序

所長　宮村　達男

２００８年は国立感染症研究所（感染研）が１９４７年に国立予防衛生研究所（予研）として設立されてから６１年目となる。研究所の前身は北里柴三郎を初代所長とする大日本衛生会附属伝染病研究所にさかのぼることができる（１８９２年）。そして感染症をとりまく周囲の状況、感染症や病原体自体の変貌に対応すべく予研から感染研と名称を変更してからもう11年がたった。その間、研究所の設立理念は一貫して変わらない。即ち、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ラトリーとしての生物学的製剤等の品質管理業務を担っている。そしてこの二つの機能を根本的に支える高いレベルの基礎研究が必須である。この基礎研究は感染症の予防、診断、治療に間接的、直接的に深くかかわる応用的な側面が特に強調される。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、畏敬されるような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。

厚生労働省傘下のナショナルセンターは次々に独立行政法人化してゆくが、感染研はその使命から国立研究所としての立場を堅持してゆかねばならない。国の感染症コントロールにかかわる施策に直接に関与するミッション研究も多くある。前述したCDC機能とFDA機能を維持するにはどうしても国研であらねばならないが、又、同時に国民の期待にこたえ、この機能をより効率よく果たす為に中、長期的な将来計画をたててゆく必要がある。その意味で細菌部、ウイルス部など病原体ごとの部、センターを縦糸とすれば、免疫部、病理部などの研究部門を横糸とする仕組みは感染研のかけがえのない財産である。実際SARS、インフルエンザ、C型肝炎など喫緊の課題には所を横断するプロジェクトチームが適宜形成され、対応している。感染研のCDC機能の中心は感染症情報センターとなっているが、これを支えているのは実に感染研のこうした縦横の基礎研究ネットワークがあって初めて成立する。FDA機能については現在感染研がナショナルコントロールラボラトリーとしての生物製剤のロットリリースも行っている。国全体の生物製剤等の品質管理については厚生労働省審査管理課、医薬品総合機構と連携し、感染研の役割をより適確で国際的にも整合することをめざしてゆく。

感染研の体制、組織の上で画期的な準備がなされている。ひとつは宿願であったインフルエンザウイルス研究センターの新設とそれに伴うウイルス第三部の改編である。インフルエンザウイルス研究センターは特に国際的なウイルス情報交換と世界レベルの対応に感染研からの提言が大きく期待されている。新型インフルエンザ発生に対する所内対応のためのワーキンググループが組織され、全所的対応の基盤を整えた。関係各方面の理解と援助をうけ、これも宿願であったハンセン病研究センターのＢＳＬ３研究施設が完成、稼働した。近隣住民、多磨全生園入所者自治会、学識経験者等から成る、ハンセン病研究センター安全連絡協議会も成立した。ハンセン病研究には微生物学上の課題と同時に感染症対応の原点があり、学ぶことが山積している。ワクチン開発を視野に入れた新実験施設の完成を機に病原微生物部と生体防御部が発展的に統合し、感染制御部としてより出口の明らかなハンセン病研究をめざし、抗酸菌研究をリードする体制が整う。

ＣＯＩ委員会が創設された。委員会の運営、維持にもエネルギーが費やされるが、感染研の基盤として、あくまでも研究者が行う研究の透明性を高め、研究活動をより活発に行う為に必須な委員会であることを強調したい。

おおくの機能を持つ感染研にとって内外の研究、検査機関との連携は不可欠である。今年度はインフルエンザ対応をきっかけに一段と地衛研との連携が強化された。またアジア各国の国立感染症対応研究機関（ＣＤＣ）との連携強化に加え、今年はやはり宿願であったフランスパスツール研究所との研究協力の覚書が交換された。伝統と底力のある同研究所との連携は従来から脈々と続いている個別レベルの共同研究に一層の拍車がかかり、また研究所総体としてもこの覚書交換により得ることは多い。

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11月にはウイルス第二部長脇田隆字が「培養細胞におけるC型肝炎ウイルス増殖に関する」研究により第５２回野口英世記念医学賞を受賞した。

人事面では7月11日付けで北島智子企画調整主幹が国際医療センター国際医療協力局長に転出、同日付で成田空港検疫所長の藤井紀男が就任した。また7月1日、寄生動物部長に群

馬大学医学部教授野崎智義が就任した。21年3月31日、ハンセン病研究センター森亨が期限到来により、血液・安全性研究部長山口一成、ウイルス第二部第一室長武田直和、生物活性物質部第一室長新見昌一、生体防御部第一室長松岡正典、生体防御部第四室長儀同政一が定年により退職した。また同日ウイルス第一部第五室長岸本壽男が岡山県環境保健センターに転出した。

１．ウイルス第一部

部　長　　倉 根 一 郎

概　要

ウイルス第一部において、本年度、以下の人事異動があった。平成 20 年 4 月 1 日付で山田壮一が第四室研究員として採用され就任した。平成 20 年 4 月 1 日付で艾買堤托合堤が第四室研究員として採用され就任した。平成 20 年 4 月 1 日付で吉林台が第五室研究員として採用され就任した。平成 20 年 12 月 31 日付で艾買堤托合堤研究員が退職し中国に帰国した。平成 21 年 3 月 31 日付で吉林台研究員が自治医科大学医学部へ転出した。平成 21 年 3 月 31 日付で岸本壽男第五室長が岡山県衛生保健センター所長に転出した。

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（CMV)、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、南米出血熱を含むウイルス性出血熱検査法診断法の開発と改良を行った。痘そうワクチンの有効性をサル痘をモデルとして示した。さらにサル痘ウイルスの病原性に関する研究を行った。また SARS コロナウイルスのレセプター解析を行なった。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ことを示した。

第二室においては、日本各地のブタから分離した日本脳炎ウイルスの遺伝子及び病原性解析を行った。また、野性イノシシからも日本脳炎ウイルスを分離した。デングウイルス感染の病態解明にむけてサルモデルを開発し研究を進展させた。チクングニヤ熱患者の確定検査を行うとともに分離ウイルスの解析を行った。

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行なった。さらに、進行性多巣性白質脳症診断のため、開発した JC ウイルス検査系を用いて、多数の疑い患者検体を検査した。マウスポリオーマウイルスの持続感染モデルを確立した。

第四室においては、CMV による先天性感染の迅速スクリーニング法を用いて感染児の調査とゲノムタイプによる感染経路解析を行った。また、樹立したレポーター細胞を用いて新規抗 CMV 剤のスクリーニングにより得た有力な化合物の解析を行った。さらに、モルモット CMV を用いて母児感染の研究を行った。

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ない、国内初の新規リケッチア症を発見した。またリケッチア蛋白の網羅的解析を行った。クラミジアに関しては、検査法を改良し、オウム病の早期検査体制を確立した。

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、水痘抗原について国家検定及び依頼検査を行った。また、各ウイルス及び患者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．ウイルス性出血熱及び新興・再興ウイルス感染症に関する研究

1.　クリミア・コンゴ出血熱に関する研究

(1)ナイジェリア国ボルノ州におけるクリミア･コンゴ出血熱ウイルスおよびリフトバレー熱ウイルスに対する血清疫学

ナイジェリア国ボルノ州ラッサ村およびビユ村のヒト（それぞれ 120 名）のクリミア・コンゴ出血熱ウイルスおよびリフトバレー熱ウイルスに対する抗体保有率を、それぞれのウイルスの組換え核蛋白を抗原とした ELISA 法により検討した。ラッサ村およびビユ村のそれぞれのヒト血清 120 検体のうち、クリミア・コンゴ出血熱ウイルスに対する抗体陽性を示したのはそれぞれ 28 検体（23%）と 9 検体（7.5%）であった。ただし、ラッサ村およびビユ村のそれぞれのヒト血清 3 検体と 2 検体（計 5 検体）を除く全ての陽性検体は、血清を 400 倍希釈したレベルでの IgG-ELISA における OD 値がカットオフ値をわずかに上回る程度であった。一方、ラッサ村およびビユ村のそれぞれのヒト血清 120 検体のうち、リフトバレー熱ウイルスに対する抗体陽性を示したのはそれぞれ 54 検体（45%）と 39 検体（33%）で、陽性検体の中でもラッサ村血清の 18 検体（15%）と 9 検体（7.5%）が強陽性を示す IgG-ELISA における OD 値を呈した。同地域住民の約 10%のヒトはリフトバレー熱ウイルスに関していることを示唆し、同地域でリフトバレー熱ウイルスが蔓延していることが明らかにされた。[西條政幸、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、森川茂、David Nadeva Bukbuk（ナイジェリア国 University of Maiduguri)]

2. エボラウイルスに関する研究

(1)ナイジェリア国ボルノ州に生息する霊長類におけるエボラウイルスに対する血清疫学

ナイジェリア西部の国立公園に生息する霊長類におけるエボラウイルスおよびリフトバレー熱ウイルスに対する抗体保有状況を、それぞれの組換え核蛋白を抗原とした IgG-ELISA 法により調査した。検査に供された 35 頭のサルの血清のうち 1 検体がエボラウイルス抗体陽性を呈し、全ての検体はリフトバレー熱ウイルスに対しては陰性を呈した。エボラウイルスは、中央アフリカや西アフリカ（アイボリーコースト）で感染が確認されている。ナイジェリア国の霊長類におけるこれらのウイルス感染症の実態を解明するには、調査する検体数を増やしたり、エボラウイルス抗体を IgG-ELISA 法だけでなくウエスタンブロット法など他の方法を用いて検出したりして、さらなる調査を実施する必要がある。[西條政幸、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、森川茂、David Nadeva Bukbuk（ナイジェリア国 University of Maiduguri)]

3. リフトバレー熱ウイルスに関する研究

(1)リフトバレー熱ウイルスの NP に対する 単クローン抗体の作製と抗原検出 ELISA 法への応用

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り、出血熱など重篤な臨床症状を示す例もある。アフリカを中心に毎年のように感染症例が報告されているため、リフトバレー熱の実験室診断法の整備は輸入感染症対策の一つとして重要である。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。これまで、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てきた。平成 20 年度は RVFV-NP に対する単クローン抗体のうち、C10-54、G2-36 および D5-59 のエピトープマッピングを行った。G2-36 および D5-59 は RVFV-NP の C 末端のアミノ酸残基 195-201 を認識した。一方、C10-54 は NP の立体構造を認識すると考えられた。これらの単クローン抗体を用いて抗原検出 ELISA を構築した。RVFV の組み換え NP および、RVFV-MP12 株を抗原として用いたところ、高感度かつ特異的にウイルス抗原を検出することができた。今後、臨床検体などを用いた抗原検出 ELISA 法の精度と感度を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. 南米出血熱に関する研究

(1)南米出血熱の実験室診断法の開発−抗原検出 ELISA の開発

南米出血熱（アルゼンチン、ボリビア、ベネズエラ、ブラジル出血熱）は、新たに 1 類感染症に加えられたウイルス性出血熱である。原因ウイルスは、新世界アレナウイルスの B clade に分類されるフニン、マチュポ、ガナリト、サビアウイルスで、BSL4 病原体に分類されるため、現状では日本ではウイルスが取扱えない。これまで

に、フニンウイルスの組換えNPを用いたIgG-ELISAを開発したが、本研究では、抗原検出ELISAを開発するために単クローン抗体を作製し３クローンの認識するエピトープを決定した。これらを抗原捕捉抗体に用いる抗原検出ELISAを開発した結果、フニンウイルス特異的検出系と南米出血熱ウイルス全てを検出する抗原検出系が確立された。[中内美名、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂、Agustín E. Ure1・Victor Romanowski（アルゼンチンラプラタ国立大学）]

(2)南米出血熱の実験室診断法の開発-代替えウイルス中和試験法の開発

南米出血熱（アルゼンチン、ボリビア、ベネズエラ、ブラジル出血熱）は、新たに１類感染症に加えられたウイルス性出血熱である。原因ウイルスは、新世界アレナウイルスのB cladeに分類されるフニン、マチュポ、ガナリト、サビアウイルスで、BSL4病原体に分類されるため、現状では日本ではウイルスが取扱えない。本研究では、フニンウイルスの外皮タンパク質(GP)遺伝子をpKS336 vector に組込んだ発現プラスミドを作製した。発現プラスミドを導入した293T細胞に、糖蛋白質遺伝子領域を蛍光蛋白質であるGFP遺伝子と置換したゲノムを持つVSVを感染させ、JUNのGPを表面に持つVSVシュードウイルスを作製した。VSVシュードウイルスを用いて、アルゼンチン出血熱患者血清2検体および非患者血清を用いて中和試験を行った。その結果、アルゼンチン出血熱患者血清では高力価の中和抗体が検出されたが、非患者血清では中和抗体が検出されず、代替えウイルス中和試験法が有用であると考えられた。[中内美名、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂 、Agustín E. Ure1・Victor Romanowski（アルゼンチンラプラタ国立大学）]

