬の感染症対策と、 今年の麻疹流行を振り返る. 世田谷区予防接種研修会. 東京都世田谷区. 2007. 12.

180) 多屋馨子:2007年の麻疹流行から学ぶ～2012年麻疹排除に向けた国を挙げた取り組み～. 予防接種センター講演会. 静岡市. 2008. 3.

181) 多屋馨子:麻疹の現状とその対策. 第 10 回石川感染対策フォーラム. 石川県金沢市. 2007. 6.

182) 多屋馨子:ウイルス感染症対策. 平成 19 年度院内感染対策講習会. 宮城県仙台市. 2007. 11.

183) 多屋馨子:学校での麻疹対策. 千代田区保健所麻疹会議. 東京都千代田区. 2008. 3.

184) 多屋馨子:麻疹発生時の対応と今後の対策. 麻しん(はしか)対策研修会. 東京都千代田区. 2007. 6.

185) 多屋馨子:これからの麻疹対策について. 平成 19 年度千葉県予防接種担当者研修会. 千葉県市原市

186) 多屋馨子:麻しんの排除に向けて～積極的疫学調査・学校などでの感染拡大防止を含めて～. 川崎市感染症危機管理研修会. 川崎市. 2008. 3.

187) 多屋馨子:麻疹流行中～今からすぐに対応開始！～. 多摩小平感染症up-to-date！講演会. 東京都小平市. 2008. 3.

188) 多屋馨子:麻疹～排除に向けて～. 第30回大阪小児感染症・アレルギー談話会. 大阪市. 2007. 12.

189) 多屋馨子:日本の現状に最適なワクチン接種とは～予防接種関連疾患の最新の話題～. 第 10 回関西感染症フォーラム(FInD in Kansai). 大阪市. 2007. 12.

190) 多屋馨子:麻疹対策～2007年の麻疹流行から学ぶ～ . 第 9 回国立大学附属病院感染対策協議会. 群馬県高崎市. 2007. 11.

191) 多屋馨子:感染症だより－予防接種関連情報～第16 回予防接種に関する検討会より～. 第 550 回日本小児科学会東京都地方会講話会. 東京都板橋区. 2007. 9.

192) 多屋馨子:麻疹流行しはじめました！国内eliminationに向けた対策～最新情報～. 第 553 回日本小児科学会東京都地方会講話会. 東京都板橋区. 2008. 1.

193) 多屋馨子:2007 年の麻疹流行から学ぶ. 感染症対策講演会. 東京都中野区. 2007. 12.

194) 多屋馨子:麻疹と今後の国の麻疹対策について～その他学校で気を付けたい感染症～. 中野区立上鷺宮小学校研修会. 東京都中野区. 2007. 9.

195) 多屋馨子：麻疹の流行に際して取るべき行動. 町田市医師会 学術講演会. 東京都町田市. 2007. 5.
196) 多屋馨子：これからの麻しん対策について. 長生保健所麻疹研修会. 千葉県茂原市. 2008. 3.
197) 多屋馨子：予防接種に関する最近の話題. 平成 19 年度医療従事者感染症対策研修会. 長野県佐久市. 2007. 11.
198) 多屋馨子：学校における感染症発生時の対応について（麻しん対策を中心に）. 東京都感染症対策説明会. 東京都新宿区. 2007. 4.
199) 多屋馨子：学校における危機管理 感染症について. 東京都指導者研修会. 東京都文京区. 2008. 1.
200) 多屋馨子：集団の中での感染症とその対応. 東京都特別区第二ブロック保育園園長会. 東京都荒川区. 2007. 6.
201) 多屋馨子：最近の予防接種に関する話題. 第 2 回奈良県肺炎球菌ワクチン研究会学術会議. 奈良県大和郡山市. 2007. 11.
202) 多屋馨子：2007 年の麻疹流行と麻疹対策. 平成 19 年度 第 2 回 院内感染対策講演会. 東京都文京区. 2008. 2.
203) 多屋馨子：予防接種の最近の話題. 第 39 回日本小児感染症学会総会・学術集会ランチョンセミナー. 横浜市. 2007. 11.
204) 多屋馨子：ワクチンに関する最近の話題～MR ワクチンを中心に～ . 日野市医師会学術講演会. 東京都日野市. 2008. 3.
205) 多屋馨子：今、ましん（はしか）を考える～麻しん（はしか）の予防方法～. 武蔵野市学校保健委員会研修会. 東京都武蔵野市. 2008. 2.
206) 多屋馨子：2006/2007年の麻疹流行に学ぶ～2012年国内麻疹排除に向けて～. 福岡地区小児科医会学術講演会. 福岡市. 2008. 2.
207) 多屋馨子：国内外の麻しんの現状と対策. 文部科学省主催学校保健事務担当者連絡会. 東京都渋谷区. 2008. 2.
208) 多屋馨子：麻疹排除に向けて～2007 年の麻疹流行から得られたもの～. 兵庫県平成19年度感染症研修会. 神戸市. 2007. 12.
209) 多屋馨子：最近の感染症動向とその対策～麻疹、インフルエンザを中心として～. 鳥取県西部予防接種講演会. 鳥取県米子市. 2007. 11.
210) 多屋馨子：はしかの事例から、感染症対策を考える. 平成 19 年度 保育所保育・保健推進セミナー. 東京都渋谷区. 2008. 2.
211) 多屋馨子：『麻疹』－今年の流行にそなえる－国内外における麻疹の現状と対策. 国際感染症セミナー. 東京都新宿区. 2007. 4. 4
212) 多屋馨子：麻疹の流行と予防接種に関する最近の話題 . 第 4 回 名鉄病院予防接種懇話会. 名古屋市. 2007. 6
213) 多屋馨子：保育園の感染症について. 名古屋市保育園研修会. 2007. 5.
214) 多屋馨子：薬学部における感染症対策～学生が被害者や加害者にならないために～2012 年、国内からの麻疹排除をめざして～2007 年の流行から学ぶ～. 薬学教育協議会東海地区実務実習調整機構・名城大学薬学部実務実習部門主催 日本薬学会東海支部共催特別講演会. 名古屋市. 2008. 3.
215) 多屋馨子：感染症の予防と対策について. 足立区養護教諭研修会. 東京都足立区. 2007. 8.
216) 多屋馨子：最近の感染症の傾向と予防について～感染症にかからないために子どもが自分でできる健康管理～. 練馬区立南田中小学校学校保健委員会. 東京都練馬区. 2007. 8.
217) 山本(上野)久美：インフルエンザ予防教室～この冬を元気にのりきるために～. 立川市健康予防教室. 東京都立川市. 2007. 11.
218) 山本(上野)久美：水痘ワクチンによる帯状疱疹予防効果と国をあげた麻しん対策について. 新潟市予防接種委託医療機関研修会. 新潟県新潟市. 2008. 3.
219) 山本(上野)久美：国をあげた麻しん排除計画の概要、学校との連携の重要性について. 沖縄県予防接種および麻しん対策協議会. 沖縄県那覇市. 2008. 3.
220) 藤本嗣人, 篠原美千代, 宗村徹也, 西尾治, 近平雅嗣, 谷口清州, 岡部信彦： 脳炎患者から採取された臨床検体中エンテロウイルス 71 の定性・定量的検討. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌市. 2007.10.

221) 藤本嗣人, 松野重夫, 岡部信彦: アデノウイルスレファレンスセンター活動のためのアンケート調査. 第 8 回日本アデノウイルス研究会. 札幌市. 2007.10.

222) 村上裕子、斎藤博之、松野重夫:2006 年～2007 年に発生した感染性胃腸炎におけるノロウイルス遺伝子型の比較.`第 56 回日本感染症学会東日本地方会学術集会第 54 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会. 東京,2007.1

223) 陸彦、伊豫田淳、Clauda Toma、伊藤健一郎、八柳潤、大西真、寺島淳、渡辺治雄:LEE 非保有型の志賀毒素産生性大腸菌が保有する新規免疫グロブリン結合遺伝子ファミリーの解析.第81回日本細菌学会総会、京都、2008. 3

224) 飯田真里子、伊藤健一郎、岡村登: 腸管病原性大腸菌の局在性付着関連遺伝子 *bfpA* と自己凝集能. 第 81回日本感染症学会総会、京都、2007. 4.

225) 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. 2007.5.

226) 木村博一: ウイルス検査法概論.さいたま市健康科学研究センター研修会. さいたま市.2007.7.

227) 木村博一: ウイルス感染症に対する予防と感染防止対策. 群馬県藤岡保健福祉事務所研修会. 藤岡市. 2007.11.

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, 2007.4-2008.3. http ： //idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/case200800/case080430.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, 2007.4-2008.3. 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, 2007.4-2008.3. 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, 2007.4-2008.3. 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 年 4 月改訂）, 2007.4.-2008.3. http： //idsc.nih.go.jp/disease/influenza/fluQA/index.html

6) 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： 2007.7.12－第 18 報： 2007.12.28. http：//idsc.nih.go.jp/yosoku/JE/JEmenu-sw.html

7) 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：2007.12.26－第 3 報： 2008.2.5. http：//idsc.nih.go.jp/yosoku/Flumenu.html

8) 松岡静香, 多屋馨子, 佐藤 弘, 山本(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

9) 柴崎伸子, 多屋馨子 ,岡部信彦： 日本の定期/任意予防接種スケジュール（2007.４.１以降）. http：//idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/Imm08JP.gi

10) 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

11) 松岡静香, 多屋馨子, 山本(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

12) 多屋馨子、山本（上野）久美、砂川富正、安井良則、多田有希、松井珠乃、島田智恵、岡部信彦：医療機関での麻疹対応について(第二版). .http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/guideline/hospital_ver2.pdf

13) 多屋馨子、山本（上野）久美、安井良則、砂川富正、岡部信彦：国立感染症研究所感染症情報セン

ター作成、文部科学省・厚生労働省監修、学校における麻しん対策ガイドライン. http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/guideline/hospital_ver2.pdf

14) 砂川富正、山本（上野）久美、安井良則、多田有希、島田智恵、松井珠乃、多屋馨子、谷口清州、岡部信彦：国立感染症研究所感染症情報センター、厚生労働省結核感染症課： 都道府県における麻しん対策会議のガイドライン. http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/guideline/prefecture_200805.pdf

15) 安井良則、砂川富正、山本（上野）久美、島田智恵、多屋馨子、多田有希、谷口清州、岡部信彦：国立感染症研究所感染症情報センター： 麻しん排除に向けた積極的疫学調査ガイドライン第二版 . http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/guideline/active_ver2.pdf

16) 多田有希、島田智恵、安井良則、山本（上野）久美、多屋馨子、谷口清州、山下和予、岡部信彦：国立感染症研究所感染症情報センター： 医師における麻しん届出ガイドライン第二版 http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/guideline/doctor_ver2.pdf.

17) 砂川富正、多屋馨子、多田有希、安井良則、山本（上野）久美、岡部信彦：国立感染症研究所感染症情報センター・厚生労働省結核感染症課： ブロック会議関連資料等. http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/bloc/measlesBloc.html

18) 山本(上野)久美、多屋馨子、佐藤弘、山本明史、岡部信彦： 麻疹教育啓発ビデオ「はしかから身を守るために」 (DVD, 動画) . http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/Video/measlesVideo.html

19) 山本明史、山本（上野）久美、多屋馨子、岡部信彦： 麻疹排除ロゴマーク(日本語版、英語版). http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/index.html

20) 山本明史、山本（上野）久美、多屋馨子、岡部信彦： 麻疹排除に向けての標語「はしかにならない！はしかにさせない！」 http：//idsc.nih.go.jp/disease/measles/index.html

21) 多屋馨子、岡部信彦、高崎智彦、倉根一郎、厚生労働省結核感染症課：日本脳炎 Q&A http：//idsc.nih.go.jp/disease/JEncephalitis/QAJE.html

２０．エイズ研究センター

センター長　山 本　直 樹

概　要

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染者とエイズ患者の数はこれまで、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、2250 万人と圧倒的に多い（2007 年末現在）。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 2007 年度は感染者の数が過去最高、しかも 4 年連続で 1000 人を超えるなど、過去最高の新規感染者数を記録し、今後の感染拡大は大いに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最大の目標に置いてきた。

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。

人事では、本多三男第 1 研究グループ長が辞職（平成 19 年 6 月 30 日付）し、後任に梁明秀博士が横浜市立大学医学部（准教授）より就任（平成 19 年 10 月 1 日付）した。

当センターの運営に当たっては宮村達男所長、渡邉治雄副所長、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、保富康宏医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター長等多くの方の協力を得た。

研究の場に関しては第 3 室の村山から戸山への移転でなどで多少の改善がみられたものの、研究スペースの確保と統合は依然として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) 発現改良型Ｔ細胞ワクチン開発の検討

HIV ワクチンの臨床効果の目処が混沌とした状態で、ワクチンの研究開発は基礎研究の立場から再検討する事が最優先事項の一つとなっている。本研究で、感染研第一研究グループと米国 NIH ワクチン開発センター（VRC/NIAID/NIH）との共同研究として、組み換え BCG・Ad のプライムブーストワクチン開発が進められた。その結果、マイコバクテリアベクターの低発現性の改良が緊急課題であることさらにＴ細胞発現の特異性を明らかした。従って、ベクター改良を含めた発現系を検討し、これまで得られなかった高分子蛋白の大量分泌系の開発を可能にした。その普遍性と生体発現の至適化を検討中である。

[本多三男、兼清 優、Gary J. Nabel(米国 NIH)、松尾和浩(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(2) 改変型 HIV-1 Env 抗原の BCG からの分泌発現の試み

昨年度報告した HIV-1 Env 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（菌体内で安定に発現）の N 末端近傍にさらにアミノ酸変異を導入し、alpha 抗原のプロモーター、シグナル配列を用いて BCG での分泌発現を解析した。シグナルペプチダーゼによる認識を改良するために Asp-Pro 残基を導入したものや、サイトカイン分泌に使われたスペーサー配列を挿入したものなどを試行したが、Env 抗原の菌体外への分泌は認められなかった。今後他のシグナル配列を用いて検討する。

[松尾和浩(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、堀端重男(日本 BCG 研究所)、山本直樹、Gary J. Nabel(米国 NIH)、本多三男]

(3) BCG 東京株 I 型および II 型株のキャラクタリゼーション

組換え BCG の作製に用いている東京株シードロットは、I 型、II 型の混合物であることが明らかになっている。それらの型によって形質転換効率、プラスミド DNA の安定性、外来抗原発現能等が異なるかどうかを、HIV-1 Gag 及び Gag 変異体発現プラスミドを用いて調べた。野生型では、コロニー数、プラスミドの安定性について I 型 II 型で大差がなかったが、Gag の N 末端２アミノ酸を PheSer (野生型は GlyAla)に置換した変異体発現プラスミドでは、II 型で多数のコロニーを生成するものの、プラスミドを欠失した形質転換体が多く観察され、DNA の安定性に差がある可能性が示唆された。今後、解析コロニー数を増やし、組換え BCG ベクターとして適した株を純化したい。

[松尾和浩(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、堀端重男(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(4) コドンを至適化した HIV-1 subtype A、B、C 由来改変型 env 遺伝子を発現する組換え BCG の構築

各サブタイプ（A、B、C）の改変型 env 遺伝子（gp140、gp145）を alpha 抗原分泌シグナルの C 末端に直接つなぎ改変型 Env 抗原が発現するかを検討するため、これらのベクターを BCG に導入し、形質転換体を得た。菌体内での Env 抗原の発現及び培養上清中への分泌をウエスタンブロット法により解析した結果、菌体外への分泌は認められなかったものの、菌体内での発現が確認された。さらには、以前のベクターと比較すると alpha 抗原由来のシグナル外 C 末端領域のアミノ酸を除き、直接シグナルに改変型 env 遺伝子をつなぐことで Env 抗原の分解産物が減り、菌体内での Env 抗原の安定性が増すことがわかった。

[堀端重男(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、松尾和浩(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(5) Tat 系分泌シグナルを有する HIV-1 subtype B 由来改変型 env 遺伝子を発現する組換え BCG の構築

alpha 抗原のシグナル遺伝子は、菌体でのタンパク分泌系として知られている Sec 依存性であり、最近 Sec 系と異なる Tat (Twin-arginine translocase) 系による蛋白質分泌系が抗酸菌においても機能すること報告されているので、この系を利用するために Tat 依存性のシグナル遺伝子（blaF）を有したベクターをもとにして改変型 env 遺伝子（gp145B、gp140B）を導入することで、BCG 組換え体の Env 抗原の発現及び分泌能が向上するかどうかを調べた。組換えを行った結果、pSO-blaF145B 及び pSO-blaF140B により得られた組換え体では分泌能の向上は見られなかったものの、rBCG/pSO-gp140B 株の菌体内における Env 抗原の発現が劇的に増強された。

[堀端重男(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、松尾和浩(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(6) 改変型 env 遺伝子を導入した組換え BCG のタイピングと導入遺伝子の安定性

既に BCG 東京株に関しては I 型、II 型が存在する事が

知られている。組換え体では形状の異なる 2 種類のコロニーが見られるが、形態によりタイプが分類可能なのかを調べるため、各種コロニーの単培養を行い、PCR により BCG のタイピングを行った。その結果、組換え体（rBCG/pSO-blaFgp145B、gp140）は導入する遺伝子やコロニーの形状に関係なく全て II 型であった（82/82）。さらに導入したベクター内にある改変型 env 遺伝子の BCG 菌体内における安定性を調べるため、PCR で解析を行った結果、コロニー形態の違いによる導入遺伝子の安定性は rough>smooth であり、導入遺伝子から見た場合の安定性は gp140>g145 であることがわかった。
[堀端重男(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、松尾和浩(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(7) HIV-1 Gag を分泌発現する組換え BCG の構築

BCG ベクターにおいて抗原を菌体外へ分泌させることは、菌自身へのストレスを軽減するとともに、抗原を免疫系に到達させるために有効と考えられる。そこで、組換え BCG からの Gag 分泌発現能を向上させるため、抗原 85B のシグナル配列に繋ぐ Gag の N 末端領域にアミノ酸置換を導入した 3 種の変異体遺伝子を作製した。構築したベクターを BCG に導入したところ、全ての変異体で Gag の分泌発現が認められ、特に N 末端が DPA の変異体（野生型は GAR）において分泌能が上昇していた。このことから、N 末端領域に変異を導入することは分泌能を上昇させるのに有効と考えられた。
[佐藤香里(日本 BCG 研究所)、堀端重男(日本 BCG 研究所)、山本直樹、松尾和浩(日本 BCG 研究所)]

2．エイズワクチンの免疫増強効果を目指した SOCS1 阻害剤の開発に向けての技術基盤の構築

HIV に対するワクチンは有望な治療および予防の手段の一つであるが、これまでに臨床で得られた成果は限定的なものにとどまっている。最近の報告により、抗原提示樹状細胞（DC）のサイトカインシグナル伝達サプレッサーSOCS1 をサイレンシングすると、抗原特異的な抗腫瘍免疫が大幅に亢進することが明らかになった。我々はエイズワクチンの免疫増強効果目指した SOCS1 を抑制する薬剤のスクリーニングを行うため、小麦胚芽を用いた無細胞タンパク質合成系とアルファスクリーンを用いたハイスループットアッセイ系を構築した。 本法は 384 サンプルを同時に数分間で解析可能なハイスループットに阻害剤スクリーニング方法であり、同時に SOCS1 のユビキチンリガーゼ活性を指標とした全く新しい薬剤スクリーニングが可能である。これらの技術は新規の SOCS1 特異的阻害剤の開発のみならず、免疫、ワクチンのあらゆる分野において活用していくことが可能であると考えられる。
[梁 明秀、仲宗根正、澤崎達也(愛媛大学)、正岡崇志(愛媛大学)、西真由子、大庭賢二、山本直樹]

3．抗 V3 中和抗体に対する耐性メカニズムの解析

HIV-1 env V3 core sequence の GPGR 配列を認識するモノクロナール中和抗体 KD-247 に対し、v3 loop に GPGR 配列を有する B HIV-1 subtype の中に中和耐性のウイルスが存在した。Env V3 領域以外に中和感受性を決定する要因があると考えられる。中和耐性と感受性ウイルス亜株を分離し、その Env 配列の解析を行った。その結果 KD-247 の中和エピトープからかなり離れているにも関わらず、JRFL において C1 領域に point mutation があると中和感受性が 7 倍高くなることが判明した。Env の構造・機能および中和抗体の作用機序に関し、多くの示唆が得られると期待される。
[滝澤万里、草川茂、駒野淳]

4．高い多様性を持つ HIV-1 に有効なエイズワクチンの開発

HIV-1 の高い変異性は、感染地域により流行しているウイルス遺伝子型は異なっている。AIDS pandemic の原因となっている HIV-1 group M はアミノ酸配列から 10 以上の subtype に分類される。各感染地域では複数の subtype による感染が起こっている。アミノ酸配列の違いは Gag, Pol では 10%前後、それ以外の遺伝子では最大３０%に達する。このような背景から HIV ワクチンは複数の subtype に対する感染防御効果が求められている。これまで HIV ワクチン開発は主に細胞性免疫を誘導する prime/boost 法をベースに行われてきた。しかし米国 NIH による adenovirus vector ワクチンの臨床実験の失敗からワクチン開発戦略の見直しが迫られている。HIV-1 感染抵抗性と関連する遺伝的性質、動物モデルにより実証されている生ワクチンによる感染防御の機序等、これまで軽視されてきた HIV 感染制御の解明への研究の重点化が進んでいる。我々はエイズウイルスパイク表面の糖鎖修飾の減少がウイルスの弱毒化と生ワクチンとしての性質の獲得に働くことを SIV/アカゲザル感染モデルから明らかにした。スパイク表面を覆う N 型糖鎖のうち 3、5 カ所に糖鎖欠失変異を導入した生ワクチンは野生型の高病原性 SIVmac239 感染をほぼ完璧に感染防御した。しかし HIV-1 の多様性を考えると少なくとも複数のサブタイプへのワクチン効果が HIV ワクチンに

求められる。動物モデルに用いられる SIVmac が属する SIVsm は自然感染において HIV-1 と同様のウイルス多様性を持つ。そこで複数の subtype に属する病原性 SIVsm を用いたワクチン効果の検討を開始した。まず SIVsmE543 を用いた解析を行っている。同 subtype SIVmac239 感染では見られなかった明らかな初期感染が約半数で検出された。しかしそのピーク値はワクチン未接種群と比較すると 1/1000 であった。さらに遅延してウイルス増殖が見られる個体、周期的にウイルス感染が検出される個体が確認されたが持続感染はなく、すべての個体で血中ウイルス量は測定感度以下に抑制された。このように生ワクチンは MHC 等の遺伝子多型の影響は小さい。ウイルス多様性、宿主遺伝的性質の違いに影響されない HIV 感染制御の機序の解明は新たな HIV ワクチン開発研究の手がかりとなることが期待される。
[杉本智恵、森一泰]

5．糖鎖修飾ウイルス生ワクチンの中和抗体誘導と感染防御効果

高病原性 SIVmac239 Env gp120 には 23 か所の N 型糖鎖付加部位が存在するが、5 か所の糖鎖欠失変異によりウイルスは弱毒化した。糖鎖修飾はウイルスの細胞指向性と中和抗体感受性に影響することから、これらのウイルスの性質とウイルスの低病原性化、生ワクチンとしての感染防御効果について検討した。aa 79, 146, 171, 460, 479 に N→Q 変異を持つΔ5G に加え新たに 3 種の変異ウイルス：Δ5G-v1(aa71, 79, 146, 460, 479 に N→Q 変異)、Δ5G-v2(aa79, 146, 377, 460, 479 に N→Q 変異)、Δ3G(aa 146, 171,460 に N→Q 変異) を作成した。SIVmac239 は T 細胞指向性でマクロファージでの感染増殖性は非常に低い。Δ5G は T 細胞、マクロファージでの感染増殖性を示す。この性質の違いは標的細胞のウイルスレセプター利用が関連する。SIVmac239 の感染には CD4 と CCR5 が必要だがΔ5G は CCR5 のみでも感染する性質を持つ。SIVmac239 は HIV 臨床分離株と同じように高い中和抗体抵抗性を有するが、Δ5G は中和抗体誘導能があり最初の感染実験では 2/5 頭で中和抗体が検出された。Δ5G の上記の性質は 5 カ所の糖鎖欠失のうち 3 カ所が関与することからその 3 カ所のみを持つΔ3G を作成した。また 171 の糖鎖付加部位の復帰変異により上記Δ5G の性質が変化したことから、171 の代わりに新たな糖鎖付加部位に変異を持つウイルスΔ5G-v1、Δ5G-v2 を作成した。Δ3G はΔ5G より 2 カ所 N 型糖鎖修飾が多いが上記の in vitro の性質についてはほぼ同じであった。Δ5G-v1 とΔ5G-v2 はΔ5G のマクロファージでの感染増殖性を失った。以上の新たな変異ウイルスについてワクチン効果と中和抗体誘導についてΔ5G と比較した。糖鎖修飾の違いは中和抗体誘導に影響し、感染ウイルスに対しΔ5G<Δ3G<Δ5G-v1<Δ5G-v2 の順で高い中和抗体が誘導が検出された。Δ5G-v2 感染では 3/3 頭で感染 6 週には高い中和抗体が検出された。Δ5G、Δ3G 感染では 1/3 頭のみで有意な中和抗体が検出されたが、Δ5G 感染では検出されたのは感染後 35 週以降であった。このようなワクチンウイルスに対する中和抗体誘導の違いにも関わらずチャレンジウイルス（SIVmac239, SIVsmE543）に対する中和抗体は誘導されなかった。4 種の糖鎖修飾変異ウイルスは in vitro でのウイルスとしての性質、中和抗体誘導において顕著な違いがあった。ところが生ワクチンとしての感染防御の誘導においては違いは見られなかった。ワクチンウイルスの野生株である SIVmac239 感染は検出限界以下に抑制された。subtype が異なる SIVsmE543 感染は、初期感染血中ウイルス量において 1/1000 以下に抑制された。
[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。一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。その結果、微粒子状キトサンおよびカチオン化キトサン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。また電子顕微鏡にて形状を観察した。接種経路はこれまでの解析を行ってきた経鼻投与の他に経肺および経皮での免疫能の解析を行ったが、経鼻免疫以上の結果は得られなかった。さらに現在、HIV-1精製タンパクを用いた免疫を行い抗体の中和活性能の検討を行っている。カニクイサルを使用してのキトサン微粒子およびカチオン化キトサンとOVAを用いた経鼻投与実験では、血中にOVA特異的抗体を検出すると共に血液生化学的な異常は検出されなかった。現在さらに詳細な検討を行っている。

特許出願

①特願2007-192362「免疫アジュバント」平成19年7月24日出願

②特願2007-192363「免疫アジュバント」平成19年7月24日出願

③特願2007-192364「IgA抗体検出法」平成19年7月24日出

願

[石川晃一、小林丘、福島健司]