5. イヌジステンパーウイルスに関する研究

(1)カニクイザルのイヌジステンパーウイルスによる感染死亡事例の解析

国内の検疫施設で、中国から輸入されたカニクイザルのコロニーの約30頭以上が死亡した。国立感染症研究所が発症中の３頭のサルについて行ったウイルス学的、血清学的、および病理学的解析所見では、サルはイヌジステンパーウイルスに感染し、肺炎、脳炎、および全身感染等を呈していたことが確認された。死亡あるいは安楽殺されたサル16頭からも当該ウイルスが検出された。イヌジステンパーウイルスがサルに自然感染し発症した事例は、これまでニホンザルに１例報告があったのみであり、サルの間で流行が確認されたことは今回が初めて。感染源については不明であるが、同施設は厳格な衛生管理を行っていたこと、およびサル間での流行の発生経過等から、施設への搬入時にはサルがすでに同ウイルスに感染していたことが強く示唆された。なお、同施設におけるサル間での流行は終息し、感染したサルを取り扱っていた従業員に健康被害の発生は確認されていない。[森川茂、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、酒井宏治・平井明香・網康至・山田靖子（動物管理室)、永田典代・長谷川秀樹・佐多徹太郎（感染病理部)、松井珠乃・岡部信彦（感染症情報センター)]

Ⅱ．SARSコロナウイルスに関する研究

1. コウモリ由来ACE2発現細胞を用いたSARS-CoV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。最近、コウモリからSARS-CoVに近縁なコロナウイルス（SARS-like-CoV）が見つかったことから、このウイルスが SARS-CoV の起源ではないかと考えられている。一方、コウモリからSARS-CoVが直接、ハクビシンあるいはヒトに伝播した可能性も否定できない。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に対するウイルス感染効率を規定する要因の一つとなっている。本研究では種々のコウモリの SARS-CoV 感受性を明らかにすることを目的として、コウモリACE2発現細胞を用いてSARS-CoVの感染効率を解析した。その結果、キクガシラコウモリの一種であるGreater horseshoe bat ACE2発現細胞ではSARS-CoVの感染は認められなかったが、キクガシラコウモリの別の種である、Large roufus horseshoe batおよび、オオコウモリの一種であるRousette fruit bat 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。これらのことから、

SARS-CoV 感受性はコウモリの種によって異なると考えられた。SARS-CoV に高い感受性を示すコウモリ類は SARS-CoV の自然宿主あるいは中間宿主となりうる可能性があるため、さらに多くのコウモリの種について、SARS-CoV の感受性を調べる必要がある。[福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川 茂、酒井宏治・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)]

Ⅲ. ポックスウイルスに関する研究

1. サル痘ウイルスに関する研究

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

コンゴ盆地型と西アフリカ型サル痘ウイルス（MPXV）感染症の病態と病原性を明らかにするため、カニクイザルにおけるサル痘の臨床症状、ウイルス学的検査所見、および病理所見について検討した。カニクイザル Zr-599/SC 群（4 頭）と Zr-599/IN 群（2 頭）に Zr-599 株［コンゴ盆地型 MPXV（10^6 PFU)］をそれぞれ皮下接種および鼻腔噴霧経路で、また Liberia/SC 群（3 頭）と Liberia/IN 群（2 頭）に Liberia 株［西アフリカ型 MPXV（10^6 PFU)］をそれぞれ皮下接種および鼻腔噴霧経路で感染させた。感染後 3 週間経過を観察した。解剖時には，各臓器の肉眼病変の有無を確認し、さらに MPXV 抗原の有無を病理学的に解析した。症状および各種検査所見から算定する重症度を比較するためのスコアリングシステムを導入した。Zr-599/SC 群の 4 頭中 3 頭と Liberia/SC 群の 3 頭中 1 頭が致死的感染症を呈した。その他の個体は中等度から軽度の症状を呈した。Zr-599/SC 群、Liberia/SC 群、Zr-599/IN 群、Liberia/SC 群の順に重いサル痘を発症した。Zr-599 感染群の MPXV 血症レベルも，Liberia 感染群のそれよりも有意に高い値を示した。Zr-599 感染個体では、皮膚病変の他にリンパ系組織、呼吸器臓器，消化管臓器，泌尿生殖器系臓器の各臓器に MPXV 抗原陽性の肉眼的病変が認められ、一方 Liberia 株感染個体では Liberia/SC 群の 1 頭に肝臓に MPXV 抗原が認められたことと、Liberia/IN 群の個体で肺に病変が認められた以外に皮膚とリンパ系組織のみに MPXV 抗原陽性の肉眼的病変が認められただけであった。コンゴ盆地型 MPXV が西アフリカ型よりも病原性が高いことが確認された。これらの成績は，Zr-599 株と Liberia 株の病原性の違いが、いわゆる臓器親和性の違いに起因することを示唆する。[西條政幸、森川茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、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)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（続報）

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，LC16m8 には霊長類（カニクイザル）において致死的サル痘の発症を予防する効果が確認され、さらにその効果はLC16m8を接種してから6ヶ月間は持続することが確認された。今年度は、LC16m8 接種 12 ヶ月後の霊長類におけるサル痘発症予防効果を検討した。LC16m8 を接種し，その 12 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．ウイルス血症レベル、臨床症状は、LC16m8 接種 6 週間後に認められる霊長類におけるサル痘発症予防効果と同等であった。LC16m8 接種によ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、塩田智之、森川茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、網康至・須崎百合子（動物管理室)、長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子（感染病理病理部)]

2. 痘そうワクチンに関する研究

(1)細胞培養痘そうワクチン LC16m8 の増殖温度感受性責任遺伝子の解析

細胞培養痘そうワクチン製造承認株ワクチニアウイルス LC16m8 株は、第一世代痘そうワクチン Lister 株から低温馴化により選抜された増殖温度感受性株である。本研究では LC16m8 株の温度感受性責任遺伝子の同定を目

的とした。Lister 株ゲノム DNA の BAC ライブラリー一方、を LC16m0 株感染細胞に導入し、温度非感受性組換えウイルス出現の有無によって、温度感受性責任遺伝子のマッピングを行った結果、温度感受性の補完には Lister 株 DNA の *Hind*III-A, B, D, E, K 領域が必要であることが明らかとなった。得られた温度非感受性組換え LC16m0 クローンには感染細胞融合活性のあるものと無いものがあり、融合活性のないクローンは Lister 株と同程度の温度非感受性を示したのに対し、融合活性のあるクローンは LC16m0 株と Lister 株の中間の温度感受性を示した。一方、LC16m0/8 株には感染細胞の融合活性があり、LC16m0/8 株の融合活性関連遺伝子 A56R 遺伝子では、Lister 株等と比較して 15 塩基の欠失が存在する。A56R 遺伝子を LC16m0/8 株欠失型に組換えた Lister 株を作製したところ、いずれのクローンも細胞融合能があり、LC16m0 株と Lister 株の中間の温度感受性を示した。以上より、A56R 遺伝子の 15 塩基の欠失が細胞融合活性の原因であり、さらに部分的に温度感受性にも関与していることが明らかとなった。[飯塚愛恵、塩田智之、中内美名、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂]

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)RDV 法の簡便化を目的とした改良（RDV ver3.1）

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を組み合わせる必要があった。昨年度は、最終 PCR を行なう前のステップとして、DNA フラグメントの一端に平滑末端のアダプターを、他端に突出末端のアダプターを結合することにより、最終 PCR におけるプライマーセットを 256 通りまで減少可能にした(RDV ver3.0)。ところが 256 通りの PCR をおこなう場合には 96 穴プレートが 2 枚半必要になり、まだ繁雑であった。そこで、さらに両端を異なる突出末端のアダプターに改良することにより、64 通りで網羅性を保てるようになった。この改良法を RDV ver3.1 と呼んでいる。RDV ver3.1 はその簡便さから汎用 RDV 法となる可能性がある。この方法により和歌山県のコウモリから新規ヘルペスウイルスを検出し、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、渡辺俊平・明石朝臣（東京大学農学部)、前田健（山口大学農学部)]

(2)国内で採集された蚊における新規ウイルスの検出

2005 年に秋田県で捕集されたアカイエカ 67 匹を 7 つのグループに分けて蚊の細胞 (C6/36) に接種しウイルス分離を試みたところ、ひとつのグループで CPE が確認できた。この培養上清を濃縮し、ショ糖密度勾配超遠心などでウイルス粒子を精製し、電子顕微鏡を用いて観察したところ、直径約 50nm 弱の小型球形ウイルスであることがわかった。しかし、既知のウイルスを同定できる PCR をおこなってもウイルスを特定できなかった。そこで、培養上清から抽出した RNA について RDV 法 ver1.0, ver2.1, ver4.0 をおこなったところ、GenBank には登録されていない３つの遺伝子配列が見つかった。これらの配列は非感染細胞では検出できなかった。このウイルスは新規 RNA ウイルス（甲殻類で類似のウイルスあり）であることがわかった。[水谷哲也、酒井宏治、緒方もも子、倉根一郎、森川茂、伊澤晴彦・星野啓太・鍬田龍星・矢野和彦・斉藤一三・澤辺京子・小林睦生（昆虫医科学部)]

(3) RDV 法によるヒトカルジオウイルスの検出

高知県衛生研究所において手足口病様症状および無菌性髄膜炎の患者から分離されたウイルス（電子顕微鏡像はいずれもエンテロウイルス様粒子が認められたが、関連ウイルスの PCR は陰性）について RDV 法で解析した。その結果、カルジオウイルスのゲノムと相同性のある DNA フラグメントを得た。カルジオウイルスはピコルナウイルス科の属名で、主にげっ歯類に感染すると考えられていたが、1981 年に発症した発熱性疾患患者の糞便から分離されたウイルスが、2007 年、新たなヒトカルジオウイルス(Saffold virus)として報告された。その後、Saffold virus は世界各地で検出されており、ヒトにも広範囲に感染することが示唆されているが、本事例は日本では初めての検出である。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、飯塚愛恵、倉根一郎、森川茂、Naeem

Asif、清水博之（ウイルス第２部）、細見卓司（高知県衛生研究所）]

(4)みつばちに感染するウイルスの研究

みつばちに感染するウイルスは９種類知られており、そのうち８種類はピコルナウイルスの仲間である。日本ではこれらのウイルスを一度に検出するシステムが確立されていない。また、最近日本の発生も認められている蜂群崩壊症候群（Colony Collapse Disorder, CCD）の原因がウイルス感染症という説もあり、これらのウイルス検出システムを確立する必要があった。そこで、9 種類のウイルスについてのコンベンショナル PCR、リアルタイム PCR、degenerate PCR、次世代型シークエンサーを用いた網羅的解析方法について検討した。佐賀の養蜂場で大量死したみつばちについて、これらの方法を適用したところ Kakugo virus/Deformed wing virus や Israel acute paralysis virus/Kashmir bee virus が検出された。佐賀における CCD がこれらのウイルス感染が原因であるか否かについては今後の検討が必要である。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、飯塚愛恵、倉根一郎、森川茂、早川洋一（佐賀大学農学部）、西村美保・佐藤朝光（福岡大学薬学部）、遠藤大二（酪農学園大学獣医学部)]

(5)川崎病の病原微生物の特定に関する研究

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、原因は未だに不明である。昨年度は２人の患者血清から Torque teno virus（TTV）のバンドが検出されたことを報告した。患者数を 50 人に増やしても TTV の陽性率は高かったが、約８割の小児が TTV に感染しているという報告があるので、特定の遺伝子型と川崎病が関連しているかについて検討しなければならない。また、患者のリンパ節標本から得た DNA を解析したところ、TTV に極めて近縁な Torque teno midi virus（TTMDV)が検出された。さらに別の患者検体から RDV 法により未知の遺伝子配列を得て、genome walking 法により伸長したが GenBank には相同性のある遺伝子を見つけることができなかった。この配列は同一の病院からの７検体中２検体が PCR で検出された。川崎病の原因であるか否かについては今後検討する予定である。次世代型シークエンサーを用いた解析については、ゲノム解析センターの年報を参照。[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、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)、寺井勝・濱田洋通（東京女子医科大学医学部)、石井正浩・緒方昌平（北里大学医学部)、佐地勉（東邦大学医学部)、佐藤誠一(新潟市民病院)、川崎富作(日本川崎病研究センター)]

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１型ウイルス非構造蛋白質 NS4A の N 末端側領域の解析