Ⅱ．HIV 感染症の治療と薬剤耐性に関する研究

1．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

一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、昨年度より超高感度遺伝子学的薬剤耐性検査法開発を行っている。その結果、K103N遺伝子とM184V遺伝子を検出できる系が確立された。本系では、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。今年度は数%以上存在するD67N耐性遺伝子を検出する系を新たに開発した。本系により、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。しかしながら、本系は耐性あるいは感受性コントロールの品質に依存する事が確認された。すなわち、この弱点を考慮しつつ、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]

2．酵素活性を指標としたあたらしい HIV プロテアーゼ薬剤耐性検査法の開発

薬剤耐性HIV検査は新規感染者および長期療養患者に対する適切な治療を行う上で欠かせない検査と位置づけられている。しかしながら、現時点では実際の酵素活性を指標とした簡便かつ実用的な薬剤耐性検査法は確立されていない。我々は、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成システムと化学増幅型ルミネッセンス プロキシミティー ホモジニアスアッセイ（アルファスクリーン）を用いて、プロテアーゼタンパク質の活性を根拠としたあたらしい薬剤耐性検査の基盤技術を開発した。この手法は、薬剤耐性患者血清中HIV-1プロテアーゼ遺伝子をPCR法で増幅し、2nd PCR時に転写開始領域、エンハンサー領域、および3'UTR領域を付加するだけで、鋳型遺伝子の準備が可能となり、発現ベクターへのサブクローニング操作をまったく必要としない。これらから384種類のタンパク質を一晩で自動で生産できる自動タンパク質合成ロボットを用いタンパク質を合成後、その384ウェルプレートをそのまま用いて、アルファスクリーンにより酵素活性をハイスループットで測定することが可能である。この方法はGenotype法とPhenotype法を結ぶタンパク質レベルの薬剤耐性検査法として位置づけられ、短期間で安価に適切な薬剤情報を提供できるため、今後の実用化が見込まれている。

[正岡崇志(愛媛大学)、梁 明秀、杉浦 亙、巽 正志、澤崎達也(愛媛大学)、山本直樹]

3. 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 検査を実施してきた。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きた。平成１8 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 20 年 3 月の時点で累積 7897 検体に達している。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、平成 19 年度とも保険収載前と比較して大幅に減少した。保険収載により検査へのアクセスが容易になったのとは反対に薬剤耐性 HIV の遺伝子情報の収集は困難となり、事実、平成 18 年度は情報が欠落してしまった。この点を補うために平成 19 年度より新たにアンケート調査を主体とする情報収集を開始し、わが国における薬剤耐性 HIV の状況把握を開始した。平成 19 年度は各地の拠点病院等における抗 HIV 療法の現状と薬剤耐性に関連するアンケート調査を実施した。その結果合計 133 例の薬剤耐性症例が報告された。またこれとは別に HIV/AIDS 治療患者の多い医療機関 25 施設に対してアンケートによる調査を実施した。その結果 16 施設より回答があり、多剤耐性症例 40 例が報告された。

[杉浦 亙、宮崎菜穂子、三浦秀佳、鈴木寿子、藤野真之、山本直樹、松田昌和（三菱化学）]

4．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 2007 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、サブタイピングでは *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：07 年 508 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%、2007 年：7.7%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%、07 年 4.7%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%、07 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%、07 年 2.6%であった。

[藤野真之、鈴木寿子、三浦秀佳、西澤雅子、山本直樹、杉浦 亙、松田昌和（三菱化学）]

5. 細胞内におけるプロテアーゼ阻害剤の薬剤濃度のモニタリング

薬剤感受性検査に利用されるレポータ細胞には HIV の宿主細胞の T 細胞系細胞株と非宿主である間質細胞系株があるが、これらの細胞内における薬物代謝および細胞内 PI 濃度の違いは明らかではない。そこで我々は T 細胞系細胞株である HPB-M(a)と CEM、代表的な間質細胞系株 HeLa 細胞の細胞内 PI 濃度を HPLC で測定し比較した。Nelfinavir(NFV)、saquinavir(SQV)、lopinvaire(LPV)、ritonavir(RTV)で検討した結果、NFV と SQV は T 細胞系で約 100～70 倍、HeLa 細胞では約 200 倍に濃縮された。LPV は T 細胞系で約 10 倍、HeLa 細胞で約 40 倍、RTV は T 細胞系と HeLa 細胞で約 10 倍濃縮された。37℃と 4℃で細胞内 PI 濃度を比較した結果、SQV 濃度は低温下で低下し、能動的な輸送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（慶應義塾大学）]

6. 新規抗 HIV 薬の開発に関する研究

既存の抗 HIV 薬に対して耐性を獲得した症例に対して有効な新規薬剤の開発に取り組んでいる。本研究では我々が開発したレポータ細胞を用いて、抗 HIV 活性を指標に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。20000 個以上の化合物のスクリーニングを終了し、新規な機序により HIV の複製を抑制す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合成し、抗 HIV 活性の増強および毒性の軽減を試みた。その結果、IC_{50} が既存の薬と同程度もしくは増強した化合物に合成に成功した。Hu-PBL-SCID を用いた抗ウイルス効果の確認では nevirapine と同程度の阻害活性が確認された。現在前臨床試験としての長期毒性評価など実用化に向けた in vivo 実験を実施している。

[三浦秀佳、岩谷靖雅、西澤雅子、村田大悟、杉浦 亙、田中晴雄（北里大学）、野村伸彦（富山化学）]

7. CRF01_AE（サブタイプ E）HIV-1 ウイルスのプロテアーゼの結晶構造解析と数理モデル解析

従来の薬剤耐性研究はサブタイプＢを中心に行われてきが、これにより得られてきた薬剤耐性に関する知見がそのまま non-B サブタイプにも当てはめることができるのか明確ではない。我々はいままでに 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った。このうちの NH1-D25N については p1-p6 ペプチドを結合させた状態での結晶構造が得られた。その結果プロテアーゼの外側領域の側鎖が分子シミュレーションの予測とはこのなる位置関係にあることが明らかになった。活性のあるプロテアーゼの作製・生成。結晶化にも成功をしており、今後幾つかの阻害剤との結晶化を進めていく予定である。

[柿澤淳子、杉浦 亙、松田昌和（三菱化学）、大出裕高（千葉大学）、松山 翔（千葉大学）、星野忠次（千葉大学）、Celia Schiffer（Univ. Massachusetts）]

8. タイ流行株 HIV-1（CRF01_AE）における薬剤耐性変異獲得機序に関する研究

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。我々は、タイ流行株の GPOvir 耐性変異頻度に関するデータをタイ国 NIH と共同で平成 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 Gag, protease、RT 全域の遺伝子配列解析を行い、薬剤耐性遺伝子の獲得パターンについて解析を行った。対象症例中には初回治療症例だけでなく過去に NRTI 単剤投与などの治療履歴をもつ既治療症例が含まれていたが、既知症例では初回治療症例に比して高い頻度で耐性変異が観察された。

[シリパン・センアローン(タイ国立衛生研究所)、ワタナ・オウワニット(タイ国立衛生研究所)、パニータ・パチバニッチ(ランパン病院)、吉田レイミント(長崎大学熱帯医学研究所)、有吉紅也(長崎大学熱帯医学研究所)、松田昌和(三菱化学)、杉浦 亙]

9．定量 PCR を利用した高感度薬剤耐性検査法の開発

米国疾病対策局(CDC)では定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法が開発されている。これは米国で流行の主流である Subtype B のみが検査対象となっているため、日本で 2 番目に頻度の高い CRF01_AE を対象とした高感度薬剤耐性検査の開発を試みた。日本で高い頻度で認められる逆転写酵素阻害剤耐性変異である M41L、K65R、D67N、K70R、K103N、Y181C、M184V、T215Y/F を対象として Primer の設計と検討を行い、現在 M41L と K70R について検査法を確立した。現在 K65R、M184V、K103N、T215Y/F について Primer の改良など検査法の検討を行っている。

[西澤雅子、山本直樹、杉浦 亙、Jeffery Johnson(米国疾病対策局), Jonathan Lipscomb(米国疾病対策局), Jin-Fen Li(米国疾病対策局), Xierong Wei, Walid Heneine(米国疾病対策局)]

10．限界希釈法によるクローニング手法を用いた薬剤耐性 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（共進化）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リングし、Gag 全域とプロエアーゼ約 3.0Kb を限界希釈法を応用した 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。その結果、GagP453L とプロテアーゼ E35D、E35D とプロテアーゼ D30N/N88D の間に強い関連が示唆された。観察された変異を組み込んだリコンビナント・ウイルスを複数種作成し、そのウイルス学的意義について解析を行った。その結果、これらの変異が共在することでウイルスの複製が高まることが確認された。

[杉浦 亙、松田昌和(三菱化学)、柿澤淳子、田中 博(東京医科歯科大学)、任 鳳蓉(東京医科歯科大学)、柴田潤子(東京医科歯科大学)]

11．抗 Vpr 抗体の評価と臨床応用に向けた研究開発

オリエンタル酵母工業株式会社で開発された抗 Vpr 抗体の Vpr への反応性を検討し、特異的に Vpr を認識するマウスモノクローナルとウサギ抗血清をスクリーニングした。また Vpr への特異性は低いが細胞内で Vpr と同様の核膜局在を示す蛋白を認識するマウスモノクローナル抗体を見出し、この抗体が核膜タンパクの一つを特異的に認識することを免疫沈降法で確認した。この核膜タンパクと Vpr の機能の類似性については、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・抗血清を用いた ELISA の測定系を開発し患者血漿中の Vpr の測定を行い感度や特異性について検討している。

[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)]

12．既存の治療薬がインテグラーゼに及ぼす影響について

新たに登場した新規薬剤インテグラーゼ(IN)阻害剤の導入にあたり、既存の抗 HIV 薬剤に対して薬剤耐性を獲得した症例への有効性を確認・評価を試みた。プロテアーゼ阻害剤や逆転写酵素阻害剤の投与がインテグラーゼ分子に及ぼす影響について検討するために多剤耐性変異を獲得した症例を選び、遺伝子配列解析を行った。薬剤耐性症例 93(サブタイプ B：64, AE：29)、未治療症例 48(サブタイプ B：40,AE：8)の解析を行った結果、薬剤耐性症例の方にインテグラーゼ領域の変異が集積している傾向が見られた。またサブタイプＢの薬剤耐性症例２例にＩＮ阻害剤ラルテグラビルによる耐性変異 E157Q が観察された。しかしその薬剤耐性のレベルは低くラルテグラビルの有効性に影響は無いものと考えられた。

[鈴木寿子、厳驊、藤野真之、西澤雅子、岩谷靖雅、杉浦亙、松田昌和(三菱化学)]

13．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

薬剤耐性遺伝子検査において既存 PI に対し、抵抗性を示す HIV 臨床分離株に対する darunavir(DRV)、atazanavir(ATV)、lopinvir(LPV)、amprenavir(APV)の有効性についての評価を試みた。多数の薬剤耐性変異の集積が認められた HIV 感染者から HIV の分離を実施した後、薬剤感受性検査を行った。分離されたウイルスは、Gag 領域に PI 耐性に伴って生じる変異を有していた。感受性検査の結果と遺伝子検査による耐性の評価は正の相関を示した。分離した 21 株のウイルスで>2 倍、2-5 倍、5-25 倍、25 倍以上の耐性を示した株は ATV で 4、1、5、11 株、LPV で 5、2、3、11 株、APV で 6、2、9、4 株そして DRV では 12、8、1、0 株であった。ATV、LPV、APV に対して 5 倍以上の耐性を示した臨床分離株の 56%、64%、75%は 5 倍未満、38%、29%、23%は 2 倍未満の耐性を DRV に対して示した。上記より、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、鈴木寿子、三浦秀佳、西澤雅子、杉浦 亙]

14．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

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。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。中でも5-Nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl esterが酵素活性阻害の中心的役割を果たす事が推測された。この作用機序は、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。また、細胞培養レベルでの抗HIV-1活性が検出された。電算機を利用した立体構造解析をもとに、これ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を開発中である。

[駒野　淳、浦野恵美子、二橋悠子、藤　秀義(千葉大学)、星野忠次(千葉大学)、山本直樹]

15．In vitro免疫法を用いた完全ヒトモノクローナル抗体産生細胞樹立の高効率化技術の確立

エイズ治療と予防のための抗体医薬の創製のため、有用なモノクローナル抗体産生能力を有するヒト末梢血由来B細胞株の樹立効率を増大させるための技術開発を行った。in vitro immunization法およびsystematic oligoclonal propagation法の併用によるB細胞株の樹立効率を評価した。本法によるB細胞株樹立効率は高く、有用な抗体産生細胞を高い確立で樹立することが出来たが、持続的な抗体産生能を維持することが困難であるという問題点が指摘された。抗体は本来生体分子であるため、マイクロビサイド、受動免疫による感染予防、薬剤耐性ウイルスに対するサルベージ療法としても迅速な臨床応用が期待できる。

[駒野　淳、浦野恵美子、濱武牧子、清水則夫(東京医科歯科大学)、山本直樹]

16．HIV-1 receptor CXCR4 のリガンド非依存性 internalizationの制御機構に関する研究

HIV-1 receptorの一つであるCXCR4の機能・発現制御を分子レベルで理解することはHIV-1複製をコントロールするための方策を与える。我々はCXCR4のC末端細胞質ドメインにSDF-1alpha非依存的endocytosisを起こすアミノ酸モチーフがあることを発見し、それが３つのアミノ酸からなるSESモチーフであることを同定した。これはSDF-1alpha依存的endocytosisを起こすシグナルモチーフとは遺伝的に異なるものであった。両者のプロセスの分子機序について比較したところ、後者に必要と考えられるbeta-arrestinは前者に影響を与えないことが判明した。ウイルスレセプターの細胞表面発現を制御する事によりエイズ治療薬を開発しようとする創薬アプローチの基礎的知見を与えることが期待される。

[駒野　淳、浦野恵美子、二橋悠子、青木　徹、濱武牧子、松田善衛、山本直樹]

17．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-3955 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-3955 は、１）CXCR4 に特異的に結合し、SDF-1αの結合を強力に阻害した。２）それ自身ではシグナルを入れないレセプターアンタゴニストとして作用した。３）CXCR4 の ECL1、 2、3 に対する mAb の結合を阻害したが、N 末端を認識する抗体の結合には影響を与えなかった。４）臨床分離株、既存の抗 HIV 剤耐性株の X4 HIV-1 に対して強力な抗ウイルス活性を示した（EC_{50}: ～1 nM）。で変異型 CXCR4 発現細胞を用

いた実験から KRH-3955 と相互作用する CXCR4 のアミノ酸は、His281 と推定され、AMD3100 で報告のある Asp171、Asp262、 Asp288 の変異は薬剤と CXCR4 との相互作用に影響を与えなかった。KRH-3955 をラットに 10 mg/kg で経口投与したときの bioavailability は 26%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-3955 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。なお、現在 KRH-3955, 3148 に対する耐性ウイルスの誘導実験を開始しており、耐性ウイルスが取得でき次第その解析を行う予定である。

[村上　努、浜武牧子、駒野　淳、田中勇悦(琉球大学)、田中礼子(琉球大学)、大隈　和(琉球大学)、熊倉　成(クレハ)、枝松剛生(クレハ)、谷中幹郎(クレハ)、前田洋助（熊本大学)、山本直樹]

18. HIV-1 マトリックスタンパク質（MA）を標的としたペプチド阻害剤の開発

HIV を標的とする薬剤の基礎研究においてカプシドやマトリックスが標的の１つとして注目され、その部分ペプチドの一部が抗ウイルス活性を示すことが報告されている。しかし、ペプチドが細胞内に導入されているかどうかの検討はなされておらず、上記の抗ウイルス活性の作用機序についても十分解析されていない。そこで、細胞透過性を付加した HIV-1MA の部分ペプチドライブラリを合成し、抗ウイルス活性を有する部分ペプチドのスクリーニングを行った。今年度は、また、スクリーニングより見出されたペプチドをリードとして誘導体を設計し、抗 HIV 活性を有する非ペプチド性化合物の創出を試みる。MA の配列(１３２aa)の N 末端から 5 残基ずつオーバーラップさせた１５mer の部分ペプチドライブラリを合成し、細胞内に導入するため N 末端に Octa-Arg を連結したものを作製し、NL4-3/MT-4 の MTT アッセイによって部分ペプチドの抗ウイルス活性を評価した。Octa-Arg を連結した部分ペプチドのいくつかは抗 HIV-1 活性を示したが、Octa-Arg を連結しないものはいずれも 50 uM でほとんど抗ウイルス活性を示さなかった。今後は、今回抗 HIV-1 活性を示したペプチドについて R5HIV-1 の複製も阻害するか否かの検討などを行う予定である。

[村上　努、堤　浩(東京医科歯科大学)、仙田　唯(東京医科歯科大学)、玉村啓和(東京医科歯科大学)、山本直樹]

Ⅲ．HIV の分子疫学ならびにウイルス学的研究

1．中国型 HIV-1 組換え型流行株(CRF07_BC, CRF08_BC)の東アジアにおける流行拡大の年代推定

CRF07_BC, CRF08_BC は、それぞれ中国北西部（新疆ウイグル自治区）および東南部（広西チワン族自治区）の注射薬物乱用者 (IDU) の間の流行株として同定された。われわれは、これら流行株の各地域への播種の時間スケールを明らかにするために、最新のデータ解析プログラム（BEAST）を用いて解析を進めた。その結果、CRF07_BC, CRF08_BC の共通の祖先株は、雲南省に生まれ、90 年代初頭から半ばにかけて、後者が中国東南部へ、前者は中国北西部に播種したと推定された。CRF07_BC は、1990 年代後半には、おそらく中国沿海部地域を経由して、台湾南部の IDU 集団に播種し、さらに、2000 年代初頭 (2001-2003) には、台湾中・北部に拡大して、台湾の IDU 間に未曾有の大流行を引き起こしたと推定された。またデータ解析の結果は、CRF08_BC が CRF07_BC の前駆体である可能性を示唆する。これらの知見は CRF07_BC, CRF08_BC の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。

［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), Xiao-Jie Li (上海交通大学)］

2．我が国における CRF01_AE 感染クラスター

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、それについで、東南アジアに起源をもつ CRF01_AE が全体の約 10-20%前後を占める。ところが、我が国中央地域には、CRF01_AE が、全体の 80%以上を占める重積地点があることが明らかとなった。感染は異性間性感染ルートによる。一方、我が国の大都市圏では MSM 感染者が 70-80%と極めて大きな割合を占め、分布する遺伝子型もサブタイプ B が主体で、際立った違いがある。これらの知見は、我が国における HIV-1 感染症の広がりは一様ではなく、地域差、風土差を考慮した対策の必要性を示すものである。

［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:須坂病院　斎藤　博)］

3. マレーシアにおける第２の組換え型流行株候補の同定

われわれは、先に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 となったが、さらに、マレーシア東部沿海地域の IDU に流布する流行株の解析の結果、新しいタイプの組換え型流行株 (CRF) 候補を同定した。この新しい CRF 候補株も CRF33_01B と同様、CRF01_AE とサブタイプ B からなるもので、解析途上であるが、相互に近縁であるが異なる組み換え構造をもつことが推定された。現在、全塩基配列決定による組換え構造の詳細な解析が進行中である。

［Kok Keng Tee、廖　華南、上西理恵、長谷彩希、Xiaojie Li、納富香子、草川　茂、武部　豊、Adeeba Kamarulzamen.（マラヤ大学)］

4. ベトナムにおける CRF01_AE 流行拡大の年代決定

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。ベトナムでは、1990 年代に入って、HIV-1 CRF01_AE の流行が始まった。当初南ベトナムの注射薬物乱用者 (IDU) と売春婦の間で流行が始まり、ついで 90 年代半ばにはベトナム北部の IDU での流行が始まった。ベトナムにおける CRF01_AE 伝播の時間的･空間的なダイナミックスを解明するため、最新のデータ解析技術（BEAST v1.4.2）を用いて解析を行った。その結果、 ベトナムにおける CRF01_AE 株はタイや我が国に分布するものとは異なるクラスターを形成していること。またベトナムに流布するウイルス株は、南部の性感染者（クラスター１)、南部の IDU（クラスター２)と北部および隣接する中国 Guangxi の IDU に分布するクラスタ-３の３つ区別され、クラスタ- 1, 2, 3 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、ベトナムにおける HIV-1 伝播が、南部の性感染のハイリスクグループ→南部 IDU →北部および隣接する中国 Guangxi の IDU へと、CRF01 AE 株流行の拡大ルートとその年代をはじめて明らかにするものと考えられる。

［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)］

5. 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 感染症例の同定と同 HIV-2 分離株のほぼ完全長塩基配列の決定

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、ほぼ完全長の HIV-2 塩基配列を決定した。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。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。しかし、現在までのところ、塩基配列上での特別な特徴は見出されていない。

［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（聖隷横浜病院)、永川博康（聖隷横浜病院)］

6. 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それらを比較するため、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、解析を進めている。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]

7. 名古屋で検出されたユニークサブタイプB HIV-1

名古屋医療センター・臨床研究センターでは、名古屋地域に伝播している HIV-1 のサブタイプを明らかにするため、遺伝子型薬剤耐性検査と同時にサブタイプの判定を行っている。同センターでは、2003 年から 2006 年にわたり、組換え型流行株以外に 14 例のリコンビナント HIV-1 と思われる検体を検出している。このうち、5 例検出されたユニークサブタイプ B HIV-1 の遺伝子組み換え構造の解析を行った。ユニークサブタイプ B HIV-1 のほぼ完全長プロウイルス配列を決定し、bootscanning analysis および similarity plot analysis（ソフトウェア SimPlot version 2.5）、RIP を用いて組み換え構造を解析した。これらの方法で矛盾が生じた遺伝子領域に関しては、Phylogenetic network analysis (ソフトウェア SplitTree)を用いた。対象にした 5 例の HIV-1 は遺伝子構造上ほぼ同一のウイルスであった。サブタイプ D と組み換えが起きていた遺伝子領域は以下のとおりである： p17 遺伝子領域で 1 箇所、p24 遺伝子領域で 1 箇所、RNase 遺伝子領域で 1 箇所、integrase 遺伝子領域で 2 箇所、vif 遺伝子領域で 1 箇所、vpr 遺伝子領域で 1 箇所、vpu 遺伝子領域で 1 箇所、gp120 遺伝子領域で 1 箇所。サブタイプを特定できなかった短い 4 領域が存在したが、このユニークサブタイプ B HIV-1 は B/D リコンビナント HIV-1 であると思われる。

［椎野禎一郎、藤崎誠一郎（名古屋医療センター臨床研究センター）、金田次弘（名古屋医療センター臨床研究センター）］

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．中国南西部における主要な HIV-1 流行株の感染性分子クローンの樹立

中国南西部における地域特異的な HIV-1 流行株の研究の基盤を構築する目的で、中国雲南省において収集した臨床検体から分離したウイルスを材料として、中国南西部における２種類の主要な流行株の感染性分子クローンを樹立した。それぞれの全塩基配列を決定し、そのサブタイプ/CRF の同定を行ったところ、HH043 は、そのサブタイプ間組み換え構造の解析から CRF07_BC と同定された。DH002 は、その系統解析の結果からサブタイプ B' (アジア型サブタイプ B) と同定された。いずれのクローンもトランスフェクションによってこれまでに樹立されてきた感染性分子クローンと同等な量のウイルスが産生され、産生されたウイルスは PHA 刺激 PBMC に感染性を有していた。また NP2/CD4/CXCR4 および /CCR5 細胞での増殖とシンシチウム形成を指標にコレセプター使用能を調べたところ、いずれも CCR5 を使用する R5 ウイルスであった。すでに樹立した CRF01_AE、CRF08_BC のクローンと合わせ、中国南西部における主要な流行株の感染性分子クローンが樹立できた。

[草川　茂、保科　佳美]

2. 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分子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分子クローンを樹立することが可能になった。本年度は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、日赤から感染研 HIV パネル作成のため提供を受けた献血陽性検体及び BBI 社より購入した HIV Subtype Infectivity Panel (PRD320)由来ウイルスに応用し総計 577 個の感染性分子クローンを樹立し、その内 41 個のクローンについて全ゲノム塩基配列を決定した。

⑴ PCR 酵素選別による感染性クローン樹立の効率化

「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、より効率化を図るため引続き市販されている High Fidelity, High Proccessivity, High Yield の PCR 酵素数種類を比較検討している。本年度は新たに市販された Takara の PrimeSTAR GXL と Toyobo の KOD FX PCR DNA polymerase を現在までの当室での標準酵素である Roche 社の Pwo Master を用いた場合と感

染性クローン樹立効率を比較したところ、Pwo Mater によって増幅できない鋳型でも Takara PrimeSTAR GXL により効率的に感染性分子クローンが得られるウイルスが多いことが判明した。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期待される。
[竹川奈穂、武田　哲、巽　正志]

⑵ In-Fusion 酵素による One-Step HIV-1 Cloning 戦略の試み

当室では現在 HIV-1 ゲノムを上流、下流に区分し One Cut 制限酵素サイトを含む Primer で増幅した後繋ぎ合わせる Half & Half 戦略による「HIV Trapping System」を用いて感染性分子クローンを樹立している。現在主要な subtype/CRF のクローンが整備されたことから、より効率的な樹立法を確立するため制限酵素による繋ぎ合わせを必要としない方法論として Vaccinia Virus 由来の相同組換え酵素を用いた系の感染性分子クローン作成への応用を試みた。この酵素は Vector と組込む Insert に 15 塩基の相同性を認識して末端同士を結合する。HIV-1 の PBS 領域と 3'LTR の PolyA Signal 下流領域の塩基配列は多くの HIV-1 Group M で保存されている。これらの特徴を利用して求める HIV-1 の subtype/CRF が判明すれば、現在まで作成した感染性分子クローンから同じ subtype/CRF のクローンを選別し、Vector 側を pMT1/pMT4 の Not I サイト側を含む Primer と PBS 側で 5'LTR を含む Vector 片を用意し、標的の HIV-1 プロウィルスを 15 塩基配列が重複した PBS 領域配列と PolyA 下流領域と Vector Not I サイト領域を含んだ Primer Set で増幅し、両者を相同組換え酵素存在下で反応させる事で全長 HIV-1 クローンを樹立する方法論である。現在日赤検体由来ウイルス２株にこの戦略を応用して感染性分子クローンが得られているが、その樹立効率は実用にはまだ低い。今後さらに Primer 設計などの実験条件を精査し、実用化を目指す。
[竹川奈穂、巽　正志]

⑶ 邦人感染者由来薬剤耐性ウイルス subtype B 感染性分子クローンの樹立と解析

昨年度まで本邦で流行している主要なウイルス株である HIV-1 subtype B と CRF01_AE 組換体の Naïve ウイルス由来感染性分子クローンの標準株を整備した。本年度は様々な薬剤耐性プロファイルを呈する耐性ウイルスの感染性分子クローンを整備する目的で、治療中の患者由来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３株(DR5913, DR6174, DR6175)から総計 89 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 6 クローンの全ウィルスゲノム塩基配列を決定し、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薬剤耐性 subtype B の解析と耐性試験標準化に有用であることが期待される。
[竹川奈穂、西澤雅子、杉浦　亙、巽　正志]