デングウイルスは７種類の非構造蛋白質（NS1～NS5）を有する。酵素活性を有する NS3 および NS5 以外の NS 蛋白質機能は、ウイルスの複製に関与すると考えられているものの、その作用機序には不明な点が多い。NS4A は 150 アミノ酸から成り、その C 末端側 100 アミノ酸のほとんどが膜結合領域であるが、N 末端側の 50 アミノ酸は膜とは結合せず細胞質側に存在すると考えられている。本研究ではこの N 末端側 50 アミノ酸に注目し、ウイルス増殖における本領域の必要性について考察した。デング１型ウイルスの完全長 cDNA クローンを用いて、NS4A の N 末端側 11 から 50 アミノ酸（11－50）までを欠失させたクローン（d11－50）およびこの領域を日本脳炎ウイルス（JEV）の配列に置換したクローン（11－50JEV）を構築した。これらよりウイルス RNA ゲノムを合成し、Vero 細胞へトランスフェクションして変異体ウイルスの産生を試みた。その結果、d11-50 変異体と 11-50JEV 変異体の両方でウイルスの産生は認められなかった。これよりデング１型ウイルス NS4A の N 末端側がウイルスの増殖に必須であることが明らかとなった。またこの部位がウイルス種特異性を有することが示唆された。[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ため、実際の診断に応用した。[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)、竹下望・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を行う上で最適な動物モデルは未だ確立されていない。そこで、我々は新世界ザルに属するマーモセットに着目し、そのデングウイルスに対する感受性について検索を行った。デングウイルス2型野外分離株を接種したマーモセットの一部で発熱・活動量低下といった臨床症状の変化が認められた。また、全ての個体で白血球減少が認められると共に、血小板減少・肝酵素の上昇といったデングウイルス感染患者で認められる変化が認められる個体もあった。さらに一部の個体では腎酵素の上昇も認められた。剖検の結果、これらの個体の一部では腎臓に肉眼的な変化が認められ、組織病理学的には腎臓および肝臓に著変が認められた。これらの結果から、マーモセットがデングウイルスに対して他動物種に比べ高い感受性を有するだけでなく、個体差は認められるもののヒトに類似した臨床症状を呈する事が示された。[大松　勉、高崎智彦、倉根一郎、濱野正敬・明里宏文（医薬基盤研究所・筑波霊長類センター)、中村紳一朗(滋賀医科大学)、片貝裕子（予防衛生協会）]

(4)FcγRIIA発現BHK-21細胞を用いた抗デングウイルス抗体依存性感染増強(ADE)アッセイの開発

中和能を有しない DENV 型交差抗体に起因すると考えられている抗体依存性感染増強(ADE)によると考えられている.そこでFcγ受容体の1つであるFcγRIIA(CD32a)を恒常発現するBHK-21細胞を作製しADEアッセイの開発を行った.FcγRIIAをpcDNA3.1(neo+)にクローニングし,ハムスター胎児腎細胞由来BHK-21細胞に導入した.その結果薬剤選択条件下において 80%以上の発現率が観察されたクローンBHK-FcγRIIA細胞を得た.中和能を有しない抗DENVマウスモノクローナル抗体とDENV-2を反応し,BHK-FcγRIIA細胞にそれぞれ接種したところDENV-2の力価は高力価であり,DENV-2のモノクローナル抗体によるADEが観察された.同様の現象は抗DENV IgG陽性患者血清でも観察されたが抗DENV IgG陰性患者血清では観察されなかった.[林　昌宏､高崎智彦､モイ メンリン、小滝　徹、倉根一郎]

(5)治療ターゲットとしての Fcγ受容体ⅡA 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,FcγRIIAをCos-7細胞に導入した細胞を用いて,FcγRIIA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 FcγRIIA 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 FcγRIIA 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 メンリン、倉根一郎]

2.　日本脳炎ウイルスに関する研究

(1)欠失・挿入変異体を用いた日本脳炎ウイルス3‘非翻訳領域の解析

日本脳炎ウイルスには５つの遺伝子型が存在しているが、本国で分離されるウイルスは９０年代初頭を境に３型から１型へと変化した。３型と１型では 3’非翻訳領域に特徴的な差異があり、１型は３型に比べ明らかに短い。さらに最近の遺伝子解析により、同じ３型でも８０年代中期以降は９塩基の欠失のあるものが多く分離されたことや、最近分離された１型の一部には新たに５塩基あるいは９塩基の欠失が確認されている。このように日本脳炎ウイルスの 3’非翻訳領域は次第に短縮化する傾向にある。この短縮化がウイルス性状にどのような変化をもたらすかを探るために以下の解析を行なった。今回我々は４種類の欠失変異体クローンと１種類の挿入変異体クローンを構築した。欠失変異体クローンは最近確認された５塩基および９塩基の各々（d5, d9）および両方を欠失させたもの（d5d9）および欠失の確認される領域

全体を欠失させたもの（d27）を、挿入変異体クローンは１型には存在せず３型で観察される配列を挿入したものを作製した。これらから合成したウイルスゲノムRNAをVero細胞に導入したところ、すべての変異体クローンから組換えウイルスが産生された。組換えウイルスの増殖特性を調べたところ、Vero細胞およびPK-15細胞での増殖能に顕著な差異は観察されなかった。以上の結果より、サル由来細胞および日本脳炎ウイルスの増幅動物であるブタ細胞での増殖特性に、今回導入した塩基の欠失および挿入は影響しないと考えられた。[加藤文博、田島茂、小滝徹、高崎智彦、倉根一郎]

(2)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

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（日本脳炎流行予測調査事業）
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、高崎智彦、田島　茂、大松　勉、根路銘令子、小滝　徹、モイ メンリン、池田真紀子、倉根一郎、小山田敏文・清水良太（北里大学獣医学部獣医病理学研究室）、水野俊秀（国立循環器病センター人工臓器部）]

(3)イノシシにおける日本脳炎ウイルス感染実態の調査研究

ヒトの住環境に出現したイノシシを中心に日本脳炎ウイルス感染状況をウイルス学的および血清学的に検討した。平成20年12月上旬に、兵庫県西宮市で捕獲されたイノシシの血液から日脳ウイルスが分離され、国内のブタから分離されたウイルスと近縁であった。また、約15%のイノシシが抗日本脳炎IgG抗体を保有していたが、IgM抗体が陽性であったのは38頭中１頭であった。[高崎智彦、田島茂、林昌宏、小滝徹、倉根一郎、澤辺京子・小林睦生（昆虫医科学部）]

(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

第三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茨城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)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用テキストの英語版の作製

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の研修用テキストについて英語版を作製し、WHOに提供した．本法により日本脳炎ウイルスの中和抗体価測定にかかる時間が短縮される．また本法は判定に特定の機器等を必要とせず，基本的な実験施設があれば簡便に判定可能である．したがって本法の手技の啓蒙は世界における日本脳炎ウイルスの感染症流行状況等の情報収集に寄与するため、国際貢献に資するものである．[林　昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

(6)日本脳炎ウイルスの活動と気象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感染源調査（抗体調査）のデータをもとに下記の気温（平均気温、最高気温、真夏日の日数など)、降水量と日本脳炎ウイルスとの相関関係を検討し、気温と正の相関をすることを見出した。さらに地域における相関の強さの相違を調査した。[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脳炎等フラビウイルス脳炎における脳内免疫機構の解析

ウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルスは脳炎をひき起こすフラビウイルスである。これらのウイルス感染における中枢神経系の免疫病態機構を解明した。これらのウイルスの脳内感染で誘導されるT細胞は各ウイルスに特異的なT細胞であり、これらの現象は、明確な症状が認められなくても感染が成立していれば認められた。[藤井克樹、北浦一孝、高崎智彦、林　昌宏、倉根一郎、早坂大輔・小池　智（東京都神経科学総合研究所)、鈴木隆二（国立病院機構 相模原病院臨床研究センター）]

4.　チクングニヤウイルスに関する研究

(1)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

スリランカから帰国後，発熱，関節痛，筋肉痛，鼻出血を呈した 50 代女性患者の急性期血清および回復期血清を用いてCHIK熱の実験室内診断を行った．RT-PCR,リアルタイム RT-PCR 法により急性期患者血清から CHIKV が検出された.検出されたウイルスのE1蛋白質領域の遺伝子を解析した結果近年流行中のレユニオン島分離株の遺伝子配列と 99%一致した．またウイルス分離の結果，Vero細胞に激しい細胞変性効果が観察され，CHIKV遺伝子が検出された．ウイルス培養上清を精製・濃縮し形態的観察を行ったところ直径約 70nm のウイルス粒子が観察された．血清学診断の結果は特異的 IgM，中和抗体陽性であり，患者はCHIK熱と実験室診断された。さらに分離したCHIKVよりプラーク形成能の異なるウイルス株をサブクローニングしたところ増殖能の異なる2種のウイルス株を得た.これらのウイルス株のVero細胞における増殖性は異なっていた。[林　昌宏､高崎智彦､小滝　徹、伊藤美佳子、倉根一郎、田中恵子（感染病理部)、西堀武明（長岡赤十字病院感染症科)、渡辺香奈子（新潟県保健環境科学研究所ウイルス科）]

(2)チクングニヤ熱と確定診断されたインドからの輸入感染症症例

インド滞在中に発熱・発疹・関節痛を認め、帰国後も関節痛が持続するため病院を受診した患者において実験室診断を行った。その結果間接蛍光抗体法においてチクングニヤウイルスIgM20倍､IgG 160倍､中和抗体価1280倍、IgM-capture ELISA：IgM抗体陽性であった。したがって本症例は、チクングニヤ熱の輸入症例と確定診断された。本症例は国内における3例目の輸入症例である。[高崎智彦、林　昌宏、倉根一郎、青山幾子・弓指孝博・加瀬哲男・高橋和郎（大阪府立公衆衛生研究所)、宇野健司・後藤哲志・片山智香子・中村匡宏・塩見正司（大阪市立総合医療センター)､仁科展子･齊藤武志･森登志子･穴瀬文也・吉田英樹（大阪市保健所）]

5.　その他のアルボウイルスに関する研究

(1)フラビウイルス共通プライマーを用いた迅速診断法の確立

フラビウイルス間で比較的共通した塩基配列の認められる膜（E）タンパク領域，非構造タンパクである NS3, NS5 領域にそれぞれ PCR プライマーを設計し，フラビウイルス遺伝子の増幅を検討した．その結果蚊によって媒介される日本脳炎ウイルス，ウエストナイルウイルス，セントルイス脳炎ウイルス,マレーバレー脳炎ウイルス，デングウイルス，ダニによって媒介されるロシア春夏脳炎ウイルス，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．また本プライマーは宿主であるヒトおよびカ由来の遺伝子を検出しなかった。したがって本プライマーはフラビウイルス遺伝子を特異的に検出し、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]

(2)野生コウモリにおけるフラビウイルス暴露について

デングウイルスや日本脳炎ウイルスは蚊の媒介によりヒトへの感染が成立する病原体である。野生動物がそれら蚊媒介性ウイルスの感染環へ関与する可能性も考えられる。コウモリは様々な病検体の感染環への関与が示唆されている野生動物であり、蚊媒介性ウイルスの感染環へ関与する可能性も考えられる。そこで、野生コウモリにおける日本脳炎ウイルスおよびデングウイルスの暴露

について検討した。間接 ELISA 法による抗デングウイルスおよび日本脳炎ウイルス抗体の検出を試みた結果、野生オオコウモリ 46 匹中 16 匹で抗デングウイルス抗体陽性、17 匹で抗日本脳炎ウイルス抗体陽性を示した。特に、ルーセットオオコウモリでは 15 匹全てが抗デングウイルス抗体陽性、14 匹で抗日本脳炎抗体陽性を示した。コウモリ腎臓由来初代培養細胞を用いた感染実験の結果、日本脳炎ウイルスに対する感受性は有するもののデングウイルスに対しては感受性を示さなかった。[大松　勉、高崎智彦、倉根一郎、上田直也・伊波興一朗・吉川泰弘（東京大学農学部)、渡辺俊平・明石博臣（東京大学農学部）、 Joseph S. Masangkay （ University of the Philiipines Los Baños）]

(3)ベネズエラウマ脳炎の診断法の確立

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ついては、現在国内における迅速診断法は確立されていない。そこで血清診断法としてベネズエラウマ脳炎診断用 ELISA の確立を目指し、ELISA 用抗原としてベネズエラウマ脳炎ウイルス用中空粒子および抗原陽蛋白の作製を試みている。ベネズエラウマ脳炎構造蛋白質発現プラスミドを 3 種作成し、その発現を確認したところ細胞外への蛋白質の発現は認められるもののその発現効率は低かった。さらに、発現量の高いプラスミドの作製を今後検討し血清診断法を確立していくと共に、病原体診断法の確立も進める。[大松　勉、高崎智彦、倉根一郎]

Ⅵ. 神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

(1)狂犬病ワクチンの国家検定試験法の改良に関する研究

狂犬病ワクチンの国家検定試験ではマウスの生死を指標とした力価試験を行なっている。しかしながら、動物愛護の観点から実験動物の苦痛をより軽減した上で実施される試験法が望まれる。そこで、生死ではなく体重または症状を指標とする人道的エンドポイントを導入した新たな試験法について検討した。その結果「20%以上の体重減少を指標とした場合では3.8日の苦痛軽減効果が得られること」、「全身麻痺の症状を指標とした場合には4.3日の苦痛軽減効果が得られること」が明らかにされた。体重測定は作業が煩雑であることと、全身麻痺は判別が容易であり判定者による差が出にくいことから、全身麻痺の症状を人道的エンドポイントの指標にするのが適当と考えられた。[伊藤睦代、中道一生、倉根一郎、西條政幸]

2. JCポリオーマウイルスに関する研究

(1)脳脊髄液を用いた JC ポリオーマウイルス遺伝子のリアルタイム PCR 検査体制の整備と進行性多巣性白質脳症(PML)の診断支援

PML は免疫不全患者等において発生する致死的な脱髄性疾患であり、持続感染した JC ポリオーマウイルス(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、脳脊髄液を用いた JCV のリアルタイム 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等のデータ解析を行った。平成 20 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 94 件の依頼を受け、9 検体(8 症例)を JCV 陽性と判断した。JCV 陽性患者の基礎疾患は HIV 感染症が 2 例、白血病等の血液系疾患が 3 例、その他(全身性エリテマトーデス、サルコイドーシス等)が 3 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に伴って JCV 量が変動することが分かった。本検査系は PML の迅速診断だけでなく、治療法の検討においても有用な検査技術であることが示唆された。[中道一生、伊藤睦代、倉根一郎、西條政幸]

(2)マウスの脳におけるポリオーマウイルスの持続感染モデルの確立

ヒトポリオーマウイルスに属する JC ポリオーマウイルス(JCV)は脳に持続感染することが知られているが、宿主域がヒトのみに限られているため動物モデルが確立されていない。ポリオーマウイルスの脳における持続感染モデルの確立を目的として、脳定位微量投与系を用いて

JCV に近縁なマウスポリオーマウイルス(MPyV)をマウスの脳に接種し、その動態を調べた。脳定位固定装置にマウスを固定した後、外科的処置によって脳(線条体)に微小カテーテルを挿入し、マイクロインジェクターを用いて微量のウイルス液を接種した。免疫が正常なマウスではMPyVが一過的に増加した後に排除されることが分かった。一方、免疫不全マウスでは、接種後30日に亘る長期においてMPyVが脳に持続的に感染することが示された。また、MPyVを接種した免疫不全マウスの脳における自然免疫関連遺伝子の発現パターンはウイルス非接種群と同程度であったことから、この持続感染はMPyVが脳実質において免疫応答を賦活しないことによるものと考えられた。[中道一生、伊藤睦代、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)組換え単純ヘルペスウイルスのチミジンリン酸化酵素の発現と迅速な薬剤感受性試験法の開発

単純ヘルペスウイルス1型（HSV-1)、2型（HSV-2）および水痘・帯状疱疹ウイルス(VZV)による感染症は、アシクロビル（ACV）などのウイルス性チミジンリン酸化酵素（vTK）関連薬剤により治療される。本研究では、293T細胞に組換えvTKを一過性に発現させ、vTK欠損HSV-1 感染時の薬剤の増殖抑制効果を測定することにより、薬剤感受性試験成績を迅速に得るシステムを開発した。ACV感受性HSV-1 TASおよびTK欠損ACV高度耐性HSV-1 TARを用いた。vTK遺伝子に変異のある種々のACV耐性HSV-1のvTKを発現ベクタートランスフェクション法により293T細胞で一過性に発現させた。各々のHSV-1のvTK発現293T細胞におけるACVならびにビブリジン(BVDU)のHSV-1 TARに対する増殖抑制効果をyield reduction assay法で検討した。ACVとBVDUの各濃度におけるHSV-1 TARのvTK発現293T 細胞における増殖程度は、プラークアッセイおよび定量的リアルタイムPCR法で解析した。ACV感受性HSV-1のvTKが発現された293T細胞では、40μg/mlのACVならびにBVDUによりHSV-1 TARの増殖は強く抑制されるのに対し、高度耐性株のvTK発現細胞では全く抑制されなかった。一方、中等度耐性株のvTK発現細胞におけるACVのHSV-1 TARの増殖抑制効果は、感受性株と高度耐性株 vTK 発現細胞での増殖抑制効果の中間に位置した。本システムは、臨床検体よりvTK遺伝子を PCR で増幅できれば、一般的な薬剤感受性試験であるウイルス分離法に比べて、より迅速に薬剤感受性成績を得ることが可能である。耐性の程度の評価も可能で、治療法の選択に有用である。[西條政幸，塩田智之]

Ⅶ. ヘルペスウイルスに関する研究

1. 水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）に関する研究

(1)水痘ワクチン株による帯状疱疹からの二次感染症例の検討

水痘ワクチンは安全性の高い生ワクチンであり、副反応として発疹を認めることがあるが、健常者に二次感染をきたすことは極めてまれである。今回、1歳5ヵ月時に水痘ワクチン接種した3歳女児が帯状疱疹を発症、その19日後に1歳の弟が水痘を発症したケースがあった。両児から水疱液および痂皮検体を採取したところ、弟由来の検体よりVZVのDNAが検出された。そのDNAを用いてgene62の全塩基配列を同定した結果、1塩基のみ同義的置換を有するがワクチン株と判明した。野生株との組換えの可能性を否定するため、塩基配列5745(ORF6)及び94167(ORF54)部位を検討し、ワクチン株特異的配列を保持していることを確認した。本症例はわが国初の水痘ワクチンによる二次感染例で、世界的に見ても9例目である。また帯状疱疹から二次感染をきたした健常感受性者としては世界で初めての報告である。姉弟間の濃厚接触が二次感染に重要な因子と考えられた。[大塚岳人（有隣病院)、五味康行(阪大微生物病研究会)、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

我々が開発した尿濾紙によるマススクリーニング法を用いて新生児4500例について先天性感染を検討した。昨年度と併せ6500新生児中21例がCMV陽性、即ち、先天性CMV感染児であった。尿や乾燥臍帯など追加検体を得

て最終的に全例について先天性感染を確認した。このうち、5 例が何らかの臨床症状を出生時に示していた。内訳は、小頭症 1 例、点状出血や肝脾腫などの典型症状 3 例、低体重 4 例であった。残りの 16 症例については、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感染児であった。すべての同定した先天性 CMV 感染児について、CT 検査、ABR 聴覚検査、発達検査などのフォローアップを行なっている。現在までに、出生時顕性の 5 例中 4 例、不顕性 16 例中 1 例で難聴や発達障害などの神経学的な遅延性後遺症を認めた。[井上直樹、津田美穂子、福井良子、山田壮一、倉根一郎、こども家庭総合研究事業(研究代表者：藤枝憲二)参加医療機関]

(2)CMV ゲノムタイプ解析を利用した感染経路の検討

先天性 CMV 感染児 21 例中 12 例に年長同胞があり、現在までに、そのうちの 8 例について感染児と CMV 遺伝子配列を比較した。遺伝子型が多く型間配列も大きく異なる gN や UL144 などの遺伝子の塩基配列を解析したところ、すべてのペアで配列の完全な一致が見られた。従って、外部で感染された年長同胞が尿・唾液などに排泄したウイルスにより、妊婦の感染が発生したものと考察され、ワクチン開発の重要性が指摘できる。なお、遺伝子型は様々な組合せであることから、特定の遺伝子型株が、先天性感染に関与するわけではないとみられる。[井上直樹、津田美穂子、福井良子、倉根一郎]

(3)発達障害児における先天性 CMV 感染のレトロスペクティブ解析

先天性 CMV 感染症が発達障害などの後遺症を引き起こす実態を、乾燥保存臍帯を用いてレトロスペクティブに解析してきた。今年度は、原因不明の発達障害 (DQ<70) 児 20 名の乾燥臍帯を検討し、5 名から CMV が検出された。この 5 名の遠城寺式および新 K 式発達検査で測定した発達障害の程度は、重度が 2 名、中等度 2 名、軽度 1 名であった。頭蓋内石灰化は 5 名のうち 4 名にみられ、難聴は 3 名に認められた。これら 5 名はいずれも新生児期に無症状であったが、新生児期以降に発達障害が疑われており、その時期は生後 1 ヶ月から 1 歳程度であった。症例数が少ないためその頻度を詳細に論じることは難しいが、予想外の高頻度であることは間違いなく、先天性 CMV 感染症が小児の健康に対して重大な影響を与えていると考えられた。[古谷野伸(旭川医大)、井上直樹]

(4)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 が唯一の小動物の先天性感染動物モデルである。GPCMV 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、一方のウイルス株では約 1.6kb の欠失が存在していること、この領域が個体での増殖に必須であることを昨年度明らかにした。今年度、この領域の詳細な遺伝子構造を RACE 法を用いて解析し、splicing を伴う二つの遺伝子発現ユニットの存在を明らかにした。これらの遺伝子発現ユニットは g129 および g131 と名づけた蛋白をコードし、それぞれヒト CMV(HCMV)の UL128 および UL130 と相同性をもつこと、感染後期に発現されること、g131 は感染動物個体においても発現されていることなどを明らかにした。g131 発現プラスミドの構築およびウサギ抗 g131 ポリクローナル抗体を作製することにより、g131 蛋白は単独では細胞膜表面へ移行しないが、gH 及び gL 蛋白との共発現により膜表面へと移行すること、また g131 蛋白は gH/gL 蛋白と共局在することを示した。また、g131 はウイルス粒子構成蛋白であった。これらのことから g131 蛋白は、内皮や上皮細胞への感染指向性を決定することが明らかにされつつある HCMV UL130 と類似した機能を持つと考察された。[山田壮一、野澤直樹、福井良子、津田美穂子、片野晴隆(感染病理部)、筒井祥博 (浜松医大)、倉根一郎、井上直樹]

(5)新規抗 CMV 化合物 133G4 の作用機序の解析

核酸基質アナログである抗ヘルペスウイルス薬は有効な反面、耐性の出現、副作用、投与法の制約などから作用機序の異なる薬剤の開発が求められている。しかしながら、増殖が遅くプラーク形成に 1-2 週間を要する CMV に対する薬剤検索には多大な困難が伴う。我々は、迅速簡便に CMV の力価を測定できるレポーター細胞株を樹立し、この細胞株を用いてランダム化合物 9600 種類よりいくつかの抗 CMV 化合物を同定してきた。今年度は、その

ひとつ133G4と名づけた化合物の作用機序を解析した。133G4は、プラーク減少法で4.5±1.0μMのEC50を示し、細胞毒性CC50が100μM以上、即ちSIが20以上であった。感染後12-24時間でその効果を示し、IE蛋白発現を阻害しないが、初期遺伝子発現をRNAレベルで阻害した。CMV IE2の一過性単独発現系を用いてレポータープラスミドの転写活性化が阻害された。IE2、IE62、細胞性転写因子USF1、TATA結合蛋白TBPなどとGAL4結合配列ドメインの各種融合蛋白を作成し、133G4はIE蛋白、USF1蛋白、TBP蛋白のDNA結合などの機能を阻害するものでないことを示した。一方、ChIPアッセイにおいて、TBPのプロモーター複合体への結合量が変化しないにもかかわらず、Pol II蛋白の結合量が減少していることが明らかとなった。133G4化合物の誘導体の多くが強い細胞毒性を示すこと、Pol II蛋白のプロモーター複合体形成には細胞性因子Med蛋白群が関与していることが最近明らかにされてきていることなどから、133G4はIE蛋白とMed蛋白との相互作用を何らかの形で特異的に阻害する可能性が考察された。[井上直樹、神道慶子、福井良子、山口十四文(帝京科学大)、倉根一郎]

Ⅷ. リケッチアに関する研究

1. リケッチアに関する研究

(1)リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築

疫学的研究として、四国4県の内科標榜医療機関におけるつつが虫病と日本紅斑熱のサーベイランスの認知度と診断・報告状況の調査を行った。関東以北地域、東海中部北陸地域、中国四国地域、九州沖縄地域で、つつが虫病と日本紅斑熱の患者発生状況調査と、推定感染地におけるダニと動物の実態調査を引き続き行い、知見を積み重ねた。日本紅斑熱死亡例の出た宮崎市では、症例定義をもとに前向きの疫学調査を実施した。東北地方、北海道北部で大陸と共通する紅斑熱群についての調査や、南西諸島でのツツガムシ調査でも有用な成果が得られた。イヌの日本紅斑熱への関与について検討し、PCRでの疫学、感染実験の結果からは保菌動物としての可能性は低いことが示唆された。検査・診断的研究として、*Orientia tsutsugamushi* Shimokoshi株検出が可能な系を確立し検査法の改善を行った。実験室診断における試料として、患者のダニ刺し口の痂皮の検査材料としての有用性について検討し、痂皮が最適と判断された。予防・治療的研究としては、日本紅斑熱の重症化機序解明のために、島根県の23症例の日本紅斑熱患者確定症例の臨床経過を調査し、生体防御の指標として血中サイトカイン値を測定し、重症度との関連性を検討した。TNF-αは重症化を予測するために有用な指標となることが推測された。啓発活動として、四国4県連携事業の動物の日本紅斑熱抗体調査と、住民への感染予防啓発のためのポスター作成に参加した。[岸本壽男、安藤秀二、猪熊　壽(帯広畜産大学獣医学部)岩崎博道、高田伸弘(福井大学医学部)、大橋典男(静岡県立大学食品栄養科学部)、岡部信彦(感染症情報センター)、川端寛樹(細菌第一部)、倉田　毅(富山県衛生研究所)、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) 新規リケッチア症の国内探索に関する研究