⑷ 日赤献血由来陽性検体からのウイルス分離と感染性分子クローンの樹立

国内感染者由来検体からなる感染研 HIV パネル整備の為、日赤より提供を受けた HIV 陽性献血検体から磁気粒子と MAGIC-5 細胞株を用いてウイルス分離を試みたところ、84 検体中 7 検体からウイルスが分離された。７検体のうち６検体は subtype B で１検体が CRF01AE であった。このうち subtype B の３検体は subtype B のなかで特異なクラスターに属する検体であった。これらの分離ウイルスから「HIV Trapping System」により総計 124 クローンの感染性分子クローンを樹立し、その内 14 クローンについて全ゲノム塩基配列を決定した。これらのクローンは今後献血行政における国内陽性検体対策立案に有用な情報を提供するものと期待される。
[竹川奈穂、巽　正志]

⑸ 未だ整備されていない subtype/CRF HIV 感染性分子クローンの樹立と解析

これまで当室では国内で流通する HIV 感染診断キットの性能試験に資するため、著しい多様性を呈する HIV-1 グループ M の様々な subtype/CRF ウイルスの感染性分子クローンを整備してきた。国内外で流行する主要な subtype/CRF ウイルスに関しては薬剤耐性ウイルスも含めて複数クローンの樹立が成功しほぼ整備出来た状況であるが、国際交流が益々盛んになるにつれて現在では流行する HIV-1 ウイルスに国境はないものと考えられる。そこで未だ整備されていない subtype/CRF ウイルスの感染性分子クローンを樹立するため、欧米先進国において subtype/CRF の標準株として HIV 感染診断キットの性能試験に頻繁に用いられているウイルスを含む Boston Biomedica Inc.の HIV Subtype Infectivity Panel PRD320 を購入し、未だ整備されていない subtype/CRF と欧米で標準株として用いられているウイルス由来の感染性分子クローンパネルを整備することを開始した。現時点で新たに subtype D ２株、subtype F ２株、subtype G ２株、

グループＯ２株及びHIV-2　１株の感染性分子クローンを樹立し、全ゲノムの塩基配列決定により、その帰属を確認した。引続き残りの subtype/CRF のクローンを樹立する予定である。
[竹川奈穂、武田　哲、巽　正志]

Ⅴ．HIV ライフサイクルと宿主因子の研究

1. HIV Gag タンパク質の細胞内輸送および安定性を制御する宿主因子の同定

我々は HIV 感染宿主細胞の細胞内免疫反応とその関連因子の同定を行なうため、Serial Analysis of Gene Expression(SAGE)法を用いて、HIV 感染特異的に誘導される宿主遺伝子および遺伝子産物の同定を行なった。その結果、サイトカインシグナル抑制因子である SOCS1 がHIV感染T細胞において特異的にその発現が誘導されることを見出した。SOCS1 は HIV Gag タンパク質と複合体を形成し、Gag タンパク質の細胞内輸送と感染性ウイルス粒子の形成に重要な役割を果たすことが明らかになった。また siRNA を用いて SOCS1 を特異的に阻害すると、感染性ウイルス粒子の形成が顕著の抑制された。これらの結果は SOCS1 が HIV Gag の細胞内輸送に重要な役割を果たすことを示すとともに、SOCS1 を標的とした新規の HIV/AIDS 薬の有効性を示唆するものである（Ryo et al., PNAS, 2008）。
[梁　明秀、西真由子、大庭賢二、駒野淳、鶴谷直美(北里大学北里生命科学研究所)、森川裕子(北里大学北里生命科学研究所)、山本直樹]

2．濾胞樹状細胞(FDCs)と HIV-1 感染細胞の P-selectin/PSGL-1 分子を介した細胞-細胞間直接的相互作用による HIV-1 複製刺激機構

HIV の感染中枢であるリンパ節に多く存在する FDC は、HIV-1 感染時その表面に感染性をもったウイルス粒子を長期間捕捉し、感染を拡大させることが知られているが、ウイルス複製に関する作用は不明であった。そこで我々はFDCのHIV-1感染時における他の作用を解析することを試みた。FDCs を各種 HIV 慢性感染細胞株および感染末梢血単核球細胞(PBMCs)と共培養すると HIV-1 のウイルス産生が顕著に増加した。この作用は P-selectin/PSGL-1 分子を介した細胞-細胞間相互作用によるものであった。PSGL-1 の細胞内ドメインと相互作用するチロシンキナーゼ Syk の活性化が認められ、Syk の特異的阻害剤の処理により、HIV-1 の産生は有意に抑制された。これらの結果は、FDC による細胞-細胞間分子相互作用が直接的に感染細胞におけるウイルス増殖を促進することを示すと同時にその詳細な分子機構を明らかにした。このことにより、これらを分子標的とした新たな治療法開発の可能性が示唆された。
[大庭賢二、西真由子、添田浩美、寺嶋一夫(東京医科歯科大学)、梁 明秀、山本直樹]

3．P-TEFb(CyclinT/CDK9 複合体)の活性化を抑制する宿主因子 HEXIM1 による HIV-1 複製制御

Tat依存的な転写はHIV-1の複製を制御する治療の標的のひとつになると考えられている。HEXIM1は7SKsnRNAとともにP-TEFbに結合し、その-機能を抑制することが明らかとなった。そこで我々はP-TEFbの宿主由来の阻害因子であるHEXIM１が培養細胞においてHIV-1の複製にどのような影響を与えるのかを検討した。その結果、HEXIM1はHIV-1の複製を負に制御する宿主因子であり、エイズ治療において新規の標的となるかもしれないことが明らかとなった。
[清水佐紀、浦野恵美子、二橋悠子、濱武牧子、武部　豊、山本直樹、駒野　淳]

4．ミリストイル化非依存的なHIV-1 Gagのvirus-like particle産生と感染能の解析

レトロウイルスGagタンパク質のミリストイル化がGagの細胞膜targeting・Gag集合・細胞表面への輸送・budding・感染初期過程に与える影響を検証した。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細胞膜移行シグナル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、感染能等を解析した。その結果、ミリストイル化はGagのほぼ全ての機能に関して膜タンパク質と交換可能であることが判明した。ウイルスベクターの改良等に有用な知見であると考えられる。
[青木　徹、浦野恵美子、二橋悠子、濱武牧子、清水佐紀、寺島一夫(東京医科歯科大学)、村上　努、玉村啓和(東京医科歯科大学)、松田善衛、山本直樹、駒野　淳]

5．HIV-1複製後期過程に関与する宿主因子の解析

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のHIV-1複製における役割について検証・検討を行った。TIP47過剰発現によるHIV-1 Envのウイルス粒子への取込み量の増加は、細胞内Envレベルの増加の結果をみている可能性が示唆された。一方、siRNAを用いた内因性TIP47のノックダウン実験の結果は、TIP47はEnvのウイルス粒子への取込みというよりウ

イルスの細胞外への放出効率へ関与している可能性が示唆された。また、我々がHIV-1 GagまたはEnv存在下でTIP47と共沈するタンパク質として同定したactin-based motor proteinであるMyH9についてsiRNAを用いた内因性MyH9のノックダウン実験を行ったが、Envのウイルス粒子への取込みやウイルス放出効率への関与は認められなかった。現在は、主にGagの細胞内輸送やウイルス放出効率への関与を指標として小胞輸送に関与する一群のタンパク質であるRabタンパク質について検討を加えている。

[宮川　敬、村上　努、駒野　淳、佐野麻衣子、大崎雄樹（名古屋大学)、藤本豊士（名古屋大学)、福田光則（東北大学)、梁　明秀、山本直樹]

6．アポトーシス誘導因子 Daxx の分解機構の解明

Fas結合タンパク質Daxxは酸化ストレスなどの種々のアポトーシスシグナルの活性化に寄与しており、AIDS/HIV の領域では HIVGag と直接的に相互作用することによりウイルス複製や細胞死に関与することが示唆されている。今回我々は、Daxx を負に制御してアポトーシスを抑制する因子としてペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1 を同定した。Pin1 は Daxx の 178 番目のセリン残基にリン酸化特異的に結合し、Daxx のユビキチン-プロテアソーム系を介した分解を速やかに誘導する。Pin1 の発現の高い悪性膠芽腫細胞では、in vitro および in vivo の両方において、Daxx の発現が顕著に低下し、Fas リガンド刺激や酸化ストレスに対するアポトーシス抵抗性を示した。以上の結果より Pin1 はガン細胞や HIV 感染細胞におけるアポトーシス抵抗性に関与する可能性が示唆された（Ryo et al., JBC, 2007)。

[梁　明秀、西真由子、山本直樹]

7．HIV-1 の宿主細胞である CD4 陽性 T 細胞のアポトーシスのメカニズム：OX40/OX40L 系の関与

HIV-1 感染症では、宿主である CD4 陽性 T 細胞が細胞死（アポトーシス）を起こし、その数が激減するが、その細胞死のメカニズムについては未だ不明な点が多い。我々は活性化T細胞マーカーのひとつであるTNFレセプターファミリー分子OX40を強制発現させたCD4陽性T細胞株の中に、OX40L 刺激により 10 時間以内に細胞死を引き起こすものを発見した。そこでこの OX40/OX40L 系の新たな機能、「細胞死誘導」のメカニズムについて調べた。Fas/FasL、DR/TRAIL や TNF-R/TNF 等が、間接的に OX40/OX40L による細胞死に関与している可能性があるため、様々な中和抗体を作用させてみたところ、抗TNF 中和抗体によりこの細胞死が強く抑制された。またOX40L で刺激されたこの T 細胞株は数時間以内に TNF を誘導することもわかった。以上の結果から、OX40/OX40L 系は TNF-R/TNF 系を介して T 細胞死にも関与することが示唆された。

[高橋良明、田中勇悦（琉球大学)、田中礼子（琉球大学)、山本直樹]

8．HIV-1 アクセサリータンパク質 Nef と Hck による NF-κB の活性化機構の解明

HIV-1 のアクセサリータンパク質 Nef は感染細胞における CD4 のダウンレギュレーションに関与することで AIDS/HIV 感染症の病態において重要な役割を果たす。一方で各種のシグナル伝達系を活性化させることにより、HIV の複製を制御することが知られている。今回我々は Nef が Src キナーゼファミリーの Hck と結合し、活性化させることにより、Hck のｐ65/RelA のリン酸化と NF-κB シグナルの定常的活性化に寄与することを明らかにした。Hck は Nef の存在下のみにおいて p65 と結合し、濃度依存的に NF-κB を活性化させる。逆に不活性型の Hck ではこれらの機能を抑制する。Nef と Hck を細胞に共発現させると、p65 のチロシン残基のリン酸化の度合いが顕著に増加していた。またこの現象は Hck の siRNA により完全にブロックされた。以上の結果より、Nef は宿主チロシンキナーゼ Hck と機能的に相互作用することにより、NF-κB シグナルを活性化し、HIV の複製を正に制御する。

[Jeong Soo-Jin, 梁 明秀、山本直樹]

Ⅵ．HIV 感染動物モデルの開発に関する研究

1．サル・エイズモデルを用いた抗HIV候補薬のスクリーニング

これまでにいくつかのサル・エイズモデルを確立してきた。しかしながら、ヒト/HIV感染症の動物モデルとして理想的なモデルは未だ確立されていない。そのため理想的なモデルを目指していくつかの候補モデル開発を試行している。これまで実験終了後は安楽殺処分していたが、動物の有効利用の観点から、処分直前の感染サルを用いて治療候補薬剤のスクリーニングを始めている。今年度は２種の薬剤について、計６頭の感染サルを用いて評価を行った。その結果ひとつの薬剤については、治療ではなく感染予防内服剤としての可能性が示唆された。今後の検討が必要である。

[仲宗根正、楊 栄閣(中国科学院武漢ウイルス研究所)、村上 努、山本直樹]

2．Cell-associated virus経粘膜感染によるサル・エイズモデル開発（ウィ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。一昨年度確立した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を行っている。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。今年度、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、さらにはfree virus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検討した。その結果、２頭のサルは、いずれの攻撃接種に対してもほぼ完全に防御した。現在、その防御免疫について解析中である。

[仲宗根正、兼清 優、吉野直人、梁 明秀、山本直樹、網康至(動物管理室)]

3．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。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、HIV-1ウイルス株10株より得られた17種のHIV-1分子クローンをもとに、28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-5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。次に、カニクイザルPBMCを用いて感染・増殖試験を行った結果、2クローンが感染の兆候を示した。

［阪井弘治、山本直樹］

4. エイズウイルス糖鎖修飾の感染組織特異性と病原性への影響

SIVmac239は５カ所のN型糖鎖修飾の減少により、エイズウイルス感染の特徴である慢性期における持続的なウイルス増殖性を失う。その機序を調べるために初期感染期の感染組織について病理学的解析を行った。SIVmac239または糖鎖欠失変異ウイルスΔ5Gをアカゲザルに静脈内接種し、SIVmac239感染では感染後7、9、12、21日にΔ5G感染では9，12、14、21日に安楽殺した。SIV感染組織を同定するために腸管粘膜組織：小腸（空腸、回腸）、結腸、全身性リンパ組織：脾臓、扁桃、リンパ節（ソケイ、エキカ、顎下、深頸、肺門、膵下、深腸骨、腸間膜）を採取し、免疫組織染色法により解析した。腸管粘膜組織では両ウイルス感染で多数の感染細胞が集積した感染部位が散在していたが、感染の組織内分布、動態に違いがあった。SIVmac239感染ではすべての組織において感染部位が同定された。感染のピークは感染後9、12日で21日の組織には感染部位は確認されなかった。主要な感染部位はリンパ小節で粘膜固有層では稀に感染細胞が見られるだけであった。感染部位となったリンパ小節は複数のリンパ小節が近接して存在し免疫の活性化が推測された。Δ5G 感染では、感染9日に最多の感染部位、感染細胞が検出され、12、12日では感染は減少していた。感染組織は9日では粘膜固有層であったが、12、14日ではリンパ小節であった。しかし孤立リンパ小節であり、SIVmac239感染で見られたような複数のリンパ小節の集積は少なかった。また結腸での感染は見られなかった。全身性リンパ組織においても両ウイルス感染は異なっていた。SIVmac239感染では7日では腸間膜リンパ節で、9、12日ではすべてのリンパ節で多数の感染細胞が検出された。ところがΔ5G 感染では感染9日に腸間膜リンパ節等で感染部位が検出されたが感染細胞数はSIVmac239の1/10以下であった。12日以降は稀に感染細胞が確認されただけであった。末梢リンパ球の大部分は全身性リンパ組織由来であるが、両ウイルス感染での末梢リンパ球のSIV RNA,DNAのレベルの違いは全身性リンパ組織でのSIV感染の違いと一致した。SIVmac239は獲得免疫応答におけるinductive siteである２次リンパ組織のCD4+T細胞に感染していた。Δ5G 感染はeffector siteのCD4+T細胞で感染が始まり、小腸粘膜を中心に一部のinductive siteのCD4+T細胞へ感染がシフトしたが、感染は短期間に収束

した。このような感染の違いが両ウイルスの慢性期の感染の違い、さらに病原性の違いの原理となっていると推測された。
[杉本智恵、森　一泰]

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20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。

なお、本DBは更新目的のため、平成20年3月末より、一時閉鎖中である。
[仲宗根正、科学技術振興機構]

2. プロリルイソメラーゼ Pin1 による HTLV-1 Tax タンパク質の安定化機構の検討

ペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1 は多くの癌で高発現し、癌化および悪性化形質の維持に重要な役割を果たすことが知られている。今回我々は、Pin1 が HTLV-1 Tax タンパク質に結合し、そのユビキチン化とタンパク質分解を抑制することにより、Tax の活性化および癌化に寄与することを明らかにした。Pin1 は成人 T 細胞白血病(ATL)細胞株で Tax の発現に比例して発現量が増加していた。Pin1 は細胞周期依存的にリン酸化された Tax と結合し、Tax の分解を顕著に抑制した。Pin1 は Tax のユビキチン化も抑制したが、Tax の分解はプロテアソーム阻害剤添加により回避されず、むしろライソゾーム阻害剤の NH4Cl 処理において顕著に抑制された。以上の結果より、Pin1 は Tax のユビキチン化およびライソゾームへのターゲッティングを抑制することにより、Tax タンパク質の分解を抑制し、細胞発癌を促進することが示唆された。
[Jeong Soo-Jin, 梁 明秀、正岡崇志、大庭賢二、山本直樹]

3. 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 エントリー阻害剤の同定とその解析

我が国の血友病患者における HIV/HCV 共感染率は 97%を越える。1996 年に HAART の導入により,患者予後が大幅に改善された結果、HCV による肝障害が死亡原因の大きな割合を占めるようになってきている。そのため、HCV 感染症に対する有効且つ安全な治療法の開発は、「ポスト HAART 時代」の重要な医療課題の一つと考えられる。われわれは、脇田らによって樹立された感染性分子クローン JFH-1 を用いた infectivity assay を用いたスクリーニング系を確立・最適化することにより、新しい創薬シーズの探索を目指した。その結果、HCV のエントリーに対する阻害活性を有する数種の低分子化合物を見出した。そのうちの１種は、HCV エントリー受容体の一つである CD81 を直接の標的とすることが、コンピューターを用いた分子ドッキング解析によって予測される。現在、作用機構の詳細に関する解析と、構造最適化による創薬展開が進行中である。
[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（ウイルス第二部)、鈴木哲朗（ウイルス第二部)、脇田隆字（ウイルス第二部）]

品質管理に関する業務

Ⅰ．HIV 感染診断のための標準品整備

1．日赤献血由来陽性検体からなる国内感染者 HIV 感染研パネル整備

国内で市販される HIV 感染診断キットの公的性能試験を当室は担っている。現在診断キットの性能試験に用いている陽性検体の多くは HIV-1 流行初期の米国血液銀行より入手した血漿を供試している。HIV 感染診断キットの性能も技術革新により年々改良され、現在では第 1 次スクリーニング試験として抗原・抗体同時測定系が推奨され、ウインドウ期を短縮するため HIV-1 p24 gag 抗原検出感度が更に高められた診断キットが欧米先進国において既に市場に導入されている。感染者増加が続く本

邦においては、感度と特異性に優れた HIV 感染診断キットの早期の導入は感染者の早期発見と適切な治療の開始のみならず、感染者の増加に歯止めをかけるため第１義的に重要であるが、これまで国内感染者検体入手が個人情報保護の側面から困難であったため承認前試験申請に遅延をきたす例が多かった。一方で国内献血における HIV-1 陽性検体数は日本赤十字社の検査目的の献血を防止するキャンペーンにもかかわらず増加し、昨年遂に年間 100 名を越えた陽性献血があった。このような状況の下、ここ数年に渡り日赤、本省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室及び医薬品医療機器総合機構医療機器審査部に承認前試験に供試するため公的な国内感染者検体からなるパネル整備の必要性を説き続けてきた。今年度になり関係各部の協力得て、日赤より 2004 年度から 2006 年度に亙る HIV 陽性 84 検体と陰性 50 検体の譲渡を受けた。これらの検体は全て当室で分子遺伝学的特性付けを行い、また現在 HIV 感染診断キットを販売している主要な数社の協力を得て全検体の特性を検討した上で選別し、陽性 80 検体及び陰性 20 検体からなる公的感染研 HIV-1 パネルとして運営される予定である。

[田角栄二、竹川奈穂、武田　哲、阪井弘治、巽　正志、山本直樹、水落利明（血液・安全性研究部）、山口一成（血液・安全性研究部）、百瀬俊也（日赤血液事業本部中央研究所）、柚木久雄（日赤血液事業本部中央研究所）、日野学（日赤血液事業本部中央研究所）、田所憲治（日赤血液事業本部中央研究所）]

2. 日赤献血由来陽性検体の特性付け– subtyping –

上記のように譲渡を受けた陽性 84 検体により RNA を抽出し、HIV-1 gag p17 領域と env C2/V3 領域を標的とする RT-PCR により HIV-1 特異的 Amplicon を増幅し、得られた Amplicon を Direct Sequencing で感染ウイルスの subtyping を Blast 検索と NJ 法による系統樹作成により行なったところ、 subtype B が 75/84（8.1%), CRF01AE が 9/84 (10.7%) 及び CRF08BC が 1/84 (1.2%)であった。中国本土で流行している CRF08BC 組換体が既に献血陽性検体に見いだされたのは今後の対策として注目に値する。

[田角栄二、竹川奈穂、武田　哲、阪井弘治、巽　正志、山本直樹]

3. 日赤献血由来陽性検体の特性付け – Clustering –

上記で配列決定し所定の Primer で増幅出来た検体と別に第２グループ由来の薬剤耐性試験を受けているウイルス由来の感染性分子クローンの p17 gag 領域と env C2/V3 領域で NJ 法により系統樹を作成し陽性検体ウイルスの特性を解析したところ、subtype B の検体で第２グループ由来ウイルスが１例も属さない特異なクラスターに gag p17 では 24/74 (34%), env C2/V3 では 18/74 (24%)の有意な検体数が属していた。この特異なクラスターの存在は、今後の献血対策にとって有用な情報を提供するものと考えられる。

[田角栄二、竹川奈穂、武田　哲、巽　正志、山本直樹]

4. 日赤献血由来陽性検体の特性付け – ウイルスコピー数と抗体価 –

譲渡を受けた陽性 84 検体を現在国内で HIV 感染診断キットを販売している（もしくは販売予定）数社の協力を得て、その各診断キットによる測定を依頼した。測定した診断キットは第３世代抗体検出診断薬は３キット、第４世代抗原・抗体同時検出診断薬は７キット、及び確認試験法として Western Blot 法１キットであり、HIV-1 RNA コピー数測定キットは当室で設定した測定を含めて３キットであった。

その結果原液血漿の 10000 倍希釈においても陽性を示す抗体価の高い検体が全体の 75%も占めており、感染から有る程度経過した検体が多いものと判断した。また抗体価が低い検体は Western Blot 法では判定保留となる検体であった。ウイルスコピー数は３測定法で検体によりバラつきが大きいものもあったが、その検体はフィブリンなどの凝固物の多い検体に該当していた。当室の測定でコピー数が比較的多い７検体から磁気パーティクル法によりウイルスを分離出来た。これらのウイルスの特性付け今後の献血対策に貴重な情報を提供するものと期待される。

[竹川奈穂、巽　正志、山本直樹]

5. 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。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・抗体同時測定系における抗原検出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ている。昨年度のサーベイより subtype/CRF 数を増やし、希釈抗原濃度も各診断キットが公称する感度 10 pg/mL 前後に振り、欧州で HIV-1 抗原測定のデフォルトとされる Innotest による測定も行なった。その結果 Innotest による抗原検出は設定抗原濃度 10 pg/mL まで検出していた。この成績は当室が整備した subtype/CRF 感染性分子クローンが偏ったウイルスからなる可能性を否定するものである。この条件で各種抗原抗体同時測定診断キットで測定したところ、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改めて確認された。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。
[竹川奈穂、巽　正志]

国際協力関係業務

Ⅰ．JICA との共催による HIV-1 診断技術講習「第５回 HIV 感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術コース」（平成 19 年 6 月 11 日-7 月 13 日）

現在世界的に拡大を続けている HIV-1 感染、AIDS 発症の予防のためには、HIV-1 の蔓延状況の正確な把握が欠かせない。このためには確固とした診断技術に基づいた HIV-1 感染診断が必須である。近年 HIV-1 の感染診断は従来の感染の有無のみを判断する血清学的診断に加えて、感染ウイルスの質、量を知ることができる PCR 法に基づいた診断法が重視されるようになってきている。しかし、現在感染の中心となっている第三世界では必ずしもこれらの診断技術が確立されていないのが現状である。これらの状況に対応するため当センターでは JICA との共催により第三世界の研修員を対象に HIV-1 の感染診断のための技術講習コースを毎年 1 回開催している。過去 2 フェーズ（各フェーズ 5 年）に渡って血清診断を中心とした研修を行ってきたが、近年の核酸に基づいた診断技術への需要に答えて、平成 15 年度からは「HIV 感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術」と名称を改め PCR や塩基配列解析などを含めた研修を行っている。平成 19 年度（最終年度）には、中国、ガボン、ジャマイカ（2 名）、マラウイ、ミヤンマー、パナマ、フィリピン、トーゴ、ウルグアイの 9 カ国 10 名の研修員を対象に 6 週間にわたって村山庁舎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。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が、それを考慮して今回試みた PCR ワークショップが特に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、藤野真之、武部　豊、椎野禎一郎、草川　茂、巽　正志、阪井弘治、武田　哲、森　一泰、石川晃一、駒野　淳、山本直樹、杉山和良（バイオセーフティ管理室）、横田恭子（免疫部）、多田有希（感染症情報センター）、俣野哲朗（東京大学医科学研究所）、Jintana Ngamvithayapong-Yanai（財団法人結核予防会結核研究所）、若杉なおみ（早稲田大学）、菊池　嘉（国立国際医療センター）、増田道明（獨協医科大学）、小柳義夫（京都大学ウイルス研究所）、佐竹正博（東京都赤十字血液センター）、加藤真吾（慶應義塾大学）、畢　秀瓊（国立国際医療センター）]

Ⅱ．その他

1. 日本学術振興会 外国人特別研究員受入（平成 19 年 5 月 14 日）[杉浦　亙]

2. 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、エイズ研究センターについて」（平成 19 年 9 月 7 日）[巽　正志、山本直樹]

3. 日本学術振興会 論博研究者受入（平成 19 年 10 月 14 日-12 月 7 日）[杉浦　亙]

4. JICA　ベトナム国立衛生疫学研究所能力強化プロジェクト研修受入（平成 19 年 11 月 26 日-12 月 13 日）[巽正志]

研修業務

Ⅰ．厚生労働省による HIV 検査法、検査体制研究班による研修会「第 18 回 HIV-1,2 技術研修会」（平成 19 年 10 月 3 日-5 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、藤野真之、西澤雅子、武田　哲、今井光信（神奈川県衛生研究所）、佐野貴子（神奈川県衛

生研究所)、潟永博之（国立国際医療センター)、加藤真吾（慶應義塾大学）]

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 19 年 12 月 13 日）[山本直樹]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1) Ohba K, Yoshida S, Dewan MZ, Shimura H, Sakamaki N, Takeshita F, Yamamoto N, Okuda K: Mutant influenza A virus nucleoprotein is preferentially localized in the cytoplasm and its immunization in mice shows higher immunogenicity and cross-reactivity. Vaccine 25(21):4291-4300, 2007.

2) Qi X, Koya Y, Saitoh T, Saitoh Y, Shimizu S, Ohba K, Yamamoto N, Yamaoka S, Yamamoto N: Efficient induction of HIV-1 replication in latently infected cells through contact with CD4+ T cells: involvement of NF-kappaB activation. Virology 361(2):325-334, 2007.