平成２０年８月，宮城県仙台市における紅斑熱群リケッチア症の患者発生が確認された。刺し口検体がリケッチア属PCR陽性となり，ペア血清による*Rickettsia japonica*に対する抗体価上昇も確認された。従来，この地域においては日本紅斑熱患者の発生は報告されていないため，患者情報の収集と感染推定地域における媒介ベクターと動物の野外調査が８月中旬から開始された。検出遺伝子の解析より，日本国内では確認されていなかった*R. heilongjiangensis*（*Rh*）が確認され，*Rh*に対する抗体価の上昇が確認された。また，野外調査においてイスカチマダニから*Rh*が検出・分離された。一連の調査から，国内に，*R. japonica*による日本紅斑熱以外の*R. heilongjiangensis*による紅斑熱群リケッチア症の発生がはじめて確認され，他にも発生している可能性が示された。範囲を広げ,野外調査を継続している。[安藤秀二、坂田明子、花岡希、岸本壽男、藤田博己（大原綜合病院附属大原研究所)、黒澤昌啓、斉藤若奈（仙台医療センター)、高田伸弘、矢野泰弘（福井大学医学部)、川端寛樹・

高野　愛（細菌第一部，岐阜大学)、酒井克朗・勝見正道・関根雅夫・小黒美舎子・熊谷正憲（仙台市衛生研究所)]

(3) 輸入発疹熱症例の実験室診断に関する検討

発疹熱は，発疹チフス群リケッチア *Rickettsia typhi* を保有するノミによって媒介される急性熱性・発疹性感染症である。国内発生は，1940 年代以降極めて稀だが，世界中に常在地があり,輸入感染症として注意を要する。輸入症例の確定診断は世界的にも稀であるが，2008 年インドネシアのバリ島から日本に帰国した 2 名が，相次いで発症していたことが明らかになった。本疾患は届出感染症ではなく，軽症例が多いと見られ，症例の多数が見逃されていることが推測された。実験室診断を実施した経験から，海外で発生している様々なリケッチア症の今後の正確な診断と把握，適切な治療のために，リケッチア症の実験室診断の体制作りを再検討している。[安藤秀二、坂田明子、岸本壽男、竹下　望（国立国際医療センター国際疾病センター)、井本一也（亀田総合病院総合診療･感染症科)、藤田博己(大原綜合病院附属大原研究所)]

(4) *Oreintia tsutsugamushi* 発現蛋白質の網羅的同定

つつが虫病の起因菌 *Orientia tsutsugamushi* の全塩基配列が報告され，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，Kuroki 株を用いて，GeLC-MSMS 法により発現タンパク質の網羅的同定を行った。

ゲノムにコードされている 1,152 のうち 584 の蛋白質が同定され，同定率は 49.4%であった。同定された蛋白質は，5 つの Tetratrichopeptide repeat(TPR) および 22 の ankyrin repeat を含む蛋白質，5 つのヒスチジンキナーゼ(HK) ,8 つの SpoT 蛋白質，13 の Type IV 分泌系および 11 の Tra 系蛋白質を含んでいた。PSORTb により機能未知の蛋白質の中から 3 つの外膜蛋白質が推測された。

リケッチアにおいて初めて発現が認められた TPR および ankyrin repeat を含む蛋白質は，ほ乳類由来であり,蛋白質の相互作用に関係していることが推察された。HK および SpoT は，シグナル伝達や環境応答への関連が示唆された。TypeIV や Tra 関連蛋白質が数多く同定され，菌間での水平遺伝子伝搬の可能性が示唆された。今後，これらの蛋白質の機能解析を行うことにより，リケッチア感染の分子基盤の解明が期待できる。[小川基彦、岸本寿男、大内史子・萩原健一・花田賢太郎（細胞化学部)、松谷峰之介（山口大院・医・ゲノム・機能分子)、内山恒夫（徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)]

(5)発疹チフス群リケッチアのマダニ由来細胞における増殖抑制機序の形態学的解析

マダニ由来培養細胞におけるリケッチアの増殖・増殖抑制に着目し，その機序を形態学的に解析することを目的とした。

マダニ細胞において紅斑熱群リケッチア（SFGR）は増殖したが,発疹チフス群リケッチア(TGR)では増殖抑制が認められた。しかしながら,TGR はマダニ細胞に付着し，侵入していることが確認された。この事実は透過電顕においても確認され，接種細胞表面への TGR の付着像，ファゴサイトーシスの過程，ファゴソームから細胞質への脱出像が観察された。また，リケッチアの分裂像も観察される一方で，多数の小胞内で消化途中のリケッチアが観察された。

リケッチア群とマダニ細胞での増殖・増殖抑制との関係はリケッチア群と媒介節足動物との関係と一致するものであった。また，マダニ細胞への付着侵入過程は TGR についても SFGR と同様に完結し,その後の過程で増殖抑制が起こっていることが明らかになった。電顕観察によれば，小胞内でリケッチア粒子の消化が起こっており，オートファジーの関与などが推測された。[内山恒夫・岸真帆美・山下知輝・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]

(6)日本紅斑熱の病原菌リケッチア･ジャポニカの比較ゲノム解析

日本紅斑熱の病原体である *Rickettsia japonica* はマダニをリザーバーおよびベクターとする細胞内寄生性のグラム陰性細菌である。本研究では，日本紅斑熱の病原性の理解やワクチン開発のための基礎的知見の提供を目的として，*R. japonica* の全ゲノム配列の決定および他の紅斑熱群リケッチア属ゲノムとの比較ゲノム解析および病原因子の探索を行った。

*R. japonica*VR-1363 株からゲノム DNA を調製して約 2

kb インサートサイズのショットガンライブラリーを作成した。15500 リードのシークエンシングを行い，ドラフト配列を決定した。

R. japonica のドラフト配列からゲノムのサイズは約1.2Mb，GC 含量は約 30%で予想され，1605 個の遺伝子候補が存在した。リケッチア属ゲノム間の共通遺伝子群の比較から1135個の遺伝子候補および約470個は偽遺伝子であると推定され，紅斑熱群リケッチア属ゲノムの縮小進化が現在も進行中であることが示唆された。[松谷峰之介・東　慶直・吉岡里美・白井睦訓（山口大院・医・ゲノム・機能分子)、小川基彦、花岡希、安藤秀二、岸本寿男]

(7)地理情報システムを利用したリケッチア感染症の早期警鐘システム構築

地理情報システム(GIS)を応用して，環境媒介生物や，病原体解析結果，地理情報，疫学情報等を融合したリスクマップ作製は，リケッチア感染症の早期警鐘システムの構築に有用である。ArcGISソフトウェア[ESRI]を用いたデータベース構築及び解析法を検討し，必要な地理情報を入手した。患者発生地域でのマダニや野鼠等についての病原体保有状況の調査も行い，情報共有型のGISシステムの構築を目指している。本システムは，複雑な環境媒介生物が関わる多くの感染症への展開が期待された。[花岡希、岸本壽男、安藤秀二]

(8)リケッチア属の迅速診断法の開発

リケッチア属は生物テロに使用される可能性がある病原体であるが，これまでリケッチア属全般を迅速に検出する方法は確立されておらず，病状や感染地域から推測されるリケッチア種に対して診断検出をおこなっている。しかしながら，リケッチアを用いたバイオテロにおいては，属を決定することで迅速に治療方針や防除対策が行えるため，リケッチア属を全般的に検出・早期に識別する方法の開発を目指した。ゲノム情報を用いて，属検出PCR 法の開発及び適応を目指している。[花岡　希、安藤秀二、坂田明子、岸本壽男、松谷峰之介・白井睦訓（山口大学医学部・微生物学講座）]

(9)Q熱コクシエラの生態系における感染リスク評価

本邦の愛玩動物，伴侶動物についてQ熱の感染状況を把握し，ヒトへの感染リスクを評価することを目的とし，28都道府県で採取されたイヌ血清サンプル1098検体(内25都道府県の986検体は血液から抽出したDNAが揃ったもの)，30都道府県で採取されたネコ血清サンプル582検体について，Realtime PCR，Nested PCRを用いた分子疫学，IFAとWBによる血清疫学調査を行った。その結果，25都道府県からのイヌの血液DNA986検体では*C. burnetii* のDNAは検出されなかった。また，イヌ血清1098検体の2%で抗体陽性（12県，22検体，1：64～512の抗体価)を示し，ネコ血清582検体の6.19%で陽性(24県，36検体，1：128～2048の抗体価)を示した。[吉林台、安藤秀二、花岡希、岸本寿男、猪熊壽(帯広畜産大学)]

Ⅸ.　クラミジアに関する研究

1.　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

C.psittaci の感染により発症するオウム病は、肺炎クラミジア*C. pneumoniae*との鑑別が臨床上困難であり、特異的で簡便な検出系の開発が望まれている。そこで*C.psittaci* に対する迅速かつ感度の高い遺伝子検出系の開発を目的にインターカレーション法による Real-time PCR 法を検討した。樹立した Real-time PCR 法による、*C. psittaci* envB 遺伝子検出法は、従来の ompA 領域を標的とした nested PCR 法より約 10 倍高感度であった。またプライマーの設計上、*C. psittaci*、*C. abortus*、*C. felis* DNA は増幅するものの、*C. pneumoniae* および *C. trachomatis* とは反応せず、さらに一般細菌は全て陰性であり、特に *C. pneumoniae* と *C. psittaci* の簡便な鑑別に有用であることが示唆された。また、本法でクラミジア罹患鳥の排菌量を定量的にとらえることが可能になった。[岸本壽男、安藤秀二、福士秀人・大屋賢司(岐阜大学農学部獣医学科獣医微生物学講座)]

(2)オウム病クラミジアの病態発現に関する病原因子の探究

オウム病クラミジアの病態発現に関する病原因子の探究を行うために、*C. psittaci* ゲノム配列の解読と比較解析を行ってきたが、さらに、推定 open reading frame (ORF)コード領域をスポットした DNA アレイを作製し､感染細胞内における遺伝子発現プロファイルをトランスクリプトーム解析し、本菌の細胞内増殖機構の解明を目指した｡前年度までに得られた暫定塩基配列(約 1,163 kbp)についてアノテーションを行った結果、約 300 箇所のフレームシフトが存在した。今年度は、ゲノム DNA の再解析の結果、ほぼ完全な塩基配列を得、推定 ORF (約 1000)をスポットした Mat116 株 DNA アレイを作製した。[岸本壽男、安藤秀二、福士秀人・大屋賢司(岐阜大学農学部獣医学科獣医微生物学講座)]

(3)クラミジア菌PCR検出法及びコクシエラ菌PCR検出法の改良。

PCR法を用いた病原菌DNA検出法は簡便かつ有用な診断法であるが，ポジティブコントロール（P.C.）として菌体から抽出した全ゲノムDNAを用いることから，P.C.のキャリーオーバーの危険性を有している。そこで，昨年度に引き続き組み換え技術を応用し，キャリーオーバーを簡便に見分けることの出来るP.C.をクラミジア菌PCR検出法及びコクシエラ菌PCR検出法に対して各々作製した。昨年度作製したプラスミド（pUC19-LFHA）をもとにして作製したP.C.は各検出系において，ゲノムDNAとは異なるサイズのPCR増幅産物を示し，PCR反応のP.C.としての有用性が確認できた。［花岡希、岸本壽男、安藤秀二］

Ⅹ． その他の研究

1. 染色体に関する研究

(1)化学薬剤による未成熟染色体凝縮法（PCC）の確立とその応用

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

2. 病原体輸送に関する研究

(1)特定病原体輸送シミュレーション

特定 3 種病原体リケッチアを国立感染症研究所から分与依頼先に運搬するにあたり，可能な限り分与先の担当者自らが運搬することを前提に，各種手続，運搬の実際を行う実地シミュレーションを行い，考慮すべき問題点や課題点を洗い出し，より効率的に特定病原体を運搬できるための情報の整理とマニュアル作成を試みた。
実際の移動の当日にかかるコストは，すべてを業者委託するよりも安く上げることができたが，特定病原体の運搬に必要な公安委員会への届出は，担当者が事前に出向いて書類を提出する必要があり，このための旅程のためのコストが上乗せになる。また，担当者が運搬当日，その他の必要人員とともに運搬に拘束されることによる通常業務への圧迫にかかる見えない経費も考慮する必要がある。今後，特定病原体等の運搬に関係する諸機関の担当者により，バイオセーフティとバイオセキュリティのバランスのとれた運搬方法を再検討する必要がある。[安藤秀二]