3) Kondo K, Okuma K, Tanaka R, Zhang LF, Kodama A, Takahashi Y, Yamamoto N, Ansari AA, Tanaka Y: Requirements for the functional expression of OX40 ligand on human activated CD4 and CD8+ T cells. Hum Immunol 68(7):563-571, 2007.

4) Cho WK, Zhou M, Jang MK, Huang K, Jeong SJ, Ozato K, Brady JN: Modulation of the Brd4/P-TEFb interaction by the human T-lymphotropic virus type 1 tax protein. J Virol 81(20):11179-11186, 2007.

5) 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 367(2):390-397, 2007.

6) Watanabe S, Ohta S, Yajima M, Terashima K, Ito M, Mugishima H, Fujiwara S, Shimizu K, Honda M, Shimizu N, Yamamoto N: Humanized NOD/SCID/IL2Rgamma(null) mice transplanted with hematopoietic stem cells under nonmyeloablative conditions show prolonged life spans and allow detailed analysis of human immunodeficiency virus type 1 pathogenesis. J Virol 81(23):13259-13264, 2007.

7) Ryo A, Hirai A, Nishi M, Liou YC, Perrem K, Lin SC, Hirano H, Lee SW, Aoki I: A suppressive role of the prolyl-isomerase pin1 in cellular apoptosis mediated by the death-associated protein daxx. J Biol Chem 282(50):36671-36681, 2007.

8) Suzuki H, Fujino M, Matsuda M, Yan H, Iwatani Y, Sugiura W: Effects of Protease and reverse transcriptase inhibitor-resistance mutations on integrase polymorphism in multidrug resistance cases. Antivir Ther. 12(1): S4, 2007.

9) Shibata J, Ren F, Nishizawa M, Fujino M, Iwatani Y, Matsuda M, Miura H, Tanaka, Sugiura W: Interference between Gag non-cleavage site mutation P453L aned HIV-1 protease non-drug resistance mutation E35D. Antivir Ther 12(1): S143, 2007.

10) Saeng-Aroon S, Yoshida LM, Ariyoshi K, Taguchi M, Pathipvanich P, Rojanawiwat A, Matsuda M, Kannagi M, Sawanpanyalert P, Sugiura W, Auwanit W: An efficient tool for surveying CRF01_AE HIV type 1 resistance in Thailand to combined stavudine-lamivudine-nevirapine treatment: mutagenically separated PCR targeting M184I/V. AIDS Res Hum Retroviruses 23(12):1461-1468, 2007.

11) Satoh E, Li XK, Hara Y, Ogata K, Guo L, Kitazawa Y, Funeshima-Fuji N, Satoh T, Miyagi T, Sugiura W, Yamamoto N, Teramoto K, Arii S, Kimura H: Sensitization to enhanced green fluorescence protein minor histocompatibility antigen by gene transduction into dendritic cells and peritoneal exudate macrophages. Transpl Immunol 18(2): 73-84, 2007.

12) Iwatani Y, Chan DS, Wang F, Maynard KS, Sugiura W, Gronenborn AM, Rouzina I, Williams MC, Musier-Forsyth K, Levin JG: Deaminase-independent inhibition of HIV-1 reverse transcription by APOBEC3G. Nucleic Acids Res 35(21): 7096-7108, 2007.

13) Fujisaki S, Fujisaki S, Ibe S, Asagi T, Itoh T, Yoshida S, Koike T, Oie M, Kondo M, Sadamasu K, Nagashima M, Gatanaga H, Matsuda M, Ueda M, Masakane A, Hata M, Mizogami Y, Mori H, Minami R, Okada K, Watanabe, K, Shirasaka T, Oka S, Suigura W, Kaneda T: Performance and quality assurance of genotypic drug-resistance testing for human immnodeficiency virus type 1 in Japan. Jpn J Infect Dis 60: 113-117, 2007.

14) 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.

15) 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.

16) 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.

17) 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.

18) 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(2): 168-172, 2007.

19) 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.

20) 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.

21) Han X, Zhang M, Dai D, Wang Y, Zhang Z, Liu J, Geng W, Jiang Y, Takebe Y, Shang H: Genotypic resistance mutations to antiretroviral drugs in treatment-naive HIV/AIDS patients living in Liaoning Province, China: baseline prevalence and subtype-specific difference. AIDS Res Hum Retroviruses 23(3): 357-364, 2007.

22) Utsumi T, Nagakawa H, Uenishi R, Kusagawa S, Takebe Y: An HIV-2-infected Japanese man who was a long-term nonprogressor for 36 years. AIDS 21(13): 1834-1835, 2007.

23) Naito Y, Nohtomi K, Onogi T, Uenishi R, Ui-Tei K, Saigo K, Takebe Y: Optimal design and validation of antiviral siRNA for targeting HIV-1. Retrovirology 4(1): 80, 2007.

24) Tee KK, Pybus OG, Liao H, Uenishi R, Hase S, Kamarulzaman A, Li X-J, Takebe Y: Chronology of the HIV-1 CRF07_BC expansion in Taiwan. AIDS 22: 156-158, 2007.

25) Rie X-J, Uenishi R, Hase S, Liao H, Tee KK, Kusagawa S, Takebe Y: HIV/AIDS in Asia: The shape of epidemics and their molecular epidemiology. Virologica Sinica 22(6): 426-433, 2007.

26) Matsuda Z, Iga M, Miyauchi K, Komano J, Morishita K, Okayama A, Tsubouchi H: In vitro translation to study HIV protease activity. Methods Mol Biol 375: 135-149, 2007.

27) Kameoka M, Kitagawa Y, Utachee P, Jinnopat P, Dhepakson P, Isarangkura-na-ayuthaya P, Tokunaga K, Sato H, Komano J, Yamamoto N, Oguchi S, Natori Y, Ikuta K: Identification of the suppressive factors for human immunodeficiency virus type-1 replication using the siRNA mini-library directed against host cellular genes. Biochem Biophys Res Commun 359(3):729-734, 2007.

28) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi 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(5): 575-582, 2007.

29) Futahashi Y, Komano J, Urano E, Aoki T, Hamatake M, Miyauchi K, Yoshida T, Koyanagi Y, Matsuda Z, Yamamoto N: Separate elements are required for ligand-dependent and –independent internalization of metastatic potentiator CXCR4. Cancer Sci 98(3): 373-379, 2007.

30) 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.

31) 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 Autoimmun 28: 152-159, 2007.

32) 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.

33) Kubo Y, Yokoyama M, Yoshii H, Mitani C, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N: Inhibitory role of CXCR4 glycan in CD4-independent X4-tropic human immunodeficiency virus type 1 infection and its abrogation in CD4-dependent infection. J Gen Virol 88: 3139-3144, 2007.

34) Murakami T, Yamamoto N: AIDS: How do we overcome this social and biodisaster? J Disaster Res 2: 71-80, 2007.

35) Dewan MZ, Terunuma H, Takada M, Tanaka Y, Abe H, Sata T, Toi M, Yamamoto N: Role of natural killer cells in hormone-independent rapid tumor formation and spontaneous metastasis of breast cancer cells in vivo. Breast Cancer Res Treat 104(3): 267-275, 2007.

36) Kubo Y, Tominaga C, Yoshii H, Kamiyama H, Mitani C, Amanuma H, Yamamoto N: Characterization of R peptide of murine leukemia virus envelope glycoproteins in syncytium formation and entry. Arch Virol 152(12): 2169-2182, 2007.

37) Vermund SH, Yamamoto N: Co-infection with human immunodeficiency virus and tuberculosis in Asia. Tuberculosis Suppl 1: S18-25, 2007.

38) Yamaguchi K, Sugiyama T, Takizawa M, Yamamoto N, Honda M, Natori M. Viability of infectious viral particles of HIV and BMCs in breast milk. J Clin Virol 39(3): 222-225. 2007.

39) Watanabe M, Dewan MZ, Taira M, Shoda M, Honda M, Sata T, Higashihara M, Kadin ME, Watanabe T, Yamamoto N, Umezawa K, Horie R: IkappaBalpha independent induction of NF-kappaB and its inhibition by DHMEQ in Hodgkin/Reed-Sternberg cells. Lab Invest 87(4): 372-382. 2007.

40) Miyano-Kurosaki N, Kira J, Barnor JS, Maeda N, Misawa N, Kawano Y, Tanaka Y, Yamamoto N, Koyanagi Y: Autonomous proliferation of HTLV-CD4+ T cell clones derived from human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy patients. Microbiol Immunol 51(2): 235-242. 2007.

41) 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.

42) Shimakage M, Inoue N, Ohshima K, Kawahara K, Yamamoto N, Oka T, Tambe Y, Yasui K, Matsumoto K, Yutsudo M, Inoue H: Downregulation of drs mRNA expression is associated with the progression of adult T-cell leukemia/lymphoma. Int J Oncol 30(6): 1343-1348, 2007.

43) Dewan MZ, Terunuma H, Takada M, Tanaka Y, Abe H, Sata T, Toi M, Yamamoto N: Role of natural killer cells in hormone-independent rapid tumor formation and spontaneous metastasis of breast cancer cells in vivo. Breast Cancer Res Treat 104(3): 267-275, 2007.

44) Dasgupta A, Jung KJ, Jeong SJ, Brady JN: Inhibition of methyltransferases results in induction of g2/m checkpoint and programmed cell death in human T-lymphotropic virus type 1-transformed cells. J Virol 82(1):49-59, 2008.

45) Jeong SJ, Dasgupta A, Jung KJ, Um JH, Burke A, Park HU, Brady JN: PI3K/AKT inhibition induces caspase-dependent apoptosis in HTLV-1-transformed cells. Virology 370(2):264-272, 2008.

46) Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Kimura R, Komano J, Nishi M, Soeda H, Hattori S, Perrem K, Yamamoto M, Chiba J, Mimaya J, Yoshimura K, Matsushita S, Honda M, Yoshimura A, Sawasaki T, Aoki I, Morikawa Y, Yamamoto N: SOCS1 is an inducible host factor during HIV-1 infection and regulates the intracellular

trafficking and stability of HIV-1 Gag. Proc Natl Acad Sci U S A 105(1):294-299, 2008.

47) Takahashi Y, Tanaka R, Yamamoto N, Tanaka Y: Enhancement of OX40-induced apoptosis by TNF coactivation in OX40-expressing T cell lines in vitro leading to decreased targets for HIV type 1 production. AIDS Res Hum Retroviruses 24(3):423-435, 2008.

48) Okuma K, Tanaka R, Ogura T, Ito M, Kumakura S, Yanaka M, Nishizawa M, Sugiura W, Yamamoto N, Tanaka Y: Interleukin-4-Transgenic hu-PBL-SCID Mice: A Model for the Screening of Antiviral Drugs and Immunotherapeutic Agents against X4 HIV-1 Viruses. J Infect Dis 197(1): 134-141, 2008.

49) Furuya K, Omura M, Kudo S, Sugiura W, H Azuma: Recognition profiles of microsporidian Encephalitozoon cuniculi polar tube protein 1 with human immunoglobulin M antibodies. Parasite Immunol 30: 13-21, 2008.

50) Takebe, Y. Uenishi, R., and Li. X.-J: Global molecular epidemiology of HIV: Understanding the genesis of AIDS pandemic. “HIV-1: Molecular biology and pathogenesis” (ed. Kuan Teh Jeang). Adv Pharmacol 56: 1-25, 2008.

51) Sugimoto C, Nakayama EE, Shioda T, Villinger F, Ansari AA, Yamamoto N, Suzuki Y, Nagai Y, Mori K: Impact of glycosylation on antigenicity of simian immunodeficiency virus SIV239: induction of rapid V1/V2 specific non-neutralizing antibody and delayed neutralizing antibody following infection with an attenuated deglycosylated Mutant. J Gen Virol 89: 554-566, 2008.

52) Onlamoon N, Rogers K, Mayne AE, Pattanapanyasat K, Mori K, Villinger F, Ansari AA: Soluble PD-1 rescues the proliferative response of SIV specific CD4 and CD8 T cells during chronic infection. Immunology 124: 277-293, 2008.

53) Kubo Y, Yoshii H, Kamiyama H, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N: Ezrin, Radixin, and Moesin (ERM) proteins function as pleiotropic regulators of human immunodeficiency virus type 1 infection. Virology 375(1): 130-140, 2008.

54) Amet T, Nonaka M, Dewan MZ, Saitoh Y, Qi X, Ichinose S, Yamamoto N, Yamaoka S: Statin-induced inhibition of HIV-1 release from latently infected U1 cells reveals a critical role for protein prenylation in HIV-1 replication. Microbes Infect 10(5): 471-480, 2008.

55) Koyanagi Y, Tanaka Y, Ito M, Yamamoto N: Humanized mice for human retrovirus infection. Curr Top Microbiol Immunol 324: 138-148, 2008.

56) Ujike M, Nishikawa H, Otaka A, Yamamoto N, Yamamoto N, Matsuoka M, Kodama E, Fujii N, Taguchi F: Heptad repeat-derived peptides block protease-mediated direct entry from the cell surface of severe acute respiratory syndrome coronavirus but not entry via the endosomal pathway. J Virol 82(1): 588-592, 2008.

57) Yoshii H, Kamiyama H, Amanuma H, Oishi K, Yamamoto N, Kubo Y: Mechanisms underlying glycosylation-mediated loss of ecotropic receptor function in murine MDTF cells and implications for receptor evolution. J Gen Virol 89(Pt 1): 297-305, 2008.

58) Murakami T: Roles of the interactions between Env and Gag proteins in the HIV-1 replication cycle? Microbiol Immunol, in press.

59) Terunuma H, Deng X, Dewan MZ, Fujimoto S and Yamamoto N: Potential role of NK cells in the induction of immune responses: Implications for NK cell-based immunotherapy for cancers and viral infections, International Reviews of Immunology, in press.

60) Yajima M, Imadome K, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N, Fujiwara S: A new humanized mouse model of EBV infection reproducing persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. J Infect Dis, in press.

61) Saito Y Yamamoto N. Dewan MZ, Sugimoto H, Martinez Bryun VJ, Iwasaki Y, Matsubara K, Qi X, Saitoh T, Imoto I, Inazawa I, Utsunomiya A, Watanabe T, Masuda T, Yamamoto N, Yamaoka S: Overexpressed NF-κB inducing kinase contributes to the tumorigenesis of adult T-cell leukemia and Hodgkin Reed-Sternberg cells. Blood, in press.

2．和文発表

1) 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.（小池和彦編）別冊医学のあゆみ. ウイルス感染症—研究と臨床の最前線. 東京、医歯薬出版、p107-p114、2007.

2) 今井光信、中瀬克己、小島弘敬、加藤真吾、杉浦 亙、

桒原 健、白阪琢磨: HIV 検査および検査体制-技術の進歩と今後の課題-. 第 20 回 日本エイズ学会 シンポジウム記録. 9(3):202-208,2007.

3) 松田昌和、杉浦 亙: HIV 薬剤耐性検査. モダンメディア別冊 53（11）:319-322, 2007.

4) 西澤雅子、杉浦 亙: 薬剤耐性 HIV の抱える諸問題:Considerable Issues of Drug Resistance. The Journal of AIDS Research 9(3): 197-201, 2007.

5) 杉浦 亙: 抗ウイルス薬耐性獲得のメカニズム- HIV. 月刊薬事. 49(11): 31-36, 2007.

6) 岩谷靖雅、杉浦 亙: DNA マイクロアレイ法. 臨床と微生物 34 増刊号: 479-481, 2007.

7) 杉浦 亙: 薬剤耐性化と対策.薬剤耐性化.HIV の耐性化機序. 日本臨床 65 増刊号 2:487-492, 2007.

8) 杉浦 亙: 感染症の治療と薬剤耐性. 生体防御医学辞典.朝倉書店.p66-p71, 2007.

9) 藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史朗、浅黄 司、伊藤俊広、吉田 繁、小池隆夫、大家正泰、渡邊香奈子、正兼亜季、上田幹夫、潟永博之、松田昌和、貞升健志、長島真美、岡田清美、近藤真規子、奏 眞美、溝上泰司、森 治代、南 留美、白阪琢磨、岡 慎一、杉浦 亙、金田次弘: 日本における HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ. The Journal of AIDS Research 9(2): 136-146, 2007.

10) 長谷彩希、草川茂、武部豊：逆転写酵素活性測定法 $-^{32}$P を用いた免疫不全ウイルス（HIV）のウイルス学的研究技術. 秀潤社, 細胞工学別冊 RI の逆襲;アイソトープを活用した簡単・安全バイオ実験. 127-131, 2007.

11) 村上 努、Heinrich G. Göttlinger、森川裕子、駒野 淳、梁 明秀、佐藤裕徳: Gag 蛋白質の輸送と機能の制御. The Journal of AIDS Research 9(2):102-107, 2007.

12) 村上 努、駒野 淳: 抗レトロウイルス薬の世界的普及時代を迎えて；エイズ研究センターの国際研修活動について 病原微生物検出情報 Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 28(6): 164-166, 2007.

13) 村上 努: HIV複製研究の最前線 序論. The Journal of AIDS Research 10(1):1-2, 2008.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Jeong SJ, Lu H, Cho WK, Park HU, Pise-Masison C, Brady JN：CARM1 enhances transcription of the HTLV-1 LTR through a direct interaction with Tax protein. 13th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, May 21-25, 2007, Hakone, Japan.

2) Urano E, Shimizu S, Hamatake M, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J: Upregulating expression of cyclin K/CPR4 limits the replication of HIV-1. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.

3) Yoshida T, Kawano Y, Ando Y, Sato K, Komano J, Miura Y, Tanaka Y, Koyanagi Y: CD63 and its mutants inhibit fusion of CXCR4-dontaining vesicles to the plasma membrane and block X4 HIV-1 entry. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.

4) Aoki T, Shimiz S, Emiko U, Futahashi Y, Hamatake M, Terashima K, Murakami T, Yamamoto N, Komano J: Rerouting the plasma membrane targeting of HIV-1 and MLV gag by replacing myristoylation signal with membrane proteins. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.

5) Miyagawa K, Murakami T, Ohsaki Y, Komano J, Fujimto T, Yamamoto N: Analysis of interaction between HIV-1 Gag and tip47 and its associated proteins. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.

6) Miyauchi K, Curran R, Matthews E, Komano J, Murakami T, Yamamoto N, Engelman DM, Matsuda Z: The specific phase of membrane-spanning helix of hiv-1 gp41 is critical for intracellular transport of env. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.

7) Suzuki H, Fujino M, Matsuda M, Yan H, Iwatani Y, Sugiura W: Effects of protease and reverse transcriptase inhibitor-resistance mutations on integrase polymorphism in multidrug resistance cases. 16th International HIV Drug Resistance Workshop, Jun. 12-16, 2007, Barbados, WestIndies.

8) Shibata J, Ren F, Nishizawa M, Fujino M, Iwatani Y, Matsuda M, Miura H, Tanaka H, Sugiura W: Interference between Gag non-cleavage site mutation P453L aned HIV-1 protease non-drug resistance mutation E35D. 16th International HIV Drug Resistance Workshop, Jun. 12-16, 2007, Barbados, WestIndies.

9) Terashima K, Watanabe S, Ohba K, Dewan MZ, Taruishi M, Mochimaru Y, Matsuoka S, Shimizu N, Yamamoto N: Follicular Dendritic cells (FDC) and

HIV-1. 13th International Congress of Immunology, Aug. 21-25, 2007, Rio de Janeiro, Brazil.

10) Uenishi R, Nohtomi K, Hase S, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y: Identification of new class of HCV inhibitors using newly developed JFH-1-based infectivity/ replication assay. 第 7 回あわじしま感染症・免疫フォーラム, Sept.1-5, 2007, 淡路島.
11) Isogai M, Uenishi R, Hase S, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y: Identification of new class of HCV inhibitors targeting to the entry or late stages in HCV replication cycle using newly developed JFH-1-based infectivity/ replication assay. HCV 2007, Sept.9-13, 2007, Glasgow, UK.
12) Sugimoto C, Suzuki Y, Nagai Y, Hirsch V, Yamamoto N, Mori K: Efficacy of deglycosylation mutants derived from SIVmac239 as live attenuated vaccines against SIVsmE543; A heterologous challenge model for vaccine against naturally occurred HIV diversity. 25th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Sept. 10-13, 2007, Monterey, USA.
13) Takebe Y: Identification of novel antiviral small molecule compounds that are likely to block early processes in HCV replication cycle. 2nd Hepatitis C, Resistance and New Compounds Workshop, Oct. 31-Nov. 1, 2007, Boston. USA.
14) Shibata J, Ren F, Nishizawa M, Tsang H, Iwatani Y, Matsuda M, Miura H, Tanaka H, Sugiura W: Gag and protease interference affect acquisition and selection of resistance viruses in antiretroviral treatment failure case. 8th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov.11-14, 2007, USA.
15) Honda M, Kanekiyo M, Matsuo K, Kong W, Akahata W,Yang Z, Xu L, Wu L, Bonaparte K, Margulies D, Nabel GJ: Switching of CD8+ T cell responses specific to immunodominant antigenic- multideterminant of HIV-1 Env. VRC Scientific Training Retreat, Nov. 13-16, 2007, Philadelphia, USA.
16) Bandaranayake R, Prabu-Jeyablab M, Kakizawa J, Sugiura W, Schiffer C: The effect of sequence polymorphisms on CrF01_AE protease structure. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb.3-6, 2008, Boston, USA.

2．国内学会

1) 藤　秀義、辰巳絢子、栗田明宙、駒野　淳、星野忠次：コンピュータ支援による HIV-1 治療薬の開発. レトロウイルス研究会夏期セミナー2007. 2007 年 8 月 3 日，山梨県.
2) 濱武牧子,駒野　淳,浦野恵美子,厳　驊,中原　徹,堤浩,宮内浩典, 森川裕子,玉村啓和,杉浦　亙,山本直樹：HIV-1 インテグラーゼ阻害活性を有する６アミノ酸モチーフの同定とその抗ウイルス活性. 熊本エイズセミナー．2007 年 9 月 13-14 日，熊本.
3) Tee Kok-Keng, 廖華南、上西理恵、長谷彩希、武部豊：HIV-1 CRF07_BC の東アジアにおける流行拡大の年代決定：アジアにおけるエイズ流行の成り立ちに関する理解の深化に向けて．第 55 回日本ウイルス学会学術集会，2007 年 10 月 21-23 日，札幌.
4) 武部豊、上西理恵、納富香子、長谷彩希、鈴木哲朗、脇田隆字：感染性 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による新規標的をもつ HCV 阻害剤の同定とその解析．第 55 回日本ウイルス学会学術集会，2007 年 10 月 21-23 日，札幌.
5) 駒野　淳, 浦野恵美子, 厳　驊, 中原　徹, 堤 浩, 濱武牧子, 宮内浩典, 森川裕子, 玉村啓和, 杉浦　亙, 山本直樹： HIV-1 インテグラーゼ阻害活性を有する６アミノ酸モチーフの同定とその抗ウイルス活性. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会，2007 年 10 月 21-23 日，札幌.
6) Emiko Urano, Saki Shimizu, Makiko Hamatake, Yuko Morikawa, Naoki Takahashi, Hidesuke Fukazawa, Naoki Yamamoto, and Jun Komano: Cyclin K/CPR4 による HIV-1 複製抑制とそのメカニズムの解析. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会, 2007 年 10 月 21-23 日，札幌.
7) 杉本智恵、鈴木康夫、山本直樹、永井美之、森　一泰：アカゲザルにおける SIV 初期感染から見たエイズ発症機構. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会，2007 年 10 月 21-23 日，札幌.
8) 高橋良明、田中礼子、田中勇悦：CD4 陽性 T 細胞株における OX40 の新たな機能： OX40/OX40L システムによるアポトーシス誘導メカニズム. 第 37 回日本免疫学会学術集会， 2007 年 11 月 20-22 日，東京.
9) 梁明秀、澤崎達也、山本直樹：Post-translational regulation of HIV-1 proteins revealed a new type of virus-host cell interaction for HIV-1 replication and pathogenesis. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日， 広島.

10) 大庭賢二、梁明秀、寺嶋一夫、山本直樹：濾胞樹状細胞（FDC）による HIV-1 潜伏感染細胞からのウイルス複製刺激機構：P-selectin/RSGL-1 と Syk pathway の関与の可能性. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
11) 仲宗根正、兼清優、吉野直人、網康至、山本直樹：Cell-Associated Virus を用いた HIV/AIDS サル動物モデル. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日，広島.
12) 桒原 健、吉野宗宏、佐野俊彦、小島賢一、日笠 聡、杉浦 亙、白阪琢磨：拠点病院における抗 HIV 療法と薬剤関連アンケート調査結果（第 4 報）. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
13) 中里俊文、高村 斉、大出裕高、清水 愛、杉浦 亙、星野忠次：L90M 変異体に阻害作用をもつ抗 HIV 薬の設計・合成. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日，広島.
14) 羽生勇一郎、山本紀生、日吉真照、黒崎直子、石川晃一、松田昌和、岡田誠治、杉浦 亙、山本直樹、高久 洋：shRNA, decoy RNA 共発現レンチウィルスベクターによる HIV-1 複製阻害効果の検討. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.
15) 田中理恵、桒原 健、杉浦 亙、加藤真吾: HPLC によるダルナビルの血中濃度測定法の開発. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
16) 岩谷靖雅、杉浦 亙: HIV-1 NC と APOBEC３G の逆転写反応への作用 . 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.
17) 松山 翔、大出裕高、柿澤淳子、杉浦 亙、星野忠次: 臨床検体由来 Subtype C HIV-1 protease の薬剤耐性機構に関する構造化学的研究. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.
18) 柿澤淳子、松山 翔、大出裕高、星野忠次、大高泰靖、岩谷靖雅、西澤雅子、Rajintha Bandaranayake、Celia A Sciffer、杉浦 亙: CRF01_AE とサブタイプ B のプロテアーゼの構造解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.
19) 長谷川直紀、杉浦 亙、任 鳳蓉、松田昌和、柴田潤子、田中 博: HARRT 下における連続サンプルを用いた経時的な HIV の宿主内進化解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
20) 柴田潤子、任 鳳蓉、西澤雅子、藤野真之、松田昌和、岩谷靖雅、杉浦 亙、田中 博: 抗 HIV 薬剤投与下における protease と Gag の共進化に関する研究. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日，広島.
21) 吉田いづみ、西澤雅子、藤野真之、仲宗根 正、岩谷靖雅、長谷川直紀、柴田潤子、杉浦 亙、任 鳳蓉、田中 博: HIV-1 env 遺伝子の多様性進化. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.
22) 近藤真規子、宮崎裕美、須藤弘二、佐野貴子、倉井華子、相楽裕子、岩室紳也、杉浦 亙、武部 豊、今井光信: 日本で流行している HIV-1 サブタイプ B の diversity. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日，広島.
23) 藤野真之、三浦秀佳、西澤雅子、松田昌和、鈴木寿子、杉浦 亙: 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. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
24) 杉浦 亙、潟永博之、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、伊藤俊広、原 孝、佐藤武幸、石ヶ坪良明、上田敦久、近藤真紀子、今井光信、貞升健志、長島真美、福武勝幸、山元泰之、田中理恵、加藤真吾、宮崎菜穂子、岩本愛吉、藤野真之、仲宗根 正、巽 正志、椎野禎一郎、岡 慎一、林田庸聡、服部純子、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、浜口基洋、上田幹夫、正兼亜季、大家正義、下条文武、田邊嘉也、渡邊香奈子、白阪琢磨、桒原 健、森 治代、小島洋子、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎: 2003-2006 年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
25) 椎野禎一郎、佐藤裕徳、保科佳美、山本直樹、武部豊：HIV-1 の RT 領域における遺伝子組換え価と突然変異率の多様性への寄与. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.
26) 上西理恵、正兼亜季、近藤真規子、長谷彩希、廖華南、小野木成美、今井光信、上田幹夫、相良裕子、花房秀次、加藤真吾、草川茂、武部豊：CRF01 とサブタイプ B からなる新規組み替えウイルス株（URF）の同定とその公衆衛生上の意義. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.
27) 草川茂、上西理恵、内海孝信、長谷彩希、Huonan Liao、

小野木成美、林明夫、永川博康、武部豊：HIV-2 感染後 36 年にわたる長期未発症例の同定とその解析：わが国における最古の HIV 感染症例. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.

28) 近藤真規子、宮崎裕美、須藤弘二、佐野貴子、倉井華子、相良裕子、岩室紳也、杉浦　亙、武部　豊、今井光信：日本で流行している HIV-1 サブタイプ B の diversity. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.

29) Saki Hase, Yoshihoki Takayama, Mihoko Yotsumoto, Rie Uenishi, Huanan Liao, Narumi Onogi, Shigeru Kusagawa, Hiroshi Saito, Yutaka Takebe: Identification of unique CRF01_AE transmission cluster in Central Japan. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.

30) Toru Aoki, Saki Shimizu, Emiko Urano, Yuko Futahashi, Makiko Hamatake, Hirokazu Tamamura, Kazuo Terashima, Tsutomu Murakami, Naoki Yamamoto and Jun Komano: Gag タンパク質の形質膜輸送シグナルがミリストイル化であることのウイルス学的 意義について. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.

31) 杉本智恵、山本直樹、永井美之、森　一泰：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. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.

32) 鈴木雅也，小林丘，山下裕介，山南隆徳，山本直樹，石川晃一：各種アジュバント候補を用いた抗 HIV 抗体産生能の検討. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島.

33) 山下裕介,小林丘,鈴木雅也,山南隆徳,山本直樹,石川晃一：粘膜免疫アジュバントを用いた抗 HIV 抗体産生能の検討. 第11回日本ワクチン学会学術集会，2007 年 12 月 8-9 日，横浜.

34) 小林 丘，山下裕介,鈴木雅也，山南隆徳，山本直樹，石川晃一：キトサン関連物質の粘膜免疫アジュバント活性. 第 11 回日本ワクチン学会学術集会，2007 年 12 月 8-9 日，横浜.

35) 浦野恵美子、奥長造之、森川裕子、駒野　淳：Co-chaperone タンパク質 DNA J/HSP40 family による HIV-1 複製抑制. BMB2007（第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会），2007 年 12 月 11-14 日，横浜.

36) 濱武牧子、二橋悠子、青木　徹、山本直樹、駒野　淳：Biophysical analysis of homotypic interaction facets that mediate the clustering of the G-protein-coupled receptor CXCR4 in the absence of SDF-1alpha. BMB2007（第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会），2007 年 12 月 11-14 日，横浜.

37) Toru Aoki, Saki Shimizu, Emiko Urano, Yuko Futahashi, Makiko Hamatake, Hirokazu Tamamura, Kazuo Terashima, Tsutomu Murakami, Naoki Yamamoto and Jun Komano：非ミリストイル化 Gag を用いたレトロウイルス Gag の Vps 輸送経路を通過することによ る影響およびそのウイルス学的意義. BMB2007（第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会），2007 年 12 月 11-14 日，横浜.

38) 藤　秀義，浦野恵美子，厳　驊，中原　徹，堤　浩，濱武牧子，宮内浩典，森川裕子，玉村啓和，杉浦　亙，山本直樹，駒野　淳，星野忠次：ドッキングシミュレーションによる HIV-1 インテグラーゼ阻害活性を有するペプチドの分子設計. 第 45 回日本生物物理学会年会，2007 年 12 月 21-23 日，横浜.

39) 辰巳絢子、藤　秀義、駒野　淳、根矢三郎、星野忠次：HIV-1 の RNaseH を標的とした新規抗 HIV 薬の設計・評価・合成、日本薬学会第 128 年会，2008 年 3 月 26-28 日，横浜.

２１．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

病原体ゲノム解析研究センターは、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(HPV)の研究を進めた。遺伝子治療が先天性遺伝病に対する実用的な治療技術となるには、治療に用いる遺伝子を発現調節機能領域と共に効率良く導入できるベクターが必要であり、新型ウイルスベクターが内外で開発されている。一方、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。

HPV には 100 以上の遺伝子型が存在するが、15 の型が子宮頸癌の原因となる。これらの 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ウイルスゲノムの複製、キャプシド蛋白質の合成が順次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、細胞の DNA 合成系の再活性化とアポトーシスの抑制機能を持つ 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。抗 HPV 薬の開発基盤とするため HPV 生活環を詳細に解析した。全ての発癌性 HPV 群に共通な中和エピトープの解析とそれをワクチン抗原に応用する研究を進めた。製薬会社から HPV ワクチンの承認申請がなされ、承認前検査を担当した。また、WHO は HPV の感染実態とワクチン導入による影響を把握し、今後の HPV 対策の基盤となる情報を共有する目的で、HPV ラボネットワークを構築した。西太平洋地域の拠点ラボに指定され、活動を開始した。

第二室では、ウイルスのゲノム情報と蛋白質の結晶構造を基に、情報科学と計算科学を応用して、ウイルスの変異による構造変化と機能修飾を予測する研究戦略をたてている。この新しい研究手法は、抗原性、免疫感受性、薬剤感受性、感染宿主域、増殖能等の変化を予測可能にし、ウイルス感染の迅速診断、予防・治療、ウイルス進化等の研究に役立つと期待できる。RNA ウイルスを対象に、ウイルスゲノム情報を集めたデータベースの構築と変異の実態を解析するために必要な解析ツールの作製を進めた。自然界で許容される変異の種類、ゲノムに生じる連鎖変異、ウイルス病原性変化と連動する変異等の情報の蓄積に努めた。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。

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めざしている。病原性大腸菌のように、常在菌が外来性の毒素産生能や薬剤耐性を獲得して、病原性を持つこともあるので、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。培養環境とヒト体内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。このような背景から、偏性嫌気性グラム陰性桿菌 *Fusobacterium varium* のゲノム解析を進めた。*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。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た。バイオテロ対策に役立てるため、炭疽菌プラスミドのゲノム情報を得た。

業　績

調査・研究

Ⅰ．遺伝子治療に用いるウイルスベクターに関する研究

1.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)高発現 AAV ベクターの開発

AAVS1-insulator を搭載し、ヒト EF1α プロモーターからルシフェラーゼを発現する AAV ベクターをマウス骨格筋に接種する実験を継続した。接種後4から24週間まで、insulator 搭載ベクターからは、insulator の向きや位置に依存せずに、対照の 1000 倍程度の高発現が認められた。発現量は、極めて転写活性が高い HCMV IE プロモーター／エンハンサーを用いた場合に匹敵した。insulator は筋肉での残存ベクターゲノム量、環状 DNA の割合に影響を与えないので、高発現は転写の昂進によると推定した。AAVS1-insulator は、HCMV IE プロモーター／エンハンサーからの転写をさらに昂進する機能は示さなかったが、転写活性が必ずしも高くない様々なプロモーターからの高発現に寄与する可能性がある。200 塩基長の AAVS1-insulator は、最大 4,500 塩基長のベクターゲノムしかパッケージできない AAV ベクターにおいて特に有意義なものである。(竹内隆正、内野繭代、神田忠仁)

(2) 抗 AAV 抗体による AAV 感染促進

ヒト単球系細胞株への AAV 感染における抗 AAV 抗体の影響を調べた。中和濃度以下に希釈したマウス抗 AAV 血清と AAV をインキューベートした後、単球系細胞株へ接種すると、2〜10 倍の感染促進が見られた。予め単球系細胞株と抗 Fcγ 受容体抗体を反応させると、抗 AAV 血清による感染促進は認められなかった。AAV 粒子へ結合した抗 AAV 抗体の Fc 部位が細胞表面の Fcγ 受容体に結合し、AAV の細胞への結合、侵入を促進するらしい。AAV が感染したサルでは、AAV ゲノムは主にリンパ系組織に検出される。AAV は宿主に強い免疫反応を引き起こさないので、生体内でも、少量の抗 AAV 抗体が Fcγ 受容体を持つ免疫系細胞への AAV 感染を助けていると考えられる。(森清一郎、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) HPV 後期プロモーターに結合する細胞蛋白質の同定

HPV 後期プロモーターの転写活性は感染角化細胞の分化に同調して制御され、未分化細胞では強く抑制されている。マイクロ磁気ビーズに結合させた HPV16 後期プロモーターの DNA 断片（250bp）と HeLa 細胞核抽出液を混合し、DNA と複合体を作った蛋白質を分離した。得られた蛋白質は MALDI/TOF-PMF 法による解析で nucleolin であることがわかった。nucleolin は核小体に豊富に存在する蛋白質で、HCV の複製に関与する。後期プロモーター内に nucleolin 結合配列に類似した配列が存在するので、nucleolin が HPV 後期プロモーターに結合し、転写活性を抑制する可能性が示された。(佐藤英貴、柊元　巌、石井克幸、神田忠仁)

(2) HPV DNA 複製における MCM 結合蛋白質の役割

これまでにヒト MCM7 蛋白質に結合する機能未知のヒト細胞蛋白質として MCM-BP 蛋白質を同定した。HPV の複製蛋白質 E1 は MCM7 蛋白質とアミノ酸配列の相同性があることから、HPV DNA 複製における MCM-BP 蛋白質の役割を検討した。293 細胞における HPV16 オリジンプラスミドの一過性複製を検出する実験系で、siRNA によって MCM-BP 蛋白質をノックダウンすると、オリジンプラスミドの複製量が増加した。MCM-BP 蛋白質が HPV 複製を負に制御している可能性がある。(柊元　巌、神田忠仁)

(3) HPV 生活環と角化細胞の分化における miRNA の役割

ヒト表皮角化細胞株である HaCaT 細胞の培養条件を詳細に検討し、未分化状態とインボルクリンを発現する分化状態を樹立した。この二つの状態の miRNA を網羅的に比較し、miR-210 の発現量が分化に伴って大幅に上昇することを見出した。miR-210 は細胞の YY1 の発現量を変動させ、HPV 初期プロモーターP97 の転写活性を抑制した。また、キャプシド蛋白質 L1 をコードする mRNA の安定性も未同定の miRNA によって調節されていることがわかった。HPV 遺伝子の発現調節に細胞の miRNA が重要な役割を果たしているらしい。
(Marita Overhoff、神田忠仁)

(4) HPV16 型 L1 蛋白質のシステイン残基が持つチオールの機能-2

昨年までに、HPV キャプシド蛋白質 L1 のチオールが感染の初期過程において重要な役割を果たすことを示した。このチオールが感染初期に起こる L1 分子間ジスルフィド結合の異性化に必要であることがわかった。異性化は HPV と細胞膜との結合に重要であり、異性化できない HPV は細胞表面に留まるか侵入しても排出されると考えられ

る。(石井克幸、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

(1) 型共通 HPV ワクチン開発に関する研究

昨年度までに、HPV16 型 L1 蛋白質に型共通の L2-エピトープを挿入して作製したキメラ VLP 抗原をアジュバントとともにウサギに免疫して得た抗血清が、複数の型の HPV を中和することを示した。臨床試験を念頭に、ヒトに使用実績がある水酸化アルミニウムを用いてキメラ VLP 抗原を沈降させ、ヒト接種相当量をマウスに筋注して免疫応答を調べた。得られた血清も HPV16、18、31、35、52、58 型を中和した。(近藤一成、島袋志保、森　清一郎、神田忠仁)

(2)ワクチン抗原候補キメラ VLP の精製

キメラ VLP を組み換えバキュロウイルスを用いて昆虫細胞で作った。凍結融解、超音波破砕、Benzonase による核酸の分解、フィルター濾過の後、カチオンイオン交換クロマトグラフィー (POROS 50HS) とゲル濾過クロマトグラフィー (Sephacryl S-300 HS) で精製した。この方法で 120 ml の培養系から約 97%の蛋白質純度のキメラ VLP を 1.27mg 得た。電子顕微鏡で粒子構造を確認した。残された課題は混入する細胞由来 DNA の除去で、還元剤によって解離させた状態で Benzonase を加えても 1mg のキメラ VLP 当たり 43.6ng の DNA が残った。DNA 結合能を持つ L1 のカルボキシ末端を欠失させたキメラ VLP の作製を試みたが、粒子を形成しなかった。(石井克幸、神田忠仁)

(3)HPV 中和抗体価測定系の作製

HPV の増殖する実用的な培養細胞系は無いため、HPV キャプシドにレポーターを組み込んだ感染性偽ウイルス (PsV) を使って抗体の中和活性を測定している。今年度は新たに、HPV35、51 型 PsV を作製した。HPV キャプシド蛋白質をコードする mRNA は未分化な通常の培養細胞では分解されてしまうので、アミノ酸配列は変えずに塩基配列を置換したコドン変異体が必要である。オーバーラップする 90 塩基の 1 本鎖 DNA を PCR で繋いでいく方法でコドン変異体遺伝子を合成した。HPV35、51 型 PsV は感染性を示し、中和抗体の測定系に使えることがわかった。(森　清一郎、近藤一成、島袋志保、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

昨年度に引き続き、ウイルス二部と共同で NoV のゲノム解析を行った。2006 年 11 月から 2008 年 2 月までに 19 の都道府県で発生したノロウイルス感染症例から 92 の糞便試料を回収した。80 の試料から NoV GII/4 ゲノム全長の塩基配列を得た。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った。75 (94%) の配列は、昨年冬期に日本とヨーロッパ諸国に流行した新型株 (GII/4 2006b 株) に近縁であったが、4 例の試料に、固有の遺伝子系統を示す GII/4 株が検出された。これらは、キャプシド蛋白質の最外郭ループ領域に複数のアミノ酸置換をもつ。抗原変異による流行拡大の可能性がある。引き続き、次年度も冬期の流行株を解析する。(本村和嗣、中村浩美、守宏美、岡智一郎[ウイルス二部]、武田直和 [ウイルス二部]、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 (敬称略)。田中智之 (堺市衛生研究所)、野田　衛 (国立医薬品食品衛生研究所)、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)、高橋朱実 (岩手県環境保健研究センター)、篠崎　邦子 (千葉県衛生研究所)、吉田　徹也 (長野県環境保全研究所)、滝澤剛則 (富山県衛生研究所)、東方 美保 (福井県衛生環境研究センター)、小林慎一 (愛知県衛生研究所)、内野清子 (堺市衛生研究所)、入谷　展弘 (大阪市立環境科学研究所)、飯塚　節子 (島根県保健環境科学研究所)、福田　伸治(広島県立総合技術研究所保健環境センター)、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)、岩切　章 (宮崎県衛生環境研究所)

(2) C 型肝炎ウイルス(HCV)のゲノム解析

HCV 持続感染維持とウイルスゲノム変異の関連を知るために、HCV 持続感染者のウイルスゲノムの網羅的解析を開始した。昭和大学医学部と共同で、持続感染症例 (インターフェロン治療例を含む)の血液試料を収集し、現在までに、28 症例についてゲノム全長 (約 9.6 kb) の塩基配列を得た。インターフェロン耐性を担う HCV 遺伝子について新たな知見が得られると期待している。(本村和嗣、中村浩美、守宏美、伊藤敬義[昭和大学医学部]、井廻道夫[昭和大学医学部]、佐藤裕徳、神田忠仁)

(3)ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) のゲノム解析

HIV-1 の薬剤耐性とウイルスゲノム変異の関連を知るために、治療前後の HIV-1 持続感染者のウイルスゲノム

の網羅的解析を開始した。国立国際医療センターと共同で、治療前後の HIV-1 の持続感染症例（薬剤治療例を含む）の血液試料を収集し、現在までに、18 症例についてゲノム全長（約 9.6 kb）の塩基配列を得た。薬剤耐性変異と連動する変異を同定することで、HIV-1 遺伝子の共進化について新たな知見が得られる。（本村和嗣、中村浩美、守宏美、潟永博之（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として、ブタ細胞中の PERV の全ゲノム解析を行なった。遺伝子改変ブタの卵巣細胞および末梢血リンパ球中の PERV プロウイルス DNA(ほぼ全長約 8.9 kb)をクローニングし、合計 19 のゲノム塩基配列を得た。また、卵巣細胞との共培養により樹立した PERV 感染 HeLa 細胞から、15 のゲノム塩基配列を得た。（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

病原体ゲノムデーターベースに、キーワード検索・BLAST 検索を行うための Web インターフェイスを付加した。ゲノム情報を基にウイルスの起源，多様性，変化等の解析を行なうためのツール（系統樹解析、エントロピー解析、同義置換・非同義置換解析、相互情報量解析）を作製し、Web インターフェイスの検索結果をもとに解析を実行する環境をつくった。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、HIV-1 の最新のゲノム情報を定期的に自動取得するための自動更新システムをデーターベースに付加した。（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)HIV-1 主要中和エピトープの立体構造解析

HIV-1 外被蛋白質 Gp120 の高度可変領域 V3 は、感染者の中和抗体の主要な標的である。V3 の電荷が+2～+4 であるとき、ウイルスは抗 V3 抗体中和抵抗性となることを見出した。電荷量の変化による V3 構造の変化を分子動力学計算に基づく構造解析により調べた。その結果、V3 の電荷が gp120 単量体における V3 の立体配置を制御することを見出した。中和抵抗性 V3（荷電量+2～+4）は stem 付近から折れ曲がった構造をとる。このため、中和エピトープが Gp120 三量体では遮蔽されることが予測された。（横山勝、長縄聡[横浜市立大学]、佐藤裕徳）

(2)サポウイルスプロテアーゼ複合体の構造解析

サポウイルス(SaV) プロテアーゼの基質認識に重要と考えられるアミノ酸を予測し、実験で検証した。計算機を用いて、SaV プロテアーゼドメインと基質の一部（ORF1 ポリプロテイン開裂部位近傍８アミノ酸）の複合体構造を構築した。結合様式を原子レベルで解析し、基質結合に関わる可能性のあるプロテアーゼのアミノ酸を特定した。結合には静電相互作用、π-π相互作用、疎水相互作用が関与すると考えられた。現在、これらの相互作用の意義について、変異導入解析を用いて調べている。（横山勝、岡智一郎[ウイルス２部]、片山一彦[ウイルス２部] 、武田直和[ウイルス２部]、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* Fv113 株のゲノム解析

潰瘍性大腸炎患者から分離された Fv113 株の全ゲノム塩基配列を調べている。平均 1.6 kb の DNA 断片を含んだ全ゲノムショットガンライブラリーより、12,454 個の約 700 bp の塩基配列を取得した。Illumina 社 Genome Analyzer では 16,351,103 本の 33 bp の塩基配列を取得した。得られた全ての塩基配列をアセンブルし、3,811 本の連結配列（コンティグ）を得た。コンティグの総塩基長は約 2.5Mb で、Pulsed-Filed 電気泳動から推定されるゲノム長と一致した。2,225 個の ORFs を抽出し、Blastp によって、蛋白質相同性を検索した。740 個（33%）が *Fusobacterium* 属と、142 個（6%）が大腸菌などの Proteobacteria と、664 個（30%）が *Clostridium* 属などの Firmicutes と最も高い相同性を示した。（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

網羅的に細菌フローラを同定する Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism（T-RFLP）法を用いて、健常人と細菌性膣炎患者の膣内フローラの比較解析を行っている。健常人では、デーデルライン桿菌である乳酸菌群の存在比率が高いが、膣炎患者では乳酸菌群の存在比率が低く、*Gardnerella* 属細菌および難培養性細菌が優位に存在することが示唆された。解析精度向上のため、T-RFLP 法の改良および新しい 16S リボソーム配列データベースの作成を検討している。（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)黄色ブドウ球菌の病原因子レギュレーター・Sar ファミリーの転写調節解析

黄色ブドウ球菌の病原性は、Sar ファミリーの複合的な転写調節系により制御されている。SarS 過剰発現は菌凝集を抑制するのに対し、SarT および SarU 過剰発現は強度の菌凝集を起こした。これら過剰発現体の転写プロファイルをマイクロアレイで解析したところ、*sarT* および *sarU* 遺伝子近傍にコードしている *sasG* 遺伝子の転写増強が明らかになった。(黒田　誠、関塚剛史)

(2)細胞壁架橋蛋白質 SasG による黄色ブドウ球菌の自己凝集の解析

SasG は、細胞壁架橋型蛋白質であり、菌凝集に直接起こす可能性が示唆された。*sasG* 遺伝子に変異を導入すると菌凝集が消失し、プラスミドにより *sasG* 遺伝子を相補すると菌凝集が回復した。SasG は A ドメインと８回の繰り返し B ドメインを持つが、A ドメインの相補でバイオフィルム・菌凝集の回復が見られた。組換え SasG-A 発現体を Native 電気泳動法およびフォルマリン架橋実験で分析したところ、4 もしくは 8 量体のホモ複合体を形成していることが分かった。これらの結果は、SasG が菌凝集・バイオフィルム形成を亢進し、臨床で見られる黄色ブドウ球菌の微小膿瘍の形成に関わっている可能性を示唆している。(黒田　誠、関塚剛史)

3．細菌のゲノム配列を用いた分子疫学調査

(1) *B. anthracis* の持つプラスミドの SNPs 及び変異領域の同定

国内の異なる地域、年代および家畜より分離された *B. anthracis* BA103 及び BA104 の 2 つのプラスミド［pXO1（181 kb）及び pXO2（95 kb)］の全塩基配列を調べた。約 700 本のプライマー・ウォーキング法により塩基配列を明らかにした。Ames Ancestor 株および BA103 株間の一塩基多型は、pXO1 で 7 カ所、pXO2 で 2 カ所存在し、塩基の欠失および挿入箇所は pXO1 で 6 カ所、pXO2 で 3 カ所存在した。Ames Ancestor 株および BA104 株間の一塩基多型は、pXO1 で 18 カ所、pXO2 で 11 カ所存在し、塩基の欠失および挿入箇所は、pXO1 で 5 カ所、pXO2 で 8 カ所存在した。国内分離株間におけるプラスミドの塩基配列の多様性が示唆された。(関塚剛史、黒田　誠、野口　章[獣医科学部]、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

日本分離株を含む所内保有炭疽菌 48 株を解析対象とした。ゲノムおよびプラスミド DNA 上の 8 カ所の VNTR(variable number of tandem repeats) 領域に対し、Multiple-locus VNTR analysis (MLVA)を行った。日本分離炭疽菌株は主に同一のアレルにタイピングされ、特有の遺伝型を示した。今後、17 カ所の VNTR 領域を加え、計 25 カ所の MLVA 解析を行い、日本株の詳細な遺伝型および地理的分布・由来について検討する。

(関塚剛史、黒田　誠、奥谷晶子[獣医科学部]、井上　智[獣医科学部])

(3)狂犬病ウイルスのゲノム配列を用いた分子疫学調査

2006 年にフィリピンで野犬に噛まれ、京都で狂犬病を発症し、死亡した患者の狂犬病ウイルス株（RO61117）のゲノム配列を調べた。一本鎖 RNA ウイルスゲノムから cDNA を調整し、固定毒 CVS 株の保存配列を参考にして計 6 箇所の領域（平均 4 kb）を PCR 増幅し、全ゲノム配列をカバーする DNA を調整した。プライマー・ウォーキング法により、5'末端側の 90 塩基および 3'末端側の約 340 塩基を除く 11,490 塩基長の配列を明らかにした。RO61117 株のゲノム配列は、固定毒 CVS 株に 84%の相同性を示し、フィリピンの野犬間で流行している狂犬病ウイルスとワクチン株間におけるゲノムの多様性が示唆された。(関塚剛史、黒田　誠、野口　章[獣医科学部]、井上　智[獣医科学部])

品質管理に関する業務

HPV ワクチンの承認前検査

欧米の製薬会社が開発した HPV ワクチンの承認前検査を担当した。安全性研究部、細菌 2 部と共同で、申請書類の精査を行い、記載不備の修正や検査項目の選定を進めた。(柊元　巌、神田忠仁)

国際協力関係業務

WHO HPV ラボラトリーネットワークへの参加

WHO は 2006 年の検討会において、HPV 感染の実態とワクチン導入のインパクトを世界規模で調査することを決め、情報収集を行う HPV ラボラトリーネットワーク（HPV ラボネット）を組織した。2007 年 9 月に病原体ゲノム解析研究センターは、西太平洋地域の Regional Reference Laboratory に指定された。これまでに HPV ラボネットにて標準化された HPV ジェノタイピング法の導入を進めている。(柊元　巌、神田忠仁)

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kondo, K., Ochi, H., Matsumoto, T., Yoshikawa, H., and Kanda, T.: Modification of human papillomavirus-like particle vaccine by insertion of the cross-reactive L2-epitopes. J. Med. Virol., 80:841-846, 2008.

2) Mori,S., Takeuchi,T., and Kanda, T.: Antibody-Dependent Enhancement of Adeno-Associated Virus Infection of Human Monocytic Cell lines. Virology, 357:141-147, 2008.

3) Mori,S., Takeuchi,T., Enomoto,Y., Kondo, K., Sato, K., Ono, F., Sata, T., and Kanda, T.:Tissue Distribution of Cynomolgus Adeno-associated Viruses AAV10, AAV11, and AAVcy.7 in Naturally Infected Monkeys. Arch. Viro., 153：375-380, 2008.

4) Takeuchi, T., Wang, L., Mori, S., Nakagawa, K., Yoshikura, H., and Kanda, T.: Characterization for Quality Control of Mouse 3T3-Swiss Albino Cells Available in Japan. Jap. J. Inf. Dis., 61:9-12, 2008.

5) Ishii, Y., Kondo, K., Matsumoto, T., Tanaka, K., Shinkai-Ouchi, F., Hagiwara, K., Kanda, T.: Thiol-reactive Reagents Inhibits Intracellular Trafficking of Human Papillomavirus Type 16 Pseudovirions by Binding to Cysteine Residues of Major Capsid Protein L1. Virology Journal, 4:110, 2007.

6) Sato, K., Takeuchi, T., Kukimoto, I., Mori, S., Yasugi, T., Takatani, Y., and Kanda, T.: Human Papillomavirus Type 16 P670 Promoter is Negatively Regulated by CCAAT Displacement Protein. Virus Genes, 35:473-481, 2007.

7) Fukushi S, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Taguchi F, Yokoyama M, Kurane I, Morikawa S: Amino acid substitutions in S2 region enhance SARS-CoV infectivity in rat ACE2-expressing cells. J. Virol. 81: 10831-10834, 2007.