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１件、ウエストナイルウイルス２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、脳脊髄液の 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

本年度はクラミジア症、リケッチア症、Q 熱例について 72 症例の検査を実施した。さらに，不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を検査した。［安藤秀二、坂田明子、岸本壽男］

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 20 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２０年度は１０ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、１０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.　細胞培養日本脳炎ワクチンの製造前承認検査の実施と報告書の提出

阪大微生物研究会から提出された製造承認に関する申請に関して、医薬品医療機器審査機構の要請に基づき検査を実施し、厚生労働省医薬食品局審査課に報告書を作成提出した。［高崎智彦、田島茂、林昌宏、大松勉、倉根一郎］

4.　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、小滝　徹、田島茂、大松勉、高崎智彦、倉根一郎］

5.　乾燥弱毒生水痘ワクチン及び水痘抗原の検定

水痘抗原国家検定１ロット、乾燥弱毒生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 15 ロットを実施し、全ロットとも合格であった。［井上直樹、山田壮一、福井良子、倉根一郎］

6.　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、3 ロットの乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定（不活化試験および力価試験）を実施し、合格と判定した。［伊藤睦代、中道一生、大松勉、福士秀悦、高崎智彦、林昌宏、西條政幸、倉根一郎］

国際協力関係業務

1.　国際協力機構のベトナム国立衛生研究所強化プロジェクトの一環として、リケッチア実験室診断の技術指導のため１名の研修生を受け入れ、指導した。［安藤秀二、坂田明子、花岡希］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1．欧文発表

1) Maeda, J., Takagi, H., Hashimoto, S., Kurane, I. and Maeda, A.: A PCR-based protocol for generating West Nile virus replicons. Journal of Virological Methods 148(1-2):244-252, 2008

2) 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. Journal of General Virology 89: 642-652, 2008

3) A-Nuegoonpipat, A., Panthuyosri, N., Anantapreecha, S., Chanama, S., Sa-Ngasang, A., Sawanpanyalert, P. and Kurane, I.: Cross-reactive IgM responses in patients with dengue or Japanese encephalitis. Journal of Clinical Virology 42:75-77, 2008

4) Pandey BD, Morita K, Khanal SR, Takasaki T, Miyazaki I, Ogawa T, Inoue S, Kurane I: Dengue virus, Nepal. Emerging Infectious Diseases 14: 514-515, 2008

5) Zheng K, Zhou HQ, Yan J, Ke CW, Maeda A, Maeda J, Takashima I, Kurane I, Ma H, Xie XM: Molecular characterization of the E gene of dengue virus type 1 isolated in Guangdong province, China, in 2006. Epidemiology and Infection 137:73-78, 2008

6) Arai S, Matsunaga Y, Takasaki T, Tanaka-Taya K, Taniguchi K, Okabe N, Kurane I: Japanese encephalitis: surveillance and elimination effort in Japan from 1982 to 2004. Japanese Journal of Infectious Diseases 61:333-338, 2008

7) Iizuka I, Saijo M, Shiota T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Ogata M, Nakauchi M, Kurane I, Mizuguchi M, Morikawa S.: Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections. Journal of Medical Virology 81:1102-1108, 2009

8) Saito T, Fujii T, Kanatani Y, Saijo M, Morikawa S, Yokote H, Takeuchi T, Kuwabara N. Clinical and immunological response to attenuated tissue-cultured smallpox vaccine LC16m8. JAMA 301:1025-33, 2009

9) Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Real-time quantitative polymerase chain reaction for virus infection diagnostics. Expert Opinion on Medical Diagnostics 2:1155-1171, 2008

10) 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. Archives of Virology 153:303-314, 2008

11) Sakai K, Ueno Y, Ueda S, Yada K, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Mutoh K, Yoshioka K, Nakamura M, Takehara K, Morikawa S, Mizutani T. : Novel reovirus isolation from an Ostrich (Struthio camelus) in Japan. Veterinary Microbiology, 134: 227–32, 2009

12) Yamao T, Eshita Y, Kihara Y, Satho T, Kuroda M, Sekizuka T, Nishimura M, Sakai K, Watanabe S, Akashi H, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, Miyata T, Sakata A, Hosokawa M, Nakashima M, Kashige N, Miake F, Fukushi S, Nakauchi M, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Mizutani T : Novel virus discovery in field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). Archives of Virology 154:153-158, 2008

13) Ure AE, Ghiringhelli PD, Possee RD, Morikawa S, Romanowski V: Argentine hemorrhagic fever diagnostic test based on recombinant Junín virus N protein. Journal of Medical Virology 80:2127-2133, 2008

14) Takimoto K, Taharaguchi M, Morikawa S, Ike F, Yamada YK: Detection of the antibody to lymphocytic choriomeningitis virus in sera of laboratory rodents infected with viruses of laboratory and newly isolated strains by ELISA using purified recombinant nucleoprotein. Experimental Animal 57:357-365, 2008.

15) Watanabe S, Mizutani T, Sakai K, Kato K, Tohya Y, Fukushi S, Saijo M, Yoshikawa Y, Kurane I, Morikawa S, Akashi H. : Ligation-mediated amplification for effective rapid determination of viral RNA sequences (RDV). Journal of Clinical Virology 43:56-59, 2008

16) Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Ami Y, Fukushi S, Taguchi F, Tsunetsugu-Yokota Y. Neutralizing antibody against severe acute respiratory syndrome (SARS)-coronavirus spike is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. Microbiology and Immunology 53:75-82, 2009

17) Fukushi S, Watanabe R, Taguchi F: Pseudotyped vesicular stomatitis virus for analysis of virus entry mediated by SARS coronavirus spike proteins. Methods in Moleculer Biology 454:331-338, 2008.

18) Watanabe R, Matsuyama S, Shirato K, Maejima M, Fukushi S, Morikawa S, Taguchi F: Entry from the cell surface of severe acute respiratory syndrome coronavirus with cleaved S protein as revealed by pseudotype virus bearing cleaved S protein. Journal of Virology 82:11985-11991, 2008.

19) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S, Sata T: Mouse-passaged severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus leads to lethal pulmonary edema and diffuse alveolar damage in adult but not young mice. American Journal of Pathology 172:1625-1637, 2008

20) 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. Microbiology and Immunology 52:118-127, 2008

21) 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). Emerging Infectious Dissease 14:347-349, 2008

22) Shirato K, Mizutani T: Tumor necrosis factor and carcinoma by hepatitis C and B virus-infection. In Oncogene Proteins: New Research (edited by Artur H. Malloy and Earl C. Carson). Nova Publishers, pp273-287, 2008

23) Shirato K, Mizutani T: Viral proteins, host cell proteins, and manipulation of the cell cycle by viruses. In Progress in cell growth process research. (edited by Hayashi T) Nova Publishers. pp135-147, 2008

24) Takasaki T, Kurane I, Iwagoe H: Dengue/DHF update 2008: Japan ex Cote d'Ivore.ProMed-mail. Archive Number 20080818.2573,2008

25) Yamamoto K, Matsumoto K, Takasaki T: Chikungunya: Japan ex Malaysia. ProMed-mail. Archive Number 20090204.0494, 2009

26) Tajima S, Takasaki T, Kurane I: Characterization of Asn130-to-Ala mutant of dengue type 1 virus NS1 protein. Virus Genes 36: 323-329, 2008

27) Lim CK, Takasaki T, Kotaki A, Kurane I: Vero cell-derived inactivated West Nile (WN) vaccine induces protective immunity against lethal WN virus infection in mice and shows a facilitated neutralizing antibody response in mice previously immunized with Japanese encephalitis vaccine. Virology 374:60-70, 2008

28) Tani H, Komoda Y, Lim CK, Suzuki K, Moriishi K, Miyamura T, Matsuura Y: Virus-cell interaction of HCV. pp.125-150. In Cheng, H.R. (ed), Structure-based Study of Viral Replication. World Scientific Pub Co Inc., Singapore, 2008

29) Watanabe S, Omatsu T, Miranda ME, Masangkay JS, Ueda N, Endo M, Kato K, Tohya Y, Yoshikawa Y, Akashi H: Epizootology and experimental infection of Yokose virus in bats. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. (in press)

30) Omatsu T, Bak EJ, Ishii Y, Kyuwa S, Tohya Y, Akashi H, Yoshikawa Y: Induction and sequencing of Rousette bat interferon alpha and beta genes. Veterinary Immunology and Immunopathology 124:169-76, 2008

31) Kuraoka M, Furuta T, Matsuwaki T, Omatsu T, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y: Direct experimental occlusion of the distal middle cerebral artery induces high reproducibility of

brain ischemia in mice. Experimental Animals 58:19-29, 2009

32) Gotoh E, Funada A, Mohri M, Lee R, Takakura K: High yields of isochromatid breaks and successive formation of chromosome exchanges may lead to reproductive cell death following high-LET irradiation. Central European Journal of Biology 3:121-133, 2008

33) Gotoh, E. Drug-Induced Premature Chromosome Condensation (PCC) Protocols: Cytogenetic Approaches in Mitotic Chromosome and Interphase Chromatin", In: Chellappan SP (Eds.): Chromatin protocols: Second Edition, Vol. 523, Humana Press, pp83-92, 2009.

34) Ogi S, Gotoh E, Uchiyama M, Fukuda K, Urashima M, Fukumitsu N: Influence of hilar deposition in the evaluation of the alveolar epithelial permeability on 99mTc-DTPA aerosol inhaled scintigraphy. Japanese Journal of Radiology 27:20-24, 2009

35) Fukushima E, Ishibashi K, Kaneko H, Nishimura H, Inoue N, Tokumoto T, Tanabe K, Ishioka K, Ogawa H, Suzutani T: Identification of a highly conserved region in the human cytomegalovirus glycoprotein H gene and design of molecular diagnostic methods targeting the region. Journal of Virological Methods 151:55-60, 2008

36) Fukui Y, Shindoh K, Yamamoto Y, Koyano S, Kosugi I, Yamaguchi T, Kurane I, Inoue N: Establishment of a cell-based assay for screening of compounds inhibiting very early events in cytomegalovirus replication cycle and characterization of a compound identified using the assay. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 52:2420-2427, 2008

37) Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani T, Mizuguchi M, Ushijima H, Kurane I, Inoue N: Genetic linkage among cytomegalovirus glycoprotein N (gN) and gO genes, with evidence for recombination from congenitally and postnatally infected Japanese infants. Journal of General Virology 89:2275-2279, 2008

38) Nozawa N, Yamamoto Y, Fukui Y, Katano H, Tsutui Y, Sato Y, Yamada S, Inami Y, Nakamura K, Yokoi M, Kurane I, Inoue N: Identification of a 1.6 kb genome locus of guinea pig cytomegalovirus required for efficient viral growth in animals but not in cell culture. Virology 379:45-54. 2008

39) Koyano S, Inoue N, Nagamori T, Yan H, Asanuma H, Yagyu K, Osaki M, Seiwa C, Fujieda K: Dried umbilical cords in the retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection as a cause of developmental delays. Clinical Infectious Diseases 48:e93-95, 2009

40) Kasem S, Yamada S, Kiupel M, Woodruff M, Ohya K, Fukushi H: Identification of an equine herpesvirus isolated from encephalitis in a reticulatedgiraffe (*Giraffa camelopardalis reticulate*) as equine herpesvirus type 9. Emerging Infectious Diseases 14:1948-1949, 2008

41) Yamada S, Matsumura T, Tsujimura K, Yamaguchi T, Ohya K, Fukushi H. Comparison of growth kinetics of neuropathogenic and nonneuropathogenic equid herpesvirus type 1 (EHV-1) strains in cultured murine neuronal cells and the relevance of D/N_{752} coding change in DNA polymerase gene (ORF30). Journal of Veterinary Medical Science 70:505-511, 2008

42) Muromoto R, Ikeda O, Okabe K, Togi S, Kamitani S, Fujimuro M, Harada S, Oritani K, Matsuda T: Epstein-Barr virus-derived EBNA2 regulates STAT3 activation. Biochemical and Biophysical Research Communication 378:439-443, 2009

43) Fournier PE, Belghazi L, Robert C, Elkarkouri K, Richards AL, Greub G, Collyn F, Ogawa M, Portillo A, Oteo JA, Psaroulaki A, Bitam I, Raoult D: Variations of plasmid content in *Rickettsia felis*. PLoS ONE 3:e2289. 2008

44) 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, Okabe N: An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan. Epidemiology and Infection 136:492-495, 2008

45) Hisada H, Yamazaki T, Inoue M, Sato K, Ando S, Kishimoto T: In vitro activity of garenoxacin against *Chlamydia* spp. Journal of Chemotherapy 20:282-284, 2008