8) Kubo Y, Yokoyama M, Yoshii H, Mitani C, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N: Inhibitory role of CXCR4 glycan in CD4-independent X4-tropic human immunodeficiency virus type 1 infection and its abrogation in CD4-dependent infection. J. Gen. Virol. 88: 3139-3144, 2007.

9) Kameoka M, Kitagawa Y, Utachee P, Jinnopat P, Isarangkura-na-ayuthaya P, Dhepakson P, Tokunaga K, Sato H, Komano K, Yamamoto N, Oguchi S, Natori Y, Nishimune Y, Sawanpanyalert P, and Ikuta K. Identification of the suppressive factors for human immunodeficiency virus type-1 replication using the siRNA mini-library directed against host cellular genes. Biochemical and Biophysical Research Communications 359: 729-734, 2007.

10) Motomura, K., Chen, J., and Hu, W.-H. Genetic recombination between human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and HIV-2, two distinct human lentiviruses. J. Virol. 82: 1923-1933, 2008.

11) Tanaka, Y., Sakamoto, S., Kuroda, M., Goda, S., Gao, Y. G., Tsumoto, K., Hiragi, Y., Yao, M., Watanabe, N., Ohta, T., and Tanaka, I. A helical string of alternately connected three-helix bundles for the cell wall-associated adhesion protein Ebh from Staphylococcus aureus. Structure, 16:488-496, 2008.

12) Higashide, M., Kuroda, M., Omura, C. T., Kumano, M., Ohkawa, S., Ichimura, S., and Ohta, T. Methicillin-resistant Staphylococcus saprophyticus Carrying Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Have Emerged in Urogenital Tract Infections. Antimicrob Agents Chemother, 2008 Mar 24. [Epub ahead of print]

13) Tanaka, Y., Kuroda, M., Yasutake, Y., Yao, M., Tsumoto, K., Watanabe, N., Ohta, T., and Tanaka, I. Crystal structure analysis reveals a novel forkhead-associated domain of ESAT-6 secretion system C protein in Staphylococcus aureus. Proteins, 69:659-664, 2007.

2. 和文発表

1) 神田忠仁、森清一郎：ヒトパピローマウイルスの遺伝子発現制御、ウイルス研究の現在と展望、蛋白質核酸酵素、52、1106-1112、2007

2) 神田忠仁：ヒトパピローマウイルス、感染制御、3（6)、539-544、2007

3) 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、日本性感染症学会誌、18(1)、20-27、2007

4) 神田忠仁：ヒトパピローマウイルス感染症と子宮頸がん、MEDICO、38(9)、297-300、2007

5) 村上 努、Heinrich G. G_ttlinger、森川裕子、駒

野　淳、梁　明秀、佐藤裕徳： Gag 蛋白質の輸送と機能の制御、日本エイズ学会誌、9、102-107、2007
6)　本村和嗣, 岡智一郎、佐藤裕徳： 2006 年に我が国に流行したノロウイルス GII/4 株のゲノム解析、食品衛生研究、57、19-26、2007
7)　本村和嗣, 岡智一郎, 中村浩美、守　宏美、Hansman Grant、横山　勝、片山和彦、神田忠仁、武田直和、佐藤裕徳：2006 秋冬期シーズンに流行したノロウイルス GII/4 株のゲノム解析、病原体微生物情報(IASR)、10 月号 3-4

II. 学 会 発 表

1.　国際学会

1) Kukimoto, I., Mori, S., Takeuchi, T., and Kanda, T.：The hSkn-1a POU transcription factor enhances DNA replication of human papillomavirus 16 through direct binding to two sites near the replication origin. 24th International Papillomavirus Conference (November 3-9, 2007, Beijing, China.)
2) 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.
3) Motomura K, Oka T, Grant H, Yokoyama M, Kanda T, Takeda N, Sato H . Genome analysis of norovirus GII4 variants spread in Japan during 2006-2007-winter season.　The 41th Annual Meeting of the US- Japan Cooperative Medical Science Program, Virology Panel Meeting, July 23-25, 2007, Baltimore, MD, USA.
4) Oka T, Yokoyama M, Yamamoto M, Miyashita K, Hansman GS, Katayama K, Takagi H, Tohya Y, Sato H, Takeda N. Structural and functional analysis of the calicivirus-encoded 3C-like proteases. The Third International Calicivirus Conference, November 3-6, 2007, Cancun, Mexico, Caribbean.
5) Tanaka T, Motomura K, Yamamoto M, Kanda T, Sato H, Oka T, Hansman GS,, Takeda N and Norovirus Surveillance Group of Japan.　Molecular epidemiology of Noroviruses during 2006-2007-winter season in Japan. The Third International Calicivirus Conference, November 3-6, 2007, Cancun, Mexico, Caribbean.
6) Naganawa S, Yokoyama M, Kitamura K, and Sato H. Self-masking of HIV-1 envelope V3 variants for neutralization escape. The third Japan-Germany HIV/AIDS Symposium.　November 26-27, 2007, Hiroshima, Japan.
7) Song H, Nakayama EE, Yokoyama M, Sato H, Levy JA, and Shioda T. A single amino acid of HIV-2 capsid determines its sensitivity to restriction by cynomolgus monkey and human TRIM5(s. The 3rd Japan-Germany HIV/AIDS Symposium.　November 26-27, 2007, Hiroshima, Japan.
8) Makoto Kuroda. In vivo expression of cell surface proteins in Staphylococcus aureus. Gordon Research Conference, staphylococcal diseases. Les Diablerets, Switzerland. Sep. 2-7/2007.

2.　国内学会

1) Kukimoto, I., Mori, S., Takeuchi, T., and Kanda, T.: The hSkn-1a POU transcription factor enhances DNA replication of human papillomavirus type 16. 第 66 回日本癌学会学術総会（2007 年 10 月、横浜）
2) Kondo, K., Ochi, H., Yoshikawa, H., and Kanda, T. Prophylactic vaccine against multiple high-risk human papillomaviruses. 第 66 回日本癌学会学術総会（2007 年 10 月、横浜）
3) Ishii, Y., Kondo, K., Matsumoto, T., Tanaka, K., Shinkai-Ouchi, F., Hagiwara, K., Kanda, T.: HPV 感染初期過程におけるキャプシド内遊離チオールの役割、第３０回日本分子生物学会年会・第８０回日本生化学会大会合同大会 (2007 年 12 月、横浜)
4)内野繭代、竹内隆正、森清一郎、神田忠仁：インスレーターあるいは MAR を搭載したアデノ随伴ウイルスベクター（rAAV）の開発、第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会　(2007 年 12 月、横浜)
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：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（2007 年 3 月、富山）
6) 本村和嗣, 岡智一郎, Hansman Grant, 横山勝, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳：2006-2007 シーズンに流行したノロウイルスのゲノム解析。衛生微生物技術協議会第 28 回研究会　シンポジウム（2007 年 7 月、岡山）
7) 本村和嗣, 岡智一郎, 中村浩美、守宏美、Hansman Grant, 横山勝, 片山和彦、神田忠仁, 武田直和、佐藤裕徳：

2006-2007 シーズンの冬期シーズンに流行したノロウイルス GII/4 のゲノム解析。第 5 回感染病態研究会（2007 年 9 月、熊本）

8）本村和嗣, 岡智一郎, 中村浩美、守宏美、Hansman Grant, 横山勝，片山和彦、神田忠仁，武田直和、佐藤裕徳："2006-2007 年の間に流行したノロウイルスのウイルスゲノム解析"。 第 19 回　ウイルス性下痢症研究会(2007 年 10 月、札幌）

9）横山　勝、岡智一郎、山本真民、宮下佳奈、 Hansman S. Grant、片山和彦、小川智子、神田忠仁、武田直和、佐藤裕徳：サポウイルスプロテアーゼ/ORF1 ポリプロテイン複合体の構造解析。第５５回日本ウイルス学会学術集会、ワークショップ（2007 年 10 月、札幌）

10）本村和嗣，岡智一郎，中村浩美、守宏美、Hansman Grant，横山勝，片山和彦、神田忠仁，武田直和、佐藤裕徳：2006-2007 年の間に流行したノロウイルスのウイルスゲノム解析。 第 55 回　日本ウイルス学会総会、ワークショップ（2007 年 10 月、札幌）

11）岡智一郎、横山勝、宮下佳奈、山本真民、Hansman S. Grant、片山和彦、小川智子、脇田隆字、佐藤裕徳、武田直和：カリシウイルスプロテアーゼの基質認識機構の共通性。第５５回日本ウイルス学会学術集会、ワークショップ（2007 年 10 月、札幌）

12）宋海，中山英美，横山勝，佐藤裕徳，塩田達男：A single amino acid of HIV-2 capsid determines its replication in the presence of cynomolgus monkey and human TRIM5_s. 第５５回日本ウイルス学会学術集会（2007 年 10 月、札幌）

13）久保嘉直、吉居廣朗、神山陽香、田中勇悦、佐藤裕徳、山本直樹：HIV-1 細胞内侵入における ERM ファミリー蛋白質の関与。第５５回日本ウイルス学会学術集会（2007 年 10 月、札幌）

14）吉居廣朗、神山陽香、佐藤裕徳、山本直樹、久保嘉直：エンドサイトーシス阻害剤の CD4 非依存性 HIV-1 感染に対する影響。第５５回日本ウイルス学会学術集会（2007 年 10 月、札幌）

15）神山陽香、吉居廣朗、佐藤裕徳、山本直樹、久保嘉直：HIV-1 感染における膜裏打ちタンパク質の関与に対する RNAi による網羅的解析。 第５５回日本ウイルス学会学術集会（2007 年 10 月、札幌）

16）福士秀悦，前田健，平井明香，新倉綾，山田靖子，横山勝，吉川泰弘，水谷哲也，酒井宏治，西條政幸，倉根一郎，森川茂：コウモリ由来 ACE2 を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析。第５５回日本ウイルス学会学術集会（2007 年 10 月、札幌）

17）福士秀悦，平井明香，新倉綾，山田靖子，前田健，吉川泰弘，横山勝，水谷哲也，酒井宏治，西條政幸，倉根一郎，森川茂：コウモリ由来 ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析. 第 7 回人と動物の共通感染症研究会学術集会　北里大学薬学部コンベンションホール（2007 年 11 月）

18）佐藤裕徳、横山勝、神田忠仁、早川　智、北村勝彦、長縄聡：HIV-1 CRF01_AE V3 の変異解析。第２１回日本エイズ学会学術集会、（2007 年 11 月、広島）

19）長縄聡、早川　智、北村勝彦、佐藤裕徳：HIV-1 CRF01_AE V3 の機能解析。第２１回日本エイズ学会学術集会（2007 年 11 月、広島）

20）横山勝，長縄聡，神田忠仁、佐藤裕徳.：HIV-1 CRF01_AE V3 の構造解析。第２１回日本エイズ学会学術集会（2007 年 11 月、広島）

21）鈴木康弘、横山　勝、佐藤裕徳、Promjunyakul Warunya、今村淳治、服部俊夫：CD4 非依存性 HIV-1 臨床分離株 SDA-1 の CD4 非依存性責任領域のコンピューター及び分子生物学的な解析。第２１回日本エイズ学会学術集会（2007 年 11 月、広島）

22）椎野禎一郎、佐藤裕徳、保科佳美、武部　豊：HIV-1 の RT 領域における遺伝子組換え価と突然変異率の多様性への寄与。第２１回日本エイズ学会学術集会（2007 年 11 月、広島）

23）黒田誠、東出正人、Carlos Takashi Omura、市村禎宏、太田敏子: βラクタム剤耐性 Staphylococcus saprophyticus の新規 SCCmec 構造。第 81 回日本細菌学会総会　（2008 年 3 月、京都市）

２２.総務部総務課図書室

図書室長（総務課長事務取扱） 山 内　久
編集委員長　倉 根　一 郎

概　要

平成 19 年 4 月 1 日付け組織改編により､附属図書館は総務部総務課図書室となり、総務課長の山内久が図書室長の事務を取扱うことになった。

図書室は､図書係および編集翻訳係の二係が配置され、図書係は研究資料の収集管理提供サービス全般を、編集翻訳係は機関誌 JJID（Japanese Journal of Infectious Diseases）の編集発行を所掌する。

[図書係]

平成 19 年度は、感染症全体として約 360 タイトルの雑誌を、約 300 冊の単行本を受け入れた。雑誌は印刷体のみ、電子ジャーナルのみ、印刷体＋電子ジャーナルと三種の契約形態が混在し、購読雑誌（約 250 タイトル）の約４割が戸山、村山、ハンセン三庁舎のマルチサイトによる電子ジャーナル契約であった。(実績表「雑誌、単行本受け入れ状況」参照)

なお今年度は約 90 タイトルの電子ジャーナルバックファイルコレクションを購入し、利用者のリファレンスワークの充実を行った。

厚生労働省が所管する研究機関、併設する（独）国立健康・栄養研究所、隣接する国立国際医療センターとネットワークを組み､文献相互貸借等を行っている｡また、上記以外にも多数の図書館ネットワークを利用し、多様な研究者の要求に応えている｡(実績表「文献相互貸借状況」参照)

所内限定であるが、年度末に「図書室のページ」を公開した｡「所蔵リスト」から雑誌の受け入れ状況や電子ジャーナルへのリンクを、その他図書室で行っているサービスを掲載し､研究情報環境の向上に取り組んだが､年々高騰を続ける外国雑誌購読費の恒常的確保、図書館管理システムの導入は毎年課題として残されている。

当図書室は、研究所に所属し所内研究者へのサービスを原則としているが、他に所蔵がない資料の提供等、事前連絡により対応を行っている。

[編集翻訳係]

平成 19 年度は vol. 60 no. 1-6 を刊行し、JJID ホームページにも全論文の PDF ファイルを載せた。3 月には Annual Report on Findings of Infectious Agents in Japan 2003 を vol. 57, Supplement として発行した。

本年度の編集委員の交代は、4 月上原至雅が退官し、宮﨑義継に替った。編集方針に変更はないが、競争入札による業者決定が前年度の 3 月中旬になり､2 号（4 月）の発行が困難になった。 そのため 5 月に 2－3 合併号を発行した。今後の円滑な発行のため年度の切替り時期を避け、従来の偶数月から奇数月（1、3、5、7、11 月)発行に変更することを決めた。

前年度に引き続き印刷体の削減ために、現在配布している国内外の機関に無償でオンラインが利用できることを周知した上で印刷体送付の継続を希望するか、アンケートを実施し、発行部数の削減に努めた。

創立 60 周年記念シンポジウムの演者及び 19 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。御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。

発行頁数（掲載論文数） no. 1/74 頁(22 編）、
2-3/86(26)､4/89(26)､5/87(23)､6/100(25)
発行部数　830→800 部　漸次削減
発送先　国内－大学、衛研等　220 機関
海外－大学、研究所等　450 機関
（約 75 ヵ国）
投稿論文数　感染研内　16 編
国内　59 編
海外　180 編
採択率　38%

実績表

雑誌、単行本受け入れ状況

平成19年度

	戸山		村山		ハンセン	
	洋書	和書	洋書	和書	洋書	和書
雑誌	**191**	**31**	**53**	**36**	**26**	**31**
購入	154	11	41	17	24	8
交換	32	5	-	-	-	-
寄贈	5	15	12	19	2	23
単行本	**52**	**12**	**97**	**129**	**2**	**2**
購入	50	-	85	99	2	-
寄贈	2	12	12	30	-	2

注：1　「交換」とは、ＪＪＩＤとの交換雑誌である。
　　2　国内発行英文雑誌は、雑誌の洋書へ含む。

文献相互貸借状況

平成19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	**819**	**539**	**237**	**380**	**-**	**25**
国立感染症研究所	**92**	**57**	**58**	**86**	**-**	**7**
戸山	・	・	57	86	-	6
村山	86	57	・	・	-	1
ハンセン	6	-	1	-	・	・
国立感染症研究所以外の機関	**727**	**482**	**179**	**294**	**-**	**18**
国立保健医療科学院	45	45	16	8	-	1
国立医薬品食品衛生研究所	237	6	28	10	-	2
国立国際医療センター	311	29	1	-	-	-
国立成育医療センター	-	-	-	-	-	-
(独)国立健康・栄養研究所	・	・	11	-	-	-
(独)動物衛生研究所	115	40	72	25	-	2
(独)畜産草研究所	14	12	3	4	-	-
(独)霊長類医科学研究センター	-	-	-	-	-	-
その他の国・県の機関((独)含)	-	8	-	2	-	-
地方衛生研究所	-	-	2	-	-	-
国公立病院	1	1	-	-	-	-
国公立大学図書館	2	296	3	218	-	9
国際医学情報センター	-	-	-	-	-	-
私立病院	-	-	2	-	-	-
私立大学図書館	2	31	1	20	-	3
企業	-	-	1	-	-	-
その他	-	14	39	7	-	1

注：戸山の(独)国立健康・栄養研究所に対する数は把握していない。

２３．ハンセン病研究センター

センター長　　森　　亨

概　要

新型インフルエンザに代表される感染症問題に対する世間の関心はますます高く、対策への要望にも厳しいものがある。そうしたなかにあって当研究センターはハンセン病およびその他の抗酸菌症に関する基礎的および臨床的研究および対策に関する研究をその第一の使命として掲げている。新たに発生するハンセン病患者の数は日本では平成１９年は１１名であったが、再発を含め後遺症に苦しめられている人々は全国的にその数十倍のオーダーでいる。さらに国内で発生する患者の国籍からも分かるように、グローバルにみると、未だに２５万を越える患者の新発生が報告されており(未報告件数はその数倍に達することであろう)、国や地域によってはそれらの患者に対する治療やケアがじゅうぶんとは言い難いのが現状である。当研究センターはすでに世界的視野に立ってハンセン病研究を推進してきたが、それは上記のような状況からくる当然の要請への応答である。

らい菌、それに対する生体の反応の研究は近年着実に前進しつつある。これは近年の結核菌やその他の抗酸菌に関する研究の進歩とあいまってのことであるが、このことはわれわれのらい菌やハンセン病の研究が他の抗酸菌や抗酸菌症の解明にも重要な還元を提供しうることを示している。後述する第二研究棟での研究がその意味で当研究センターの使命の遂行にあらたな貢献をすることが強く期待される。

市民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ことは当センターの重要な使命の一つである。このための恒例の「ハンセン病医学市民公開講座」を平成 １９年度の科学技術週間の事業の一環として４月１４日に行った。今年は結核に関して近隣の市民に話題の提供を行い、ハンセン病と共に忘れてならない感染症の問題への注意を喚起した。講義に続いて、らい菌および結核菌の顕微鏡像を自分の眼で見る体験をして、これらの病気への印象を深めていただいた。

第３０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４７人を集めて、全国から(国外からも１名) 招請した基礎・臨床・公衆衛生にわたるハンセン病医学の専門家を講師に、講義、実習、入所者等との交流などを含めて総合的･体系的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。参加者は、すでに学校で学ぶことができなくなって久しいこの領域にどっぷりと浸る希有な機会を堪能した。

国内であらたに発生する患者のほとんどが途上国からの入国者となっている現在、途上国のハンセン病問題は日本の国内の問題でもあり、当センターの重大なミッションとなっている。その意味で、１９８９年以来行われてきた国際協力機構（JICA）の委託による国際研修が昨年で閉鎖されたことは遺憾の極みである。ただし個々の職員による途上国での研究活動を通した国際協力はこれまで以上に取り組まれている（インドネシア、ミャンマーなど)。

なお、今年度はインドのハイデラバードで５年ぶりの国際ハンセン病学会が開催され、当センターからも５人が参加し、研究成果を発表した。

日本ハンセン病学会の第８０回総会が本年度は当センター石井生体防御部長が会長となって横浜市で開催された（５月１８日－１９日)。付帯して行われた公開市民シンポジウムも大勢の市民が参加し盛況であった。

１８年度に工事が開始され、途中設計の変更などを経たBSL-3 研究施設（第二研究棟）の建設は、工事再開後順調に進行している。来年度の竣工、運用開始に向けて、所内では職員・関係者の会議がいく度となく開催されている。また新施設の周辺環境に対する安全な運用について協議する「安全連絡協議会」委員の選出が周辺住民はじめ関係機関、有識者などの理解を得て進められている。

国内関係事業等

1. 第 30 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 20～24 日)。参加者数は 47 名（うち医師及び医学部学生が 10 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講義･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 30 日、6 月 7 日、10 月 11 日、2 月 6 日）
3. 「ハンセン病医学市民公開講座」の実施
   日時：平成 19 年 4 月 14 日（土）14:00〜15:30
   会場：ハンセン病研究センター講義室
   演題：「最近の結核について」
   講師：森　亨（ハンセン病研究センター長）
   来聴者数：約２０人

国際協力事業

１．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 19 年度（平成 19 年 4 月〜平成 20 月３月）の検査件数は表のごとく 99 症例、163 検査件数であった。なお、国立ハンセン病療養所から 52 症例（52 件）の血清検査の依頼があった。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。薬剤耐性検査は平成 19 年度からは薬剤耐性遺伝子検査を開始した。

47 症例（99 症例から血清検査のみの 52 症例を差し引いた症例数）の最終診断は、9 例は新規にハンセン病と診断、1 例は既にハンセン病と診断、8 例は PCR 検査のみ陽性で最終診断は主治医判断とし、29 例はハンセン病でなしと診断した。

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)、平成 18 年度：62 件}である。平成１９年度は 163 件であった。ハンセン病新規患者数は平成 19 年では 11 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。さらに、平成 19 年度の特徴は病理検査件数と PCR 検査件数が増加したことである。また、PCR 検査陽性例は全て薬剤耐性遺伝子検査を実施した。

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 19 年度（2007 年度）行政検査実績

年度	2007
年度	平成19
登録検査番号	119
総検査件数	163
病理学的検査件数	30
血清抗体価検査件数	68
PCR検査件数	47
薬剤耐性遺伝子検査件数	18
実症例数	99

らい菌の供給（松岡正典・天内 肇）

平成 19 年 4 月より同 20 年 3 月までの間において、のべ 26 回、47 匹、 5 施設（国内 4、国外 1）、10 名（国内 9、国外 1）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。

２３.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

当部は病原性抗酸菌に関する調査･研究を行っており、主にらい菌･結核菌･非結核性抗酸菌に関する発症機構、病態生理の解明、診断・治療・予防法の開発を中心とした研究業務を行っている。

ハンセン病に関する研究では、らい菌の細胞壁を構成する TDM 及び TMM を形成するミコール酸の組成に関する研究を行った。らい菌のミコール酸は、他の抗酸菌のそれと大きく異なり特殊な組成となっていることを明らかにした。ミコール酸の生合成に関わる遺伝子を破壊したリコンビナント BCG 株を作製することで、らい菌に極めて良く似たミコール酸組成を有する菌株を作製した。TMM は、抗酸菌の潜伏感染に関わる分子として注目されており、らい菌の細胞内寄生を司る因子の同定に繋がる可能性があり興味深い。

ハンセン病の血清診断法の開発においても、昨年までの研究成果を応用し、らい菌主要抗原の一つ Major Membrane Protein-II (MMP-II)を用いた新しい血清診断法の有用性を評価するための国際共同研究を、ベトナム及びミャンマーで展開した。ベトナムでは、日本人の保存血清を用いて行った成績とほぼ同様の結果が得られ、多菌型ハンセン病患者の約 85%、少菌型ハンセン病患者の約 50%を MMP-II を用い血清診断可能であった。従来の PGL-I 抗原を用いた方法では、正常健常者とハンセン病患者を明確に識別できないことが明らかになり、MMP-II 抗原の有用性が浮き彫りになった。

ハンセン病に対するワクチンの開発研究では、改良型 BCG を 2 つの方法で作製した。第 1 は、BCG が感染した抗原提示細胞内で BCG から主要抗原である MMP-II を分泌する菌株で、ライソゾームによるタンパク分解を受けやすい特性を有する。本 MMP-II 分泌型 BCG は、従来の BCG に比し、マウス生体内においてらい菌の増殖をより強く抑制した。BCG は urease を保有するために、細胞内で尿素窒素からアンモニアを産生し、ファゴゾームの pH 環境を中性ないしアルカリ性に保つために、ライソゾームとの融合を阻止することが知られている。そこで、第 2 の方法として、BCG のウレアーゼ遺伝子を除去し、BCG が感染した際にファゴゾームの pH をより酸性にしライソゾームとの融合を容易にするリコンビナント BCG（BCG-ΔUT）を作製した。BCG-ΔUT は、マクロファージ・樹状細胞など抗原提示細胞を介して、CD4 陽性 T 細胞を強く活性化した。したがって、第 2 の方法も極めて有効に作用する可能性があると考えられた。ハンセン病に対する免疫療法の開発を目的として、当部で同定したリポタンパク（LpK）からリポペプチドを合成し、免疫療法剤としての有効性に関する評価を行った。リポペプチド（LipoK）は樹状細胞を強く活性化すると同時に免疫原性に富んだエキソゾーム産生誘導することが明らかになった。免疫療法開発においても新たな進展が見られた。

非結核性抗酸菌の研究では、*M. avium* complex (MAC) の Glycopeptidolipid (GPL)の生合成経路の研究を継続して行った。非結核性抗酸菌 *M. smegmatis* にも GPL は存在し、最もシンプルな形状を示しているが、ここに種々の遺伝子が作用すると芋づる的に様々な MAC の血清型を規定する GPL が産生されることを明らかにした。事実、数種の GPL 血清型の生合成経路が判明した。その過程を網羅的に解析することにより、より病原性に富んだ MAC の病原性を規定する責任遺伝子が明らかになると期待されている。

最後に人事であるが、第一室宮本友司研究員が 4 月 1 日付で主任研究官に昇任し、山崎利雄主任研究官が 11 月 1 日付でバイオセーフティー管理室へ移動した。4 月 1 日より下袴田陽子が研究生として、7 月 1 日より奥村香世と祝弘樹が協力研究員として加わった。

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 4 型血清型由来 Glycopeptidolipid (GPL) の生合成経路の解析

代表的非結核性抗酸菌である *Mycobacterium avium* complex の 4 型血清型株は他の血清型株に比べ強い病原

性を持つとされるが、本血清型を規定している GPL の生合成経路は明らかではない。そこで、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* において発現解析を実施した。その結果、4 型 GPL の生合成への関与が予測される遺伝子群を同定した。

[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．*Mycobacterium intracellulare*　血清型 12 に特異的な GPL 構造を規定するメチル基転移酵素遺伝子の同定

Mycobacterium avium complex(MAC)は菌体が持つ糖脂質 GPL の糖鎖構造により現在 31 種の血清型に分類されているが、血清型 12 の GPL 合成に関与する遺伝子領域 15.6kb の塩基配列を決定した結果、二つの新たなメチル基転移酵素遺伝子と考えられる ORF が見つかった。これら機能の検証を行ったところ、12 型特異的構造を作り出す遺伝子であることが示された。