46) Yamazaki T, Takemura H, Inoue M, Ogawa M, Ando S, Sato K, Kishimoto T : The intracellular accumulation of phagocytic and epithelial cells and the inhibitory effect on *Chlamydophila (Chlamydia) pneumoniae* of Telithromycin and comparator antimicrobials. Journal of Chemotherapy 20:428-430, 2008

47) Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Ando S, Takano A, Watanabe H , Kawabata H: Rickettsia sp. In Ixodes granulatus ticks, Japan. Emerging Infectious Diseases 14: 1963-1965, 2008

48) Takano A, Ando S, Kishimoto T, Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Kawabata H, Watanabe H: Presence of novel *Ehrlichia* sp. in *Ixodes granulatus* found in Okinawa, Japan. Microbiology and Immunology 53: 101-106, 2009

49) Takada N, Fujita H, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A. Chaithong U: Spotted fever group *Rickettsia* sp. Closely related to *R. japonica*, Thailand. Emerging Infectious Diseases 15: 610-611, 2009

50) Yamauchi T, Obara M, Watanabe M, Ando S, Ishikura M, Shinagawa Y, Hasegawa S, Nakamura K, Iwai M, Kurata T, Takizawa T: Survey of tick fauna possessing the ability to act as vectors of rickettsiosis in Toyama Prefecture, Japan. Medical Entomology and. Zoology 60, page, 2009

2．和文発表

1)倉根一郎：気候変動の感染症に及ぼす影響．感染症 38:199-206, 2008

2）錫谷達夫,西條政幸：アシクロビルの作用機序の耐性化．デルマ（Derma）147:96-100, 2008

3）西條政幸：ウイルス性出血熱．pp234-239, 産業保健ハンドブック IV 職場の感染症対策（和田攻編），東京, 2008

4）西條政幸：ハンタウイルス肺症候群．pp 170-171, 東京都感染症マニュアル 2009（東京都新たな感染症対策委員会編），東京, 2009

5）西條政幸：腎症候性出血熱．pp 172-173, 東京都感染症マニュアル 2009（東京都新たな感染症対策委員会編），東京, 2009

6）西條政幸：B ウイルス．pp 268-269, 東京都感染症マニュアル 2009（東京都新たな感染症対策委員会編），東京, 2009

7）西條政幸：二パウイルス．pp288-289, 東京都感染症マニュアル 2009（東京都新たな感染症対策委員会編），東京, 2009

8) 北本憲利,森川茂,西條政幸,加藤陽二,田中智之：抗ワクシニアウイルス単クローン抗体のサル痘ウイルスに対する反応性とその有用性．感染症学雑誌 82:224-225, 2008

9)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 4:139-142, 2008

10)高崎智彦:国際的な感染症～ウイルス感染を中心として～ウエストナイル熱．アレルギー・免疫 15:52-56, 2008

11)高崎智彦.感染症ごとにみたウイルス感染症の診断と対策「日本脳炎・ウエストナイル熱」.臨床検査 53: 77-81, 2009

12)高崎智彦. フラビウイルス脳炎. Brain and Nerve 61:145-151, 2009

13)林昌宏,高崎智彦:黄熱.産業保健ハンドブックⅥ 職場の感染症対策－予防管理・発生時対策・臨床・補償のすべてー, pp.260-264, 和田攻（監修）,財団法人産業医学振興財団, 2008年

14)高崎智彦:デング熱. 産業保健ハンドブックⅥ 職場の感染症対策－予防管理・発生時対策・臨床・補償のすべてー, pp.243-246。和田 攻 監修, 財団法人産業医学振興財団, 2008年

15)林昌宏：チクングニヤ熱. 化学療法の領域 24:1606-1613, 2008

16)大松勉, 名和優:デング熱. 診断と治療 97:551-555, 2009

17)井上直樹:サイトメガロウイルスの新生児マススクリーニング・レトロスペクティブ診断・遺伝子型解析. 日本周産期・新生児学会雑誌 44:112-115, 2008,

18)岸本寿男:発疹熱の輸入症例について. WORLD FOCUS. BMSA110:1-2,2008

19)岸本寿男:肺炎クラミジアの持続感染による動脈硬化. 鳥取臨床科学研究会誌 1:240-245,2008

20)岸本寿男:マイコプラズマ感染症.わかりやすい内科学 pp518,2008

21)岸本寿男:クラミジア感染症.わかりやすい内科学 pp514-516,2008

22)岸本寿男:リケッチア感染症.わかりやすい内科学 pp510-511,2008

23)岸本寿男:Q熱.わかりやすい内科学 pp512,2008

24)岸本寿男:クラミジア培養・同定.最新臨床検査項目辞典 pp651,2008

25)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 pp650-651,2008

26)岸本寿男:Q 熱コクシエラ.バイオセーフティの事典 pp227-228,2008

27)岸本寿男:オウム病クラミジア. バイオセーフティの事典 pp234,2008

28)岸本寿男:クラミジアトラコマチス. バイオセーフティの事典 236,2008

29)岸本寿男:つつが虫病リケッチア. バイオセーフティの事典 pp231,2008

30)岸本寿男:ロッキー山紅斑熱リケッチア. バイオセーフティの事典 pp233,2008

31)岸本寿男:日本紅斑熱リケッチア. バイオセーフティの事典 pp234,2008

32)岸本寿男:肺炎クラミジア. バイオセーフティの事典 pp235,2008

33)岸本寿男:発疹チフスリケッチア. バイオセーフティの事典 pp229,2008

34)岸本寿男:発疹熱リケッチア. バイオセーフティの事典 pp230,2008

35)岸本寿男:日本紅斑熱リケッチア. バイオセーフティの事典 234,2008

36)岸本寿男，安藤秀二：PCR 法(クラミジア)．KEY WORD 感染症 pp244-245，2008

37)岸本寿男，安藤秀二：呼吸器症候群 I．その他の呼吸器疾患を含めて　感染症呼吸器疾患　人畜(人獣)共通感染症　オウム病.日本臨床新領域別症候群シリーズ No.8，40：221-264，2008

38)岸本寿男，安藤秀二：つつが虫病．小児疾患診療のための病態整理．小児内科増刊号 40:1226-1228，2008

39)岸本寿男，安藤秀二：クラミジア感染症．新臨床内科学（第 9 版）pp1337-1339，2008

40)岸本寿男，安藤秀二：クラミジア呼吸器感染症の血清診断．日本胸部臨床 67：S9-S15，2008

41)安藤秀二，坂田明子，岸本寿男：発疹熱．化学療法の領域 24:1636-1640，2008

42)安藤秀二：病原体の実験技術．バイオメディカルサイエンス研究会編集，バイオセーフティの辞典，みみずく舎/医学評論社，2008

43)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

44)平良勝也，岡野祥，仁平稔，中村正治，稲福恭雄，伊禮史朗，畑芳夫，藤田博己，下地崇，砂川洋子，宮城鈴代，下地久代，平良セツ子，上原真理子，上原健司，宮川桂子，糸数公，矢野泰弘，高田伸弘，角坂照貴，本田俊郎，安藤秀二：沖縄県宮古島で初めて確認されたつつが虫病．病原微生物検出情報 30:17-18，2009

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1) Saijo M. Virological insight into Crimean-Congo hemorrhagic fever outbreak in Xinjiang, China. Third AREVA-Pasteur Forum, Shanghai, China, June 2008

2) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Iwata N, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Kurata T, Morikawa S. Post-exposure vaccination with a highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, for protection of nonhuman primates from monkeypox. 13th Internaional Conference on Infectious Diseases, KL, Malaysia, June 2008

3) Iizuka I, Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Ogata M, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Morikawa S. The loop-mediated isothermal amplification-based diagnostics for monkeypox virus infection. 13th Internaional Conference on Infectious Diseases, KL, Malaysia, June 2008

4) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Iwata N, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Kurata T, Morikawa S. Post-exposure vaccination with a highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, for protection of nonhuman primates from monkeypox. The 7th Japan-China International Conference of Virology, Tokyo, June 2008

5) Saijo M. Post-exposure vaccination with a highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, for protection of nonhuman primates from monkeypox. 2nd US-Japan Medical Biodefense Research and Bioterrorism Symposium, Hawaii, USA, September 2008

6) Saijo M. Diagnostics for viral hemorrhagic fever: further development. 2nd US-Japan Medical Biodefense Research and Bioterrorism Symposium, Hawaii, USA, September 2008

7) Fukushi S, Hirai A, Zamoto A, Yamada YK, Maeda K, Yokoyama M, Yoshikawa Y, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Functional characterization of bat angiotensin-converting enzyme 2 protein in SARS-coronavirus infection. The XIth International Nidovirus Symposium. Oxford, UK, June 2008

8) Fukushi S, Hirai A, Zamoto A, Yamada YK, Maeda K, Yokoyama M, Yoshikawa Y, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Identification of bat ACE2 proteins and their receptor function for SARS-coronavirus. The 7th Japan-China International Conference of Virology. Tokyo, Japan, June 2008

9) Fukushi S, Hirai A, Zamoto A, Yamada YK, Maeda K, Yokoyama M, Yoshikawa Y, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Identification of bat angiotensin-converting enzyme 2 protein and its receptor function for SARS-coronavirus. 42nd Annual U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program. Nagasaki, Japan, May 2008

10) Moi ML, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. Determination of the regions in human FcγRIIA responsible for the antibody dependent enhancement in dengue virus infection. The seventh Japan-China International Conference of Virology, Tokyo, Japan, June 2008

11) Lim CK, Takasaki T, Nishibori T, Watanabe K, Ito M, Kotaki A, Kurane I: Two Chikungunya virus strains with different characteristics isolated from one patient who returned to Japan from Sri Lanka. 第42回日米医学ウイルス性疾患専門部会，長崎 2008 年 5 月

12) Takasaki T, Kotaki A, . Tajima S, Hirayama T, Mizuno Y, Takeshita N, Kurane I. Diagnosis of dengue virus infection by detection of dengue virus genome in urine and saliva. The Second International Conference on Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Phuket, Thailand, October 2008

13) Lim CK, Takasaki T, Nishibori T, Watanabe K, Ito M, Kotaki A, Kurane I. Two Chikungunya virus strains with different characteristics isolated from one patient who returned to Japan from Sri Lanka. 第14回国際ウイルス学会，イスタンブール，トルコ，2008年8月

14) Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Development of universal primers for rapid detection of flavivirus. The Second International Conference on Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Phuket, Thailand, October 2008

15) Moi M, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. Determination of the regions in human FcγRIIA responsible for the antibody dependent enhancement in dengue virus infection. The Second International Conference on Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Phuket, Thailand, October 2008

16) Mizuno Y, Kudo K, Takasaki T, Kurane I. Clinical features of case of imported dengue fever diagnosed at the international medical center of Japan.

17) Eshita Y, Raweewan S, Komalamisra N, Rongsriyam Y, Aono H, Makino Y, Takasaki T, Ushijima H. Dengue infection dynamics of vector mosquitoes in the patient's houses, Thailand

18) Lim CK, Nishibori T, Watanabe K, Ito M, Kotaki A, Kurane I, Takasaki T. Chikungunya virus isolated from a patient who came back to Japan from Sri Lanka: Isolation of two strains with different characteristics. 2009年米国ウエストナイルウイルス会議，サバンナ，米国，2009年2月

19) Inoue N. Quality control of varicella vaccine at a nucleotide level: problem in Chinese products? The 7th Japan-China International Conference of Virology, Tokyo, Japan, June 2008

20) Koyano S, Inoue N, Yan H, Asanuma H, Yagyu K, Osaki M, Seiwa C, Fujieda. Late-onset developmental delay due to congenital cytomegalovirus infection, asymptomatic in neonate. 2008 Congenital Cytomegalovirus Conference, Atlanta, GA, November 2008

21) Inoue N. Invited talk at roundtable presentations for 'Neonatal screening'. 2008 Congenital Cytomegalovirus Conference, Atlanta, GA, November 2008

22) Ogawa M, Shinkai-Ouchi F, Matsutani M, Uchiyama T, Hagiwara K, Hanada K, Kurane I, Kishimoto T. Shotgun proteomics of *Orientia tsutsugamushi*. 5th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases. Marseille, France, May 2008

23) Uchiyama T, Ogawa M, Kishi T, Yamashita T, Kishimoto T, Kurane I. Restriction of the growth of typhus group rickettsiae in tick cells: Restriction of the growth of typhus group rickettsiae in tick cells. 5th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases. Marseille, France, May 2008

24) Shigematsu M, Ando S, Sata, T, Sugiyama K. Survey on pathogen transport among public health laboratories in Japan. 13th International Congress on Infectious Diseases, Kuala Lumpur, Malaysia, May 2008

25) Ando S. Biosafety experience in Japan. Laboratory Biosafety, Seoul, Korea, December 2008