[中田登、藤原永年（大阪市立大)、前田伸司（結核研究所)、牧野正彦]

３．*Mycobacterium intracellulare*　血清型 16 の GPL 合成遺伝子領域の解析

Mycobacterium avium complex 血清型 16 の GPL 合成に関与する遺伝子領域 23.0kb の塩基配列を決定し解析した結果、この領域には 17 の血清型特異的 ORF が存在し、これらの ORF を 1 型 MAC に導入したところ 16 型特異的構造を持つ GPL が作り出されたことから、この領域が 16 型特異的糖鎖構造を作り出していることが示唆された。

[中田登、藤原永年（大阪市立大)、前田伸司（結核研究所）牧野正彦]

４．らい菌由来糖脂質の解析

らい菌由来糖脂質を高性能の質量分析装置（MALDI-TOF Mass）を用いて調べたところ、結核菌および BCG 菌の糖脂質、TDM 及び TMM と同等のものを同定した。これら糖脂質はらい菌からの収量が著しく悪いことから、らい菌と同じミコール酸のサブクラスを持つ BCG 菌コンノート株より 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した。さらによりらい菌に類似した糖脂質を得るために BCG 菌コンノート株のミコール酸合成系の遺伝子 mmaA4 の破壊株を作成し、変異株 TMM 及び TDM の解析を行い、らい菌のものにより類似していることを確認した。

［甲斐雅規、宮本友司、向井　徹、藤田由希子（BCG 中央研究所)、矢野郁也（BCG 中央研究所)、牧野正彦］

５．らい菌２成分情報伝達系の解析

らい菌の２成分情報伝達系のうち、SenX3-RegX3 を解析し、RegX3 が構造上も機能的にも不完全であることを見出した。らい菌 SenX3 のプロモーターが機能していることを lacZ プロモーター活性測定から、また RegX3 がプロモーター領域に結合することをゲルシフトアッセイで明らかにした。SenX3-RegX3 のタンパク相互作用の詳細を明らかにするため、M-PFC（Mycobacterial protein fragment complementation）法を確立し、コントロールタンパクを用い利用可能であることを確認した。現在 SenX3 及び RegX3 と相互作用するタンパク質の検索を行っている。

[甲斐雅規、牧野正彦]

６．らい菌 Thai53 株ゲノム情報から検索した SNPs 解析

全ゲノムシークエンスが報告されたらい菌 TN 株と当センターを中心に日本国内のハンセン病研究に維持、使用されている Thai53 株ゲノムシークエンス（部分）との比較から新しい SNPs を十数カ所発見した。さらにこれまで報告された SNPs や 11 ミニサテライト及び 33 マイクロサテライトとの組合せによる臨床検体の疫学的解析を行っている。

［甲斐雅規、中田　登、松岡正典（生体防御部)、椎名　隆（東海大学)、猪子英俊（東海大学)、牧野正彦］

II. 生体防御機構とワクチン開発に関する研究

１．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-I 抗体価が(±)を示した。継続して観察を行っている。

[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．シュワン細胞を用いた神経障害機構の解明

らい菌のシュワン細胞への感染がヒト末梢神経障害の誘導に深く関与しているが、その障害機構は未だ不明である。種々のサル由来シュワン細胞株を樹立し、サイトカイン産生能を検討した。今回新たにヒト由来のシュワ

ン細胞を入手することができたので、サル由来シュワン細胞との違いを比較検討した。その結果、サルシュワン細胞と同様に、ヒトシュワン細胞では、MHC クラスⅠ抗原の発現は見られたが TLR2 などの発現は見られなかった。しかしながら、らい菌感染により、ヒトシュワン細胞では MHC クラス II 抗原の発現が見られた。さらに、らい菌感染により、IL-6 などのサイトカイン産性が誘導された。

[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．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

ハンセン病において、LL 型ではらい菌が宿主細胞であるマクロファージ内で増殖するが TT 型では殺菌される。殺菌にはマクロファージの活性化が大きく関与しているが、その機構について詳細は不明である。らい菌が宿主内で殺菌される機構を解明することを目的として、*in vitro* においてヒト末梢血単球由来マクロファージ内におけるらい菌の動態を探った。その結果、35 度での培養下、IFN-γ存在下で培養した M-CSF 誘導マクロファージに抗らい菌活性（らい菌の代謝活性減少）が誘導され、この時スーパーオキサイドを産生する NADPH オキシダーゼの発現が増強していることが判明した。また、殺菌分子としての酸化窒素の関与は少ないことが判明した。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

４．ヒトマクロファージ内におけるらい菌の生存機構

35 度で培養したらい菌感染ヒトマクロファージにおいて、IL-10 添加によりらい菌の代謝活性はより長期間維持されていた。らい菌感染マクロファージ中の各種 phox タンパクの発現を調べたところ、IL-10 存在下で培養すると p22-phox と p67-phox の発現が低下していた。一方、SOD の発現には変化が見られなかった。phox は殺菌作用を発揮するスーパーオキサイドを産生する酵素であり、SOD はスーパーオキサイドをスカベンジする酵素である。IL-10 により phox 発現が抑制され殺菌作用が低下したことがらい菌の代謝活性維持につながった可能性があり、病巣で IL-10 が発現している多菌型ハンセン病におけるらい菌増殖機構の一因が示された。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

５．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。同 BCG により薬剤耐性遺伝子の除去を行い、らい菌蛋白の分泌型と非分泌型のクローンを作製した。Urease 破壊株は、酸性酵素により分解され、また、らい菌蛋白の発現に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]

６．らい菌由来リポ蛋白 LpK の免疫学的機能解析

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。これまで LipoK は、樹状細胞を成熟化し、らい菌抗原を T 細胞に提示することによって免疫応答を引き起こすことを明らかにしてきた。さらに LipoK は TLR2 を認識し、パーフォリン及びグランザイム B を分泌する CD8 陽性 T 活性を活性化した。その活性化には、CD4 陽性 T 細胞の存在が必須であった。パーフォリン及びグランザイム B はらい菌感染細胞を破壊するために、重要であると考えられる。従って、lipoK は免疫療法用分子として活用でき、標的感染細胞を死滅させることより生体防御に働く可能性が示唆された。

[前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦]

７．新規結核ワクチン開発のための基礎研究

ワクチンの目的は獲得免疫を惹起し、長期生存型細胞障害性 CD8 記憶細胞を誘導することである。そこで、細胞障害性 $CD8^+$ T 細胞の活性化における $CD4^+$ T 細胞と抗原提示細胞(APC)との相互作用の役割に関して解析した。その結果、$CD8^+$ T 細胞の増殖誘導には Th1、Th2 細胞に依らず活性化 $CD4^+$ T 細胞との相互作用によって誘導される APC 上の表面分子が重要であること、$CD8^+$ T 細胞の細胞障害性機能の発現には Th1 型活性化 $CD4^+$ T 細胞との相互作用によって誘導される APC の活性化が重要であることを見出した。

[田村敏生、下袴田陽子、高津聖志(富山県薬事研究所)]

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 skin smear サンプルを用い、PCR 法により遺伝子検出の比較検討を行った。その結果、一致率は 93%であり、安定した検出率を示した。

[向井　徹、松岡正則(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

これまでに血清診断用の抗原として、Major Membrane Protein-II（MMP-II）の有用性を検討してきた。今回、新たにMMP-II抗原を大腸菌で作製したので、ELISA法で患者血清中の抗体値を検討した。その結果、以前報告したMMP-IIキメラ蛋白(MBP-MMPII)を用いた場合、最も高いELISA値を示したことから、MMP-II蛋白の構造認識部位をよりnativeな構造に保つためには、キメラとすることが望ましいと考えられた。

[前田百美、向井徹、甲斐雅規、John Spencer (Colorado State University)、牧野正彦]

３．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・殺りくに重要な役割を果たしているマクロファージ(Mφ)の一酸化窒素(NO)産生は、$CD4^+$T細胞が産生するIFN-γ、TNF-αや、CD40-CD40Lを介したMφ-$CD4^+$T細胞間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、BCG感染によるMφのNO産生誘導機構を検討した。その結果、BCG感染Mφには IFN-γやCD40-CD40Lを介さない$CD4^+$T細胞との相互作用によって誘導される即時型のNO産生機構とTLRを介したBCG認識による遅延型の NO 産生機構が存在する可能性があることを見出した。

[田村敏生、牧野正彦]

４．クロファジミンにより誘導されるマクロファージの細胞死とcaspase等細胞内情報伝達分子の動態

ハンセン病に用いられる化学療法剤、クロファジミンにはらい菌に対する抗菌作用に加え、らい反応などを抑制するなど抗炎症作用が報告されている。この機序については不明な点が多い。健常人末梢血単球由来ヒトマクロファージやヒトTHP-1細胞株をクロファジミン存在下にて培養するとDNA断片化を伴った細胞死が誘導されることを見出した。クロファジミン添加細胞ではcaspase 3活性が著明に上昇していた。タンパクレベルでもcleavageされた活性型caspase 3や9の著明な発現増強が確認された。DNA修復酵素PARPのcleavage(不活性化)も観察された。以上から、クロファジミンによる細胞死はアポトーシスに特徴的なcaspaseの活性化や関連分子の発現、もしくは不活性化を伴っていることが明らかとなった。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

Ⅳ. 薬剤耐性らい菌に関する研究

１．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遺伝子の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しばしば塩基配列決定が困難な例や陰性だが、臨床上耐性が疑われる例があり、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、保存臨床検体DNA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。現在さらに臨床上耐性が疑われる例および薬剤治療効果が見られないが耐性変異が発見されていない例を調査している。

［甲斐雅規、松原久美子、牧野正彦］

国際協力関係業務

Ⅰ．ベトナム国との国際共同研究

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。また、本法を用い患者および患者接触者のモニターを行った結果、患者の治療経過に伴い血清抗体価が減少することおよび接触者で数年後に発症した９例のうち２例が顕著に発症前１～２年で血清抗体価が上昇することを観察した。また、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(Quyhoa hospital, Vietnam), Nguyen Thangh Tan(Quyhoa hospital, Vietnam), 牧野正彦］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1．欧文発表

1) Makino, M., Y. Maeda, Y. Fukutomi, and T. Mukai. Contribution of GM-CSF on the enhancement of the T cell-stimulating activity of macrophages. Microbes and Infect., 9:70-77, 2007.

2) Maeda, Y., T. Mukai, M. Kai, Y. Fukutomi, H. Nomaguchi , C. Abe , K. Kobayashi, S. Kitada, R, Maekura, I. Yano, N. Ishii, T. Mori, and M. Makino. Evaluation of major membrane protein-II

as a tool for serodiagnosis of leprosy. FEMS Microbiol. Lett., 272:202-205, 2007.

3) Miyamoto, Y., T. Mukai, Y. Maeda, N. Nakata, M. Kai, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. Characterization of the fucosylation pathway in the biosynthesis of glycopeptidolipids from *Mycobacterium avium* complex. J. Bacteriol., 189(15):5515-5522, 2007

4) Kai, M., Y. Fujita, Y. Maeda, N. Nakata, S. Izumi, I. Yano, and M. Makino. Identification of trehalose dimycolate (cord factor) in *Mycobacterium leprae*. FEBS Lett., 581:3345-3350, 2007.

5) Duthie, M. S., W. Goto, G. C. Ireton, S. T. Reece, L. P. Cardoso, C. M. Martelli, M. M. Stefani, M. Nakatani, R. C. de Jesus, E. M. Netto, M. V. Balagon, E. Tan, R. H. Gelber, Y. Maeda, M. Makino, D. Hoft, and S. G. Reed. Leprosy diagnosis: early serological detection with protein antigens. Clin. Vaccine Immunol., 14:1400-1408, 2007.

6) Fujiwara, N., N. Nakata, T. Naka, I. Yano, M. Doe, D. Chatterjee, M. McNeil, P. J. Brennan, K. Kobayashi, M. Makino, S. Matsumoto, H. Ogura, and S. Maeda. Structural analysis and biosynthesis gene cluster of an antigenic glycopeptidolipid from *Mycobacterium intracellulare*. J. Bacteriol., 190:3613-3621, 2008.

7) Yasuda, T., K. Bundo, A. Hino, K. Honda, A. Inoue, M. Shirakata, M. Osawa, T. Tamura, H. Nariuchi, H. Oda, T. Yamamoto, and Y. Yamanashi. Dok-1 and Dok-2 are negative regulators of T cell receptor signaling. Int. Immunol., 19:487-495, 2007.

8) Wolf, A.J., B. Linas, G.J. Trevejo-Nuñez, E. Kincaid, T. Tamura, K. Takatsu, and J.D. Ernst. *Mycobacterium tuberculosis* infects dendritic cells with high frequency and impairs their function in vivo. J. Immunol., 179: 2509-2519, 2007.

9) Ariga, H., Y. Shimohakamada, M. Nakada, T. Tokunaga, T. Kikuchi, A. Kariyone, T. Tamura, and K. Takatsu. Instruction of naive $CD4^+$ T-cell fate to T-bet expression and T helper 1 development : roles of T-cell receptor-mediated signals. Immunology, 122:210-221, 2007.

10) Nakata, N., N. Fuiwara, T. Naka, I. Yano, K. Kobayashi, and S. Maeda. Identification and characterization of two novel methyltransferase genes that determine the serotype 12-specific structure on glycopeptidolipids of *Mycobacterium intracellulare*. J. Bacteriol., 190:1064-1071, 2008.

11) Wolf, A.J., L. Desvignes, B. Linas, M. Banaiee, T. Tamura, K. Takatsu, and J.D. Ernst. Initiation of the adaptive immune response to *M. tuberculosis* depends on antigen production in the local lymph node, not the lungs. J. Exp. Med., 205:105-115, 2008.

12) Xu, W., T. Tamura, and K. Takatsu. CpG ODN mediated prevention from ovalbumin-induced anaphylaxis in mouse through B cells pathway. Int. Immunopharmacol., 8:351-361, 2008.

13) Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, Y. Miyamoto, and M. Makino. $CD4^+$ T cell activation by antigen-presenting cells infected with urease-deficient recombinant BCG. FEMS Immunol. Med. Microbiol., in press, 2008.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Contribution of GM-CSF on the enhancement of the T cell-stimulating activity of macrophages. Makino, M., Y. Maeda, Y. Fukutomi, T. Mukai, and T. Mori. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 42nd Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Zengzhou, Henan, China, September 12-14, 2007.

2) Detection of *M. leprae* DNA in nasal swab samples by LAMP method. Mukai, T., S. Izumi, C. Rosita, I. Agusni, Y. Miyamoto, M. Matsuoka, and M. Makino. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 42nd Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Zengzhou, Henan, China, September 12-14, 2007.

3) Clofazimine-induced cell death in human and mouse macrophages. Fukutomi, Y., Y. Maeda, and M. Makino. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 42nd Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Zengzhou, Henan, China, September

12-14, 2007.

4) Enhancing effect of Peptide-25 on the induction of functional activation of $CD8^+$ cytotoxic T lymphocytes. Tamura T., A. Kariyone, Y. Shimohakamada, T. Tokunaga, and K. Takatsu. 42nd Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Zengzhou, Henan, China, September 12-14, 2007.
5) Clofazimine-induced cell death in macrophages. Fukutomi, Y., Y. Maeda, and M. Makino. 17th International Leprosy Congress, Hyderabad, India, 31 January-4 February, 2008.
6) Application of new serological test for leprosy in Vietnam. Kai. M., N. P. N. Ha, Y. Fukutomi, Y. Miyamoto, Y. Maeda, T. Mukai, N. T. Tan, and M. Makino. 17th International Leprosy Congress, Hyderabad, India, 31 January-4 February, 2008.
7) Lipopeptide (LipoK) of *Mycobacterium leprae* activated antigen presenting cells and type 1 T cells. Maeda, Y., T. Tamura, Y. Fukutomi, M. Kai, and M. Makino. 17th International Leprosy Congress, Hyderabad, India, 31 January-4 February, 2008.
8) Inhibition of the multiplication of *Mycobacterium leprae* vaccination with a recombinant BCG that secretes major membrane protein-II of *M. leprae*. Makino, M., Y. Maeda, M. Matsuoka, and T. Tamura. 17th International Leprosy Congress, Hyderabad, India, 31 January-4 February, 2008.
9) Utility of MMP-II for diagnosis of leprosy. Maeda, Y., M. Kai, Y. Fukutomi, and M. Makino. 17th International Leprosy Congress, Pre-workshop, New Diagnostics and Molecular Epidemiology, Hyderabad, India, 31 January-4 February, 2008.
10) Search for Mycobacterium leprae antigens for sero-diagnosis. Kai, M., Y. Maeda, Y. Fukutomi, and M. Makino. 17th International Leprosy Congress, Pre-workshop, Future Research Needs, Hyderabad, India, 31 January-4 February, 2008.
11) Application of new serological test for leprosy in Vietnam. Kai, M., P.N.H. Nguyen, Y. Fukutomi, Y. Miyamoto, Y. Maeda, T. Mukai, T.T. Nguyen, and M. Makino. 17th International Leprosy Congress, Pre-workshop, Future Research Needs, Hyderabad, India, 31 January-4 February, 2008.

2. 国内学会

1) クロファジミンによるマクロファージの細胞死とcaspase 活性化. 福富康夫, 前田百美, 牧野正彦. 第80回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2007年5月　横浜
2) 変異検出におけるダイレクトシークエンスとクローン化シークエンスの相違. 甲斐雅規, 倉繁昌浩, 松原久美子, 中田　登, 牧野正彦. 第80回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2007年5月　横浜
3) LAMP法によるらい菌遺伝子検出の応用. 向井　徹, 和泉眞蔵, 宮本友司, Cita Rosita, Indropo Agusni, 松岡正典, 牧野正彦. 第80回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2007年5月　横浜
4) 結核菌分泌蛋白による Th1 分化誘導機構の解析：TCR による抗原認識の役割. 下袴田陽子, 田村敏生, 牧野正彦, 高津聖志. 第90回日本細菌学会関東支部総会　2007年10月　東京
5) *Mycobacterium avium* complex における fucose 含有糖脂質抗原の生合成解析. 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. 第 90 回日本細菌学会関東支部総会 2007年10月　東京
6) P25 $CD4^+$ T 細胞活性化とクロスプライミング増強の解析. 刈米アイ, 田村敏生, 高津　聖志. 第 37 回日本免疫学会総会･学術集会 2007年 11月 東京
7) 結核菌に対する肺免疫応答の遅延と IL-10 の影響. Yahagi, A., M. Umemura, T. Tamura, D.M. Begum, S. Hamada, K. Oshiro, Y. Okamoto, A. Kariyone, K. Takatsu, and G. Matsuzaki. 第37回日本免疫学会総会・学術集会 2007年 11月 東京
8) ヒトマクロファージにおける抗らい菌活性誘導. 福富康夫, 牧野正彦. 第 37 回日本免疫学会総会 2007年12月　東京
9) *Mycobacterium intracellulare* 由来血清型 7、12 型 glycopeptidolipid 糖鎖合成遺伝子の機能解析. 藤原永年, 中田　登, 前田伸司, 中　崇, 水野淨子, 牧野正彦, 松本壮吉, 矢野郁也. 第81回日本細菌学会総会　2008年3月　京都
10) *Mycobacterium intracellulare* 血清型 12 の glycopeptidolipid 生合成遺伝子領域の解析. 中田登, 藤原永年, 前田伸司, 中　崇, 矢野郁也, 小林和夫, 牧野正彦. 第81回日本細菌学会総会　2008年3月　京都
11) *Mycobacterium avium* complex 血清型 8 型株におけ

る糖脂質抗原の生合成経路の解析. 宮本友司, 向井徹, 甲斐雅規, 前田百美, 中　崇, 矢野郁也, 牧野正彦. 第 81 回日本細菌学会総会　2008 年 3 月　京都

12) クロファジミンにより誘導されるマクロファージの細胞死と caspase 等細胞内情報伝達分子の動態. 福富康夫, 前田百美, 牧野正彦. 第 81 回日本細菌学会総会　2008 年 3 月　京都

13) 遺伝子破壊による BCG 菌ミコール酸のサブクラス変換. 甲斐雅規, 宮本友司, 向井　徹, 矢野郁也, 牧野正彦. 第 81 回日本細菌学会総会　2008 年 3 月 京都

14) LipoK の細胞障害性 T 細胞の活性化及びエキソゾーム産生に及ぼす影響. 前田百美, 田村敏生, 福富康夫, 牧野正彦. 第 81 回日本細菌学会総会　2008 年 3 月　京都

15) 結核菌肺感染における免疫応答制御機構への抑制性サイトカインの関与. 矢作綾野, 梅村正幸, 田村敏生, D.M. Begum.　大城清哲, 岡本祐子, 刈米アイ, 高津聖志, 松崎吾朗. 第 81 回日本細菌学会総会 2008 年 3 月 京都

２３．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

世界のハンセン病新規患者数はピークを超え減少に向かっているが、ハンセン病の病態解明など基礎研究は未だその途上にあり、治療に関しても薬剤耐性菌や、らい反応、さらには末梢神経障害など対応を迫られる課題は多い。

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。近年では新規抗菌薬の開発による治療期間の短縮、耐性菌の早期発見など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。新規ニューキノロン系抗菌薬 DC-159a の抗らい菌活性を Buddemeyer 法で検討したところ、感受性らい菌(Thai-53 株)や多剤・キノロン耐性らい菌(Zensho-4 株)において最も強い抗らい菌活性を示した。また、テトラサイクリン系抗菌薬 doxycycline(DOXY)の抗らい菌活性を検討したところ、抗らい菌活性は弱かったが、血中半減期が 12 時間と長く、組織移行性に優れていた。

ハンセン病の後遺症において重要である末梢神経のシュワン細胞に関して、ミエリンの形成に関わる因子ならびに後根神経節神経細胞(DRGs)との相互作用の解析を行ったところ、各種増殖因子のうち nerve growth factor(NGF)が重要であることが示された。

らい菌ゲノム全域をカバーするタイリングアレイと ORF アレイの比較検討を行い、らい菌に発現する遺伝子の全体像を明らかにした。皮膚スメア検体から抽出した RNA でそれらの発現を確認したところ、病型や治療効果によって RNA 発現パターンが異なることが示された。

また、らい菌の細胞内寄生機構に関する研究として、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。TLR2 と CORO1A は機能的に拮抗していることが明らかとなり、両因子のバランスが抗酸菌感染症の予後に影響を与えるものと考えられた。

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。

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。ハンセン病の行政や医療などの質の向上、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。日本におけるハンセン病の新患数の把握と統計学的解析を行ったところ、新規患者数は減少し、2005 年からは日本人の新患は年間 0 ないし 1 人になってきた。一方、在日外国人は毎年 5～10 人で推移していた。今後、外国人労働者が日本で増加することが予想されるので、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診療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」を出版し、皮膚科医に対する講習・実習なども実施した。

さらに新規感染防止策の構築に資することを目的として、ハンセン病の感染様式・感染源について解析を行った結果、流行地域では住民が使用する生活用水からの感染の可能性が示された。東南アジアの高有病率を示す地域において研究が継続されている。

日本が国際的にハンセン病対策に協力することも重要である。従来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、neglected tropical disease として 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。ブルーリ潰瘍に有効な治療薬・ワクチン等の開発を目的として、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するとともに末梢神経傷害と毒性脂質マイコラクトンの関係を明らかにした。

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. 抗ハンセン病の薬剤に関する研究

１．DC-159a の抗らい菌活性

治療期間の短縮と多剤耐性に対処するため、新規ニューキノロン系抗菌薬 DC-159a の抗らい菌活性を、Buddemeyer 法で検討した。感受性らい菌(Thai-53 株)に対する DC-159a の抗らい菌活性は、DC-159a＞MFLX＞SPFX＞GFLX＞LVFX の順で、ニューキノロン中で最も強い抗らい菌活性を示した。また多剤・キノロン耐性らい菌(Zensho-4 株)に対する DC-169a の抗らい菌活性は、DC-159a＞MFLX＞SPFX の順で、多剤・キノロン耐性らい菌に対し交差耐性を示さず強い抗らい菌活性を認めたことからキノロン耐性患者への適用が示唆された。

[儀同政一、松岡正典]

２．Rifabutin の抗らい菌活性

治療期間の短縮と多剤耐性に対処するため、新規リファマイシン系抗菌薬 rifabutin(RFB)の抗らい菌活性を、Buddemeyer 法で検討した。感受性らい菌(Thai-53 株)に対する RFB の抗らい菌活性は RFB≫RFP＞MFLX の順で RFP より 16～64 倍強い抗らい菌活性を示したことから、治療期間の短縮、間欠併用療法への導入が示唆された。また多剤耐性らい菌(Zensho-4 株)に対する RFB の抗らい菌活性は、DC-159a＞MFLX＞RFB＞RFP の順で、多剤耐性らい菌に対する抗らい菌活性は弱く交差耐性を認めた。

[儀同政一、松岡正典]

３．Doxycycline の抗らい菌活性

治療期間の短縮、薬剤耐性、副作用軽減に対処するため、テトラサイクリン系抗菌薬 doxycycline(DOXY)の抗らい菌活性を、Buddemeyer 法で検討した。感受性らい菌(Thai-53 株)に対する DOXY の抗らい菌活性は、MFLX＞CAM＞MINO＞DOXY の順で、MINO より抗らい菌活性は弱かったが、血中半減期が 12 時間と長く、1 日 1 回の投与で長時間高い血中濃度が得られ、また組織移行性に優れ、連続投与しても過剰蓄積がしにくい抗菌薬として臨床導入が示唆された。

[儀同政一]

II. 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、P0 タンパク遺伝子欠損マウス由来シュワン細胞を用いて、ミエリンの形成に関わる因子ならびに後根神経節神経細胞(DRGs)との相互作用の解析を行った。P0-/-, P0-/+, P0+/+の各シュワン細胞と TrkA 陽性 DRGs との共培養では P0+/+が PAS 陽性を示すと共に、各種増殖因子のうち nerve growth factor(NGF)存在下に於いて最もその頻度が増大した。ハンセン病による末梢神経炎の修復に NGF の適用の可能性を実験的に示した。

[遠藤真澄]

III. 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と ORF アレイの比較検討を行い、らい菌に発現する遺伝子の全体像を明らかにした。また、遺伝子領域、偽遺伝子領域、および非翻訳領域のそれぞれから高いレベルで RNA として発現する領域を明らかにし、RT-PCR で確認した。さらに、皮膚スメア検体から抽出した RNA でそれらの発現を確認したところ、病型や治療効果によって RNA 発現パターンが異なることが示された。

[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。CORO1A は TLR や TNF-αによる NF-κB および IFN-βの活性化を抑制することが明らかとなった。また、TLR2 のリガンドである PGN はマクロファージの CORO1A の発現を抑制した。らい菌は単独では PGN よりは弱いながらも NF-κB および IFN-βを誘導したが、PGN とともにらい菌を感染させると PGN の作用を抑制した。これらのことから、TLR2 と CORO1A は機能的に拮抗していることが明らかとなり、両因子のバランスが抗酸菌感染症の予後に影響を与えるものと考えられた。また、らい菌には、TLR2 を介した CORO1A の発現抑制を阻害する未知の因子が存在する可能性が想定され

た。

[鈴木幸一、石井則久]

３．２本鎖 DNA を認識する細胞受容体のクローニング

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。発現クローニングと dsDNA 結合蛋白の質量分析による網羅的解析により、新たな dsDNA 認識分子をクローニングし、siRNA による発現抑制でその機能を確認するとともに、細胞内局在や他の蛋白との相互作用等に関しても明らかにした。

[鈴木幸一、石井則久、武下文彦（横浜市大)、石井 健（大阪大）]

IV．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 19 年（2007 年）については、日本人 1 名(男性)、在日外国人 10 名（ブラジル人 4 名、インドネシア人 3 名、フィリピン人 1 名、ベトナム人 1 名、タイ人 1 名；男性 9 名、女性 1 名）であった。平均年齢は 30.0 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 61 名に対して講習及び皮膚スメア検査、病理組織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（療養所の有無、自由村の有無、法律の有無、経済状態、など）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）]

４．生活用水のハンセン病感染源としての意義、らい菌の定量と viability の評価

ハンセン病の感染様式を解明し、抜本的感染防止策の構築のために、感染様式なかんずく感染源の解明を目的としてハンセン病の高有病率を示す地域において検討を行ってきた結果、これまでに、日頃住民が使用している生活用水から、らい菌特異的 PCR 陽性となる結果が得られ、そこが感染源となっていることが強く示唆された。インドネシアのハンセン病の高有病率を示す地域において住民が使用する生活用水中のらい菌について、Real Time-PCR により定量し、RT-PCR によってそれらの菌の生死を判定した。Real Time-PCR を行なった 145 検体中 98 検体に 1～3,620 菌体/20ml の菌体が存在することが示された。RT-PCR によって 14/33 検体が RNA の存在を示し、これらの水には生きたらい菌が存在し、感染源となっている可能性が示された。

[松岡正典]

V．抗酸菌感染症に関する研究

１．*Mycobacterium ulcerans* 感染症に関する研究

Mycobacterium ulcerans によるブルーリ潰瘍は進行性の皮膚疾患で、我々は、これまでにブルーリ潰瘍に有効な治療薬・ワクチン等の開発を目的として、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するとともに末梢神経傷害と毒性脂質マイコラクトンの関係を明らかにした。日本では分子遺伝学的に近縁の *M. shinshuense*（“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”）による 5 症例が報告され、現在 *M. ulcerans* と *M. shinshuense* の異同性を検討中である。

［中永和枝、石井則久、後藤正道（鹿児島大)、岩本朋忠(神戸市環境保健研究所)、齋藤肇(広島県環境保健協会)］

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. triplex, M.genavense* および *M. mageritense,*の分離・同定に成功した。また、*M. xenopi* と考えられてきた症例に *M. heckeshornense* 症例が高い確率で混在してい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)、齋藤肇(広島県環境保健協会)］

レファレンス業務

１．らい菌・ハンセン病のレファレンス

生体防御部は、ハンセン病研究センターとして実施している行政検査（病理検査、血清検査、PCR 検査、薬剤耐性検査）を担当している。内容については「ハンセン病研究センター」の項に記載されている。

２．非結核性抗酸菌のレファレンス

一般検査機関で同定不能な抗酸菌についての分離・同定を依頼に基づき実施している。内容は培養、生化学的性状、遺伝子配列解析などの検討に基づくものである。

サーベイランス業務

１．ハンセン病患者のサーベイ

日本国内におけるハンセン病の新規患者について報告を行っている。また、毎年の WHO への患者数報告も行っている。

国際協力関係業務

１．ミャンマーの研究者との国際協力

ハンセン病の早期発見・早期治療の効率的な運用、薬剤感受性の早期検査法の開発、障害予防の研究、偏見・差別の解消の研究などを幅広く行っている。

研修業務

１．横浜市立大学医学部学生研修

横浜市立大学医学部１年生福祉見学研修（横浜市立大学医学教育学講座よりの依頼)の６名の学生を受入れた。５日間に亘ってハンセン病の基礎･臨床､実習を行った。

その他

１．らい菌供給

らい菌は現在まで培養が不可能なため、研究が滞っている。この解消のためヌードマウスの足蹠にらい菌を接種し、増殖させ、大量のらい菌を海外・国内の研究者に供給している。詳細は「ハンセン病研究センター」の項に記載されている。

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Maeda Y, Mukai T, Kai M, Fukutomi Y, Nomaguchi H, Abe C, Kobayashi K, Kitada S, Maekura R, Yano I, Ishii N, Mori T, Makino M: Evaluation of major membrane protein-II as a tool for serodiagnosis of leprosy. FEMS Microbiol Lett 272: 202-205, 2007.

2) Kawakami T, Tsutsumi Y, Mizoguchi M, Ishii N, Soma Y:Leprosy with hepatic involvement. Int J Dermatol 46: 348-349, 2007.

3) Nakanaga K, Ishii N, Suzuki K, Tanigawa K, Goto M, Okabe T, Imada H, Kodama A, Iwamoto T, Takahashi H, Saito H: *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* isolated from a skin ulcer lesion: identification based on 16S rRNA gene sequencing. J Clin Microbiol 45: 3840-3843, 2007.

4)Asahina A, Ishii N, Kai H, Yamamoto M, Fujita H: Dowling-Degos disease with asymmetrical axillary distribution and no KRT 5 exon 1 mutation. Act Derm Venereol 87: 556-557, 2007.

5) Matsuoka M, Budiawan T, Khin S A, Kyaw K, Tan EV, dela Cruz EC, Robert Gelber R, Paul Saunderson P, Balagon MV, Pannikar V: The frequency of drug resistance mutations in *Mycobacterium leprae* isolates in untreated and relapsed leprosy patients from Myanmar, Indonesia and the Philippines. Lep Rev 78: 343-352, 2007

6) Rocchi R, Kimura H, Tzou S-C, Kunavisarut T, Suzuki K, Rose NR, Pinchera A, Ladenson PW, Caturegli P: Toll-like receptor-MyD88 and Fc receptor pathways of mast cells mediate the thyroid dysfunctions observed during nonthyroidal illness. Proc Natl Acad Sci USA 104: 6019-6024, 2007.

7) Yamazaki K, Suzuki K, Yamada E, Yamada T, Takeshita F, Matsumoto M, Mitsuhashi T, Obara T, Takano K, Sato K: Suppression of iodide uptake and thyroid hormone synthesis with stimulation of the type I interferon system by double-stranded RNA (dsRNA) in cultured human thyroid follicles. Endocrinology 148:3226-3235, 2007.

8) Sellitti D, Puggina E, Lagranha C, Doi SQ, Pithon-Curi T, Kohn LD, Suzuki K: Transforming growth factor β-1 (TGFβ1)-like transcriptional effects of thyroglobulin (Tg) in mouse mesangial cells. Endocrine J 54: 449-458, 2007.

9) Jounai N, Takeshita F, Kobiyama K, Sawano A, Miyawaki A, Ishii KJ, Akira S, Suzuki K, Okuda K: The Atg5-Atg12

conjugate associates with innate anti-virus immune responses. Proc Natl Acad Sci USA 104: 14050-14055, 2007.

2. 和文発表

1) 石井則久、永岡　譲、森　修一、鈴木幸一：2006 年における世界のハンセン病の現況について. 日本ハンセン病学会雑誌 76: 19-28, 2007.

2) 森　修一、石井則久：ハンセン病と医学 II. –絶対隔離政策の進展と確立–. 日本ハンセン病学会雑誌 76: 29-65, 2007.

3) 石井則久：疥癬. 寄生虫症薬物治療の手引き-2007-（名和行文、木村幹男、中村哲也編集）, p73-76, 熱帯病治療薬研究班（宮崎）、2007.

4) 齋藤　肇、座安　清、重藤えり子、岩本朋忠、中永和枝、児玉朱実、石井則久：*Mycobacterium shimoidei* 肺感染症の 2 例, 主としてその細菌学的検討. 日本感染症学会雑誌 81: 12-19, 2007.

5) 石井則久、他（疥癬診療ガイドライン策定委員会）：疥癬診療ガイドライン（第 2 版）.日本皮膚科学会雑誌 117: 1-13, 2007.

6) 石井則久、小茂田昌代、朝比奈昭彦：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）, p46-49, 先端医療技術研究所（東京）、2007.

7) 森　修一、石井則久：ハンセン病の疫学. 総説現代ハンセン病医学（大谷藤郎監修）,p362-384,東海大学出版会（神奈川）、2007.

8) 石井則久：皮膚結核（皮膚非結核性抗酸菌症を含む）. 今日の診断基準（大田　健、奈良信雄編集）, p849-851, 南光堂（東京）、2007.

9) 石井則久、小坂眞紀、永岡　譲：ハンセン病の診断・治療-最近のトピックス. MB デルマ　127：59－654, 2007.

10) 石井則久、鈴木幸一、竹崎伸一郎、永岡　譲：皮膚スメア検査のアンケート調査結果.日本ハンセン病学会雑誌 76: 227-232, 2007.

11) 永岡　譲、石田　裕、竹崎伸一郎、森　修一、鈴木幸一、石井則久：ミャンマーにおけるハンセン病制圧記念行事の報告.日本ハンセン病学会雑誌 76: 233-236, 2007.

12) 石井則久、竹崎伸一郎、野上玲子、尾崎元昭：ミャンマーに於けるハンセン病医療を皮膚科医療に統合するための皮膚科研修会報告.日本ハンセン病学会雑誌 76: 237-240, 2007.

13) 山口　猛、石井則久、石田　裕、畑野研太郎、朝戸裕：セブ島でのハンセン病における障害予防のための会議報告.日本ハンセン病学会雑誌 76: 241-244, 2007.

14) 儀同政一：Moxifloxacin と garenoxacin の抗らい菌活性. 日本ハンセン病学会雑誌 76:11-17, 2007.

15) 中永和枝、鈴木幸一、谷川和也、岩本朋忠、後藤正道、齋藤　肇、石井則久：*Mycobacterium shinshuense* と *Mycobacterium leprae* の分子生物学的診断法の有用性.日本ハンセン病学会雑誌 76: 245-250, 2007.

16) 石井則久：第 80 回総会・学術大会及び第 19 回コ・メディカル学術集会を終えて.日本ハンセン病学会雑誌 76: 265-266, 2007.

17) 石井則久、遠藤真澄、杉田泰之：皮膚結核. 看護のための最新医学講座（第 2 版）第 19 巻皮膚科疾患（日野原重明、井村裕夫監修）, p357-358, 中山書店（東京）、2007.

18) 石井則久、遠藤真澄、杉田泰之：ハンセン病. 看護のための最新医学講座（第 2 版）第 19 巻皮膚科疾患（日野原重明、井村裕夫監修）, p358-360, 中山書店（東京）、2007.

19) 石井則久、永岡　譲：Hansen 病. 診断と治療 95: 1591-1596, 2007.

20) 石井則久：疥癬治療薬. 皮膚科の臨床 49: 1187-1192, 2007.

21) 石井則久：ハンセン病. Visual Dermatology 6: 1188-1189, 2007.

22) 石井則久：皮膚病変から学ぶアレルギーの鑑別. 皮膚アレルギーフロンティア 5: 187-189, 2007.

23) 石井則久、杉田泰之、堀内義仁：皮膚結核. Visual Dermatology 6: 1272-1278, 2007.

24) 永岡　譲、石井則久：ハンセン病. Visual Dermatology 6: 1266-1271, 2007.

25) 石井則久：ハンセン病の現況. 日本皮膚科学会雑誌 117: 2226-2227, 2007.

26) 石井則久、永岡　譲、竹崎伸一郎：感染による脱毛症：ハンセン病. 脱毛外来(高森建二、勝岡憲生編集), p70-73, 診断と治療社（東京）、2007.

27) 松岡正典：ハンセン病の微生物学－らい菌の動物移植をも含めて：現代ハンセン病医学（大谷藤朗監修、牧野正直、長尾榮治、尾崎元昭、畑野研太郎編集） p2-19, 東海大学出版会（東京）、2007.

28）儀同政一：ハンセン病の治療薬、総説現代ハンセン病医学（大谷藤朗監修、牧野正直、長尾榮治、尾崎元昭、畑野研太郎編集） p297-318, 東海大学出版会（東京）、2007.

29) Muchtar SV, Yanagida Y, Endoh M, Yogi Y: Leprosy situation in South Sulawesi, Indonesia. Jap J Health and Human Ecology 112-117, 2007.

30) 赤間 剛、野口義彦、吉田明雄、鈴木さゆり、谷川和也、川島 晃、Huhehasi Wu、三島眞代、相沢清香、石井則久、鈴木幸一：サイログロブリンがもつ古典的機能と新たな役割. 内分泌・糖尿病科 25:182-188, 2007.

31) 鈴木幸一：21 世紀の甲状腺基礎医学研究への展望。日本甲状腺学会理事会・広報委員会編、21 世紀の甲状腺診療・研究への展望. メディカルレビュー社、90-91, 2007.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Goto M, En J, Nakanaga K, Ishii N, Yonezawqa S, Saito H, Small P.: Nerve damage induced by mycolactone in mouse model of Buruli ulcer. Annual Meeting of the WHO Global Buruli Ulcer Initiative, Geneva, Switzerland, April 2007.

2) Saito H, Ohtani S, Nakanaga K, Ishii N, Iwamoto T, Kodama A: Differentiation and identification of *Mycobacterium xenopi* and *Mycobacterium heckeshornense*. 28th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, Athens, Greece, July 2007.

3) E Tan MV, Balagon E, de la Peña, Matsuoka M: A simple method of detecting drug resistant mutant in *Mycobacterium leprae* by DNA hybridization. The Symposium on Remaining Challenges in Leprosy, Kathmando, Nepal. September 2007.

4) Matsuoka M, Lopez Roa RI, Budiawan T, Kyaw K Chae GT: Genotypic Analysis of *Mycobacterium leprae* isolates from Japan and other Asian countries reveals a global transmission pattern of leprosy. 42th US-Japan conference on Tuberculosis and Leprosy. Zhenzhou, China, September 2007.

5) Mukai T, Izumi S, Rosita C, Agusni I, Miyamoto Y, Matsuoka M, Makino M: Detection of *M.lepae* DNA in nasal swab samples by LAMP methods. 42th US-Japan conference on Tuberculosis and Leprosy. Zhenzhou, China, September 2007.

6) Suzuki K, Akama T, Takeshita F, Ishii KJ, Sato K, Kimura H, Rocchi R, Caturegli P, Rose NR and Ishii N: Innate and acquired immune responses of the thyroid gland. The 20th Naito Conference. Hayama, October 2007.

7) Jounai N, Takeshita F, Kobiyama K, Huang J and Suzuki K: The Atg5-Atg12 conjugate associates with innate antiviral immune responses. The 20th Naito Conference. Hayama, October 2007.

8) Kobiyama K, Takeshita F, Jounai N, Okuda K, Ishii KJ and Suzuki K: Histone H2B mediates intracellular recognition of naked DNA and production of type I interferons. The 20th Naito Conference. Hayama, October 2007.

2. 国内学会

1) 大谷倫代、永山博敏、鈴木良夫、石井則久：ハンセン病の１例. 日本皮膚科学会第 811 回東京地方会、東京、2007 年 1 月.

2) 宮本樹里亜、石橋正史、長坂 武、陳 科榮、石井則久、桜井美佐：BT 型ハンセン病の１例. 日本皮膚科学会第 811 回東京地方会、東京、2007 年 1 月.

3) 谷川和也、川島 晃、三島眞代、Huhehasi Wu、武下文彦、石井 健、森（青木）敦美、斎藤淳、Leonard Kohn、鈴木さゆり、佐藤幹二、石井則久、鈴木幸一：甲状腺自己免疫発症誘因としての自然免疫活性化. 第 23 回甲状腺病態生理研究会、東京、2007 年 1 月.

4) 山崎和子、山田恵美子、山田 哲、鈴木幸一、高野加寿恵、小原孝男、佐藤幹二：１型インターフェロン（IFN）がヒト甲状腺細胞の遺伝子発現に及ぼす影響：ウイルス様因子（二重鎖 RNA）との比較. 第 23 回甲状腺病態生理研究会、東京、2007 年 1 月.

5) 斎藤 肇、中永和枝、岩本朋忠、沼岡嘉子、松浦求樹：*Mycobacterium xenopi* グループ（*M. xenopi*, *M. heckeshornense*）の鑑別・同定 第 57 回日本結核病学会中国四国支部学会 広島 2007 年 1 月.

6) 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝：肺疾患患者より分離された新抗酸菌種. 第 57 回日本結核病学会中国四国支部学会、広島、2007 年 1 月.

7) 與儀ヤス子、鈴木幸一、藤村響男：らい菌増殖用に開発したコンジェニックヌードラット：SHR/NCrj-rnu. 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月.

8) 石井則久：ハンセン病の現況. 第 106 回日本皮膚科学会総会教育講演「ハンセン病：基礎から臨床まで」. 横浜、2007 年 4 月.

9) 三木田直哉、金澤伸雄、尾崎元昭、小坂眞紀、石井則久、西村泰行、古川福実：ハンセン病における TLR2 遺伝子変異の検索. 第 32 回日本研究皮膚科学会総会、横浜、2007 年 4 月.

10) 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝、秋山也寸史、加藤宗博、中村 敦、佐藤滋樹、田口 修、末安禎子、川辺芳子、藤本久夫：肺疾患患者より分離された新抗酸菌種. 第 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月.

11) 岩本朋忠、斎藤 肇、森田幸雄、中永和枝：*Mycobacterium.avium - M. intracellurare* cluster X“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 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月.

12) 斎藤　肇、中永和枝、岩本朋忠、沼岡嘉子、松浦求樹：肺炎症性肉芽腫病巣より分離された *Mycobacterium xenopi* 近縁抗酸菌，*Mycobacterium heckeshornense* の細菌学. 第 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月.

13) 中永和枝、斎藤　肇、岩本朋忠、児玉朱実、石井則久：*Mycobacterium shinshuense* による肘関節部皮膚潰瘍の一症例：主として病巣部の菌の遺伝子診断について. 第 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月.

14) 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：2006 年のハンセン病新規患者発生状況. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

15) 森　修一、San Shwe、石田　裕、石井則久：ミャンマーのハンセン病回復者の社会復帰に関する研究. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

16) 森　修一、San Shwe、菊地義弘、石田　裕、石井則久：日本、韓国およびミャンマーのハンセン病史の比較研究. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

17) 金澤伸雄、三木田直哉、尾崎元昭、小坂眞紀、石井則久、西村泰行、古川福実：ハンセン病における TLR2 遺伝子変異の検索. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

18) 松岡正典、鈴木定彦、Esterina Tan、Khin Saw Aye：薬剤耐性らい菌の簡易検出法の開発地上国への移転とそれによる耐性菌の伝播調査. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

19) 儀同政一、松岡正典：Moxifloxacin と garenoxacin の抗らい菌活性. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

20) 向井　徹、和泉眞蔵、宮元友司、Cita Rosita、Indropo Agusuni、松岡正典、牧野正彦：LAMP 法によるらい菌遺伝子検出の応用. 第80回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

21) 和泉眞蔵、Indropo Agusuni、Cita Rosita、松岡正典、向井　徹：ハンセン病濃厚流行地健康住民血中からのらい菌の検出. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

22) Sitti Nur Rahmah、佐藤直哉、藤村響男、与儀ヤス子、松岡正典、増澤幹男、藤岡憲生：各種培養ヒト気道上皮細胞に対するらい菌 mce1A 領域と結核菌 mce1A 領域との侵入活性の異同. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

23) 中永和枝、鈴木幸一、谷川和也、石井則久、岡部　勉、今田英明、児玉朱実、岩本朋忠、後藤正道、長野　誠、齋藤　肇：*M. shinshuense* と *M. leprae* の分子生物学的検討. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

24) 圓　純一郎、Pamela Small、中永和枝、石井則久、齋藤　肇、有川　勲、浜田博文、後藤正道：*Mycobacterium ulcerans* による神経障害～mycolactone の役割について～. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

25) 谷川和也、川島 晃、Huhehasi Wu、三島眞代、武下文彦、鈴木幸一、石井則久：らい菌感染マクロファージ内における菌の寄生と排除に関わる分子機構の相互作用. 第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月.

26) 儀同政一：新規ニューキノロン系抗菌薬の構造式と抗らい菌活性の相関. 第 55 回日本化学療法学会総会、仙台、2007 年 6 月.

27) 中永和枝、石井則久、岩本朋忠、岡部　勉、今田英明、後藤正道、斎藤 肇：*Mycobacterium shinshuense* と *M. ulcerans* の異同性に関する分子生物学的検討（1）. 第 77 回実験結核研究会、大阪、2007 年 6 月.

28) 中永和枝、石井則久、斎藤　肇、岩本朋忠、後藤正道、児玉朱実、飯沼由嗣：肘関節部にみられた *Mycobacterium shinshuense* 皮膚潰瘍の一症例：主として病巣部の菌の遺伝子検査について. 第 82 回日本結核病学会総会、大阪、2007 年 6 月.

29) 斎藤　肇、中永和枝、岩本朋忠：肺炎症性肉芽腫病巣より分離された *Mycobacterium heckeshornense*，特に *Mycobacterium xenopi* との性状の異同性について. 第 82 回日本結核病学会総会、大阪、2007 年 6 月.

30) 斎藤　肇、岩本朋忠、中永和枝、吉友和夫、前倉亮治、後藤正道、飯岡義教、佐野克典：*Mycobacterium celatum* 肺感染症の 3 例：主としてその細菌学について. 第 82 回日本結核病学会総会、大阪、2007 年 6 月.

31) 岩本朋忠、中永和枝、石井則久、長野　誠、斎藤　肇：4 種遺伝子の連結配列による *Mycobacterium.avium - M. intracellurare* cluster X “ 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 82 回日本結核病学会総会、大阪、2007 年 6 月.

32) 岩本朋忠、中永和枝、石井則久、斎藤　肇：*Mycobacterium lentiflavum* の遺伝学的多型性に関する検討. 第 82 回日本結核病学会総会、大阪、2007 年 6 月.

33) 斎藤　肇、岩本朋忠、中永和枝、秋山也寸史、佐藤滋樹、田口　修、末安禎子、川辺芳子：肺疾患患者より分離された 1 新抗酸菌種の細菌学的性状. 第 82 回日本結核病学会総会、大阪、2007 年 6 月.

34) 山崎和子、山田恵美子, 山田　哲、鈴木幸一、佐藤幹二、高野加寿恵、小原孝男：１型インターフェロン

（IFN）がヒト甲状腺細胞の遺伝子発現に及ぼす影響。ウイルス様因子（二重鎖 RNA）感染時との比較. 第 80 回日本内分泌学会総会、東京、2007 年 6 月.

35) 鈴木幸一、川島 晃、谷川和也、Huhehasi Wu、三島眞代、赤間 剛、相沢清香、武下文彦、石井　健、佐藤幹二、石井則久：非免疫担当細胞である甲状腺細胞が持つ自然免疫能と獲得免疫能の核酸成分による誘導. 第 18 回日本生体防御学会総会、福岡、2007 年 7 月.

36) 赤間 剛、Hiroaki Kimura, Roberto Rocchi, Patrizio Caturegli, Noel R. Rose、川島　晃、谷川和也、Huhehasi Wu、三島眞代、相沢清香、石井則久、鈴木幸一：肥満細胞の TLR-MyD88 と Fc 受容体を介した甲状腺機能低下の誘発. 第 18 回日本生体防御学会総会、福岡、2007 年 7 月.

37) Fumihiko Takeshita, Nao Jounai, Kouji Kobiyama, Ken J. Ishii, Koichi Suzuki, Kenji Okuda: The Atg5-Atg12 conjugate associates with innate antiviral immune responses. 第 18 回日本生体防御学会総会、福岡、2007 年 7 月.

38) Kouji Kobiyama, Fumihiko Takeshita, Ken J. Ishii, Koichi Suzuki, Kenji Okuda.: HistoneH2B mediates intracellular recognition of naked DNA and production of type I interferons. 第 18 回日本生体防御学会総会、福岡、2007 年 7 月.

39) 谷川和也、赤間　剛、川島　晃、Huhehasi Wu、三島眞代、石井則久、高橋伸一郎、生山祥一郎、鈴木幸一：らい菌感染マクロファージにおける細胞内脂質蓄積分子機構に関する研究. 第 48 回日本組織細胞化学会総会、第 39 回日本臨床分子形態学会総会合同学術集会甲府、2007 年 9 月.

40) 遠藤真澄：プロテオーム解析による末梢神経炎の新規自己抗原候補の解析. Neuro 2007、横浜、2007 年 10 月.

41）天児和暢、谷合啓明、松岡正典、飯田健一郎、吉田真一：らい菌の培養. 第 60 回日本細菌学会九州支部総会、長崎、2007 年 10 月.

42) 北村真人、藤井紀和、吉田未征、藤本徳毅、植西敏浩、田中俊宏、石井則久：DIC を合併し、らい反応の関与が疑われたハンセン病の一例. 第 58 回日本皮膚科学会中部支部学術大会、京都、2007 年 10 月.

43) Huhehasi Wu、鈴木さゆり、Donald F. Sellitti、Sonia Q. Doi、赤間 剛、谷川和也、川島 晃、三島眞代、石井則久、加藤良平、鈴木幸一：腎メサンジウム細胞に発現するサイログロブリン遺伝子バリアントのクローニング. 第 50 回日本甲状腺学会学術集会、神戸、2007 年 11 月.

44) 赤間 剛、三島眞代、谷川和也、川島 晃、Huhehasi Wu、石井 健、武下文彦、斎藤 淳、鈴木さゆり、石井則久、鈴木幸一：２本鎖 DNA 断片は甲状腺細胞の増殖を誘導する. 第 50 回日本甲状腺学会学術集会、神戸、2007 年 11 月.

45) 中尾　功、金地佐千子、太田昭一郎、松下英友、有馬和彦、中山勝敏、相良博典、田中宏幸、鈴木幸一、福田　健、永井博弐、出原賢治：Pendrin は気管支喘息における粘液産生に関与する. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会、東京、2007 年 11 月.

46) 鈴木幸一、赤間　剛、武下文彦、石井　健、Hiroaki Kimura、Roberto Rocchi、Patrizio Caturegli、Noel R Rose：甲状腺細胞が持つ自然免疫能と獲得免疫能. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会、東京、2007 年 11 月.

47) 斎藤　肇、岩本朋忠、中永和枝、江崎孝幸、大楠浩文、秋山也寸史、原田敬之、小倉　粋、松本英伸、早川啓史、鹿住祐子、前田伸司、長野　誠：肺疾患患者より分離された新抗酸菌（続）新たに分離された 6 菌株の細菌学的性状. 第 38 回結核・非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2007 年 12 月.

48) 斎藤　肇、中永和枝、岩本朋忠、新沼ゆかり、中田尚志：*Mycobacterium marinum* による肺感染症、特に分離菌の細菌学. 第 38 回結核・非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2007 年 12 月.