2. 国内学会

1)西條政幸,塩田智之,錫谷達夫,倉根一郎,森川茂. 293T 細胞における HSV-1 組換えチミジンリン酸化酵素の発現と薬剤感受性試験への応用.第 19 回抗ウイルス療法研究会，霧島（鹿児島），2008 年 5 月

2)森川茂. レベル 4 病原体と新興ウイルス感染症の診断体制、世界の BSL4 施設の現状. 日本ウイルス学会北海道支部第 42 回夏季シンポジウム，北海道，2008 年 7 月

3)西條政幸，塩田智之，錫谷達夫，倉根一郎，森川茂. １類感染症．第 3 回輸入感染症講習会，逗子市，2008 年 9 月

4)西條政幸，網康至，須崎百合子，永田典代，長谷川秀樹，飯塚愛恵，塩田智之，緒方もも子，酒井宏治，中内美名，福士秀悦，水谷哲也．倉根一郎，森川茂．劇症型サル痘に関する解析：性状，ウイルス学的所見，病理．第 56 回日本ウイルス学会学術集会，岡山，2008 年 10 月

5)飯塚愛恵，西條政幸，網康至，須崎百合子，永田典代，長谷川秀樹，塩田智之，緒方もも子，酒井宏治，中内美名,福士秀悦,水谷哲也.倉根一郎,森川茂.Loop-Mediated Isothermal Amplification （LAMP）法によるサル痘迅速診断．第 56 回日本ウイルス学会学術集会，岡山，2008 年 10 月

6)渡辺俊平，水谷哲也，酒井宏治，福士秀悦，緒方もも子，遠矢幸伸，吉川泰弘，森川茂，倉根一朗，明石博臣「網羅的ウイルスゲノム検出法（RDV 法）の改良」．第 56 回日本ウイルス学会学術集会，岡山，2008 年 10 月

7)福士秀悦，中内美名，酒井宏治，西條政幸，水谷哲也，緒方もも子，倉根一郎，森川茂．リフトバレー熱ウイルスの NP に対する単クローン抗体の作製と抗原検出 ELISA 法への応用．第 56 回日本ウイルス学会学術集会，岡山，2008 年 10 月

8)中内美名，福士秀悦，酒井宏治，水谷哲也，緒方もも子，倉根一郎，西條政幸，Victor Romanowski，森川茂. 南米出血熱の実験室診断法の開発.第 56 回日本ウイルス学会学術集会，岡山，2008 年 10 月

9)酒井宏治，網康至，水谷哲也，岩切章，山本正悟，平井明香，須崎百合子，滝本一広，田原口元子，飯塚愛恵，福士秀悦，西條政幸，永田典代，片山紀代，長谷川秀樹，山田靖子，倉根一郎，森川茂．急性呼吸器患者から分離された新型レオウイルスの性状解析及びマウスでの感染実験．第 56 回日本ウイルス学会学術集会，岡山，2008 年 10 月

10)水谷哲也，山尾卓也，江下優樹，片野晴隆，黒田誠，関塚剛史，渡辺俊平，明石博臣，竹原一明，木原悠希，佐藤朝光，西村美保，酒井宏治，福士秀悦，西條政幸，緒方もも子，中内美名，倉根一郎，森川茂．ウイルスの網羅的検出法（RDV 法）と次世代シーケンサーによる新しいウイルスの発見」．第 56 回日本ウイルス学会学術集会，岡山，2008 年 10 月

11)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，塩田智之，佐多徹太郎，倉田毅，倉根一郎,森川茂.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：長期予防効果に関する検討．第12回日本ワクチン学会学術集会，熊本，2008年11月

12)西條政幸.1類感染症およびバイオテロ関連の病原体の検査　シンポジウム臨床微生物学の今後の展開.第20回日本臨床微生物学学会，仙台，2009年1月

13)水谷哲也,山尾卓也,江下優樹,木原悠希,佐藤朝光,黒田誠，関塚剛史，西村美保，酒井宏治，福士秀悦，緒方もも子，中内美名，倉根一郎，森川茂．ウイルスの網羅的方法の改良と新しいブニヤウイルスの発見．第146回日本獣医学会，宮崎，2008年9月

14)酒井宏治,水谷哲也,福士秀悦,西條政幸,上野勇一,上田修平，平井明香，網康至，岡村雅史，中村政幸，竹原一明，山田靖子，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ダチョウレオウイルスの同定.第146回日本獣医学会，宮崎，2008年9月

15)渡辺俊平，水谷哲也，上田直也，伊波興一朗，加藤健太郎，遠矢幸伸，久和茂，吉川泰弘，明石博臣．　コウモリ由来新規ヘルペスウイルス遺伝子の検出．第146回日本獣医学会，宮崎，2008年9月

16)渡辺俊平，水谷哲也，酒井宏治，福士秀悦，緒方もも子，遠矢幸伸，吉川泰弘，森川茂，倉根一郎，明石博臣．網羅的ウイルスゲノム検出法（RDV法）の改良．第56回日本ウイルス学会，岡山，2008年10月

17)山尾卓也，江下優樹，木原悠希，佐藤朝光，鹿志毛信広，見明史雄，水谷哲也．蚊媒介性ウイルス検出を目的とした RDV 法の改良．第 60 回日本衛生動物学会大会 2008年04月

18)山尾卓也,江下優樹,佐藤朝光,木原悠希,西村美保,Rongsriyam Y，Komalamisra N，Srisawat R，鹿志毛信広，見明史雄，森川茂，水谷哲也．Rapid determination of RNA viral sequence（RDV）法の改良によるネッタイシマカ幼虫からの新しいブニヤウイルスの検出．第 61 回日本寄生虫学会･第58回日本衛生動物学会南日本支部合同大会，2008年11月02日

19)佐藤朝光,山尾卓也,江下優樹,木原悠希,西村美保,Rongsriyam Y，Komalamisra N,Srisawat R,鹿志毛信広,見明史雄,森川茂,水谷哲也.Rapid determination of RNA viral sequence法の改良と本法によるネッタイシマカ幼虫からブニヤウイルスの検出.第25回薬学会九州支部大会,2008年12月06日

20)水谷哲也.川崎病の原因ウイルス.川崎病研究センター勉強会・講演,東京，2008年10月

21)水谷哲也.大量シークエンスによる川崎病の原因微生物の特定．第23回関東川崎病研究会、特別講演，東京，2008年11月

22)貫井陽子，高崎智彦，倉根一郎．海外渡航後熱性疾患におけるデング熱の位置づけ－どのような症例でデング熱を考慮すべきか－．第82回日本感染症学会総会.松江市，2008年4月

23)貫井陽子，小滝徹，田島茂，林昌宏，加藤文博，大松勉，小杉伊三夫，高崎智彦，倉根一郎．2007年度国内日本脳炎患者髄液より分離したウイルスの分子疫学的解析および過去3年間における日本脳炎症例のまとめ．第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会．観音寺市，2008年5月

24)林昌宏,根路銘令子,小山田敏文,清水良太,田島茂,貫井陽子，水野俊秀，大松勉，小滝徹，モイメンリン，池田真紀子，倉根一郎，高崎智彦．三重県の同一農場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．第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会，観音寺市，2008年5月

25)江下優樹，牧野芳大，湯偉峰，青野裕士，高崎智彦，田島茂，高島郁夫，小林睦生，倉根一郎．アカイエカにおける日本脳炎ウイルスの増殖について.第 43 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，観音寺市，2008 年 5 月

26)大松勉，渡辺俊平，上田直也，伊波興一郎，Masangkay JS，明石博臣，吉川泰弘，高崎智彦，倉根一郎．フィリピンのコウモリにおけるアルボウイルスの暴露について.第 43 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，観音寺市，2008 年 5 月

27)上田直也，大松勉，渡辺俊平，伊波興一朗，由井志乃ぶ，鈴木聡，佐藤哲男，濱崎裕子，石井寿幸，遠矢幸伸，久和茂，明石博臣，吉川泰弘．コウモリ CYP1A の特性．第 146 回日本獣医学会，宮崎市，2008 年 9 月

28)林昌宏，西堀武明，渡辺香奈子，小滝徹，伊藤美佳子，倉根一郎，高崎智彦．チクングニヤ熱輸入症例患者血清より分離されたチクングニヤウイルスの性状解析．第56回日本ウイルス学会，岡山市，2008年10月

29)モイメンリン，林昌宏，高崎智彦，倉根一郎．Determination of the regions in FcgRIIA which is responsible for antibody dependent enhancement in dengue viral infection. 第56回日本ウイルス学会，岡山市，2008年10月

30)大松勉，平山隆則，小滝徹，伊藤美佳子，片貝裕子，中村紳一朗，明里宏文、，高崎智彦，倉根一郎．マーモセットを用いたデングウイルス感染モデルの構築．第 56 回日本ウイルス学会，岡山市，2008 年 10 月

31)北浦一孝，藤井克樹，林昌宏，高崎智彦，鈴木隆二，倉根一郎．ウエストナイルウイルス感染マウスにおける脳炎発症に関わる脳内浸潤 T 細胞の解析.第 56 回日本ウイルス学会，岡山市，2008 年 10 月

32)藤井克樹，早坂大輔，小池智，北浦一孝，高崎智彦，鈴木隆二，倉根一郎．フラビウイルス脳炎における脳内の生体反応の解析．第 56 回日本ウイルス学会，岡山市，2008 年 10 月

33)田島茂，加藤文博，小滝徹，貫井陽子，高崎智彦，倉根一郎．日本脳炎ウイルスゲノム 3’非翻訳領域上の欠失・挿入変異体の性状解析．第 56 回日本ウイルス学会，岡山市，2008 年 10 月

34)大松勉，平山隆則，小滝徹，伊藤美佳子，片貝祐子，中村紳一朗，明里宏文，高崎智彦，倉根一郎．霊長類を用いたデングウイルス感染モデルの構築.第 56 回日本ウイルス学会，岡山市，2008 年 10 月

35)貫井陽子，田島茂，池田真紀子，小滝徹，加藤文博，根路銘令子，林昌宏，高崎智彦，倉根一郎．日本脳炎ウイルス非構造蛋白 NS4A の 1 アミノ酸変異は IFNβの誘導を低下させることにより病原性を高める.第 56 回日本ウイルス学会，岡山市，2008 年 10 月

36)柴田紳一郎，伊藤公一，林昌宏，高崎智彦，倉根一郎．チクングニヤウイルス検出法の検討.第 56 回日本ウイルス学会，岡山市，2008 年 10 月

37)高崎智彦.昆虫媒介感染症～デング熱を中心に～．第 23 回 Transfusion Medicine Conference，神奈川県葉山町，2009 年 1 月

38)林昌宏．チクングニヤ熱検査法．平成20年度希少感染症診断技術研修会，東京都，2009年2月

39)高崎智彦．ウエストナイル熱・脳炎の現状．平成20年度希少感染症診断技術研修会，東京都，2009年2月

40)伊藤陸代，中道一生，倉根一郎，西條政幸.乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定試験における人道的エンドポイント導入の試み.第8回狂犬病研究会,東京，2009年3月

41)顔海念，古谷野伸，稲見有希，山本由美子，錫谷達夫，水口雅史，牛島廣，倉根一郎，井上直樹．サイトメガロウイルス gN、g0 及び gH 遺伝子間の連鎖と相同組換え．第

23 回ヘルペスウイルス研究会，鳥取，2008 年 6 月

42)井上直樹 シンポジウム講演 「サイトメガロウイルスの新生児マススクリーニング･レトロスペクティブ診断･遺伝子型解析」第 44 回日本周産期新生児医学会学術集会、横浜、2008 年 6 月

43)福井良子，神道慶子，小杉伊三夫，山口十四文，倉根一郎，井上直樹．レポーター細胞株を用いた cell-based high-throughput screening により同定された新規抗サイトメガロウイルス（CMV）化合物の作用機序の解析．第 18 回抗ウイルス療法研究会，霧島，2008 年５月

44)古谷野伸，井上直樹，長森恒久．新生児期以降に発達障害が顕在化した出生時無症候性先天性サイトメガロウイルス感染の検討．第 56 回日本ウイルス学会学術集会，岡山，2008 年 10 月

45)山田壮一，野沢直樹，片野晴隆，筒井祥博，倉根一郎，井上直樹．個体での増殖にのみ必須なモルモットサイトメガロウイルス(CMV)1.6kb ゲノム領域の遺伝子群は、ヒト CMV の弱毒化に関与する遺伝子群に相同性を有する．第 56 回日本ウイルス学会，岡山，2008 年 10 月

46)井上直樹，倉根一郎．水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）及びサイトメガロウイルス(CMV)の前初期蛋白による転写活性化機能を阻害する新規抗ウイルス化合物の解析．第 56 回日本ウイルス学会，岡山，2008 年 10 月

47)安藤秀二．オウム病の現状と課題．第 82 回日本感染症学会総会，島根県松江市，2008 年 4 月

48)安藤秀二，小原真弓，古屋由美子，田原研司，山本正悟，本田俊郎，坂田明子，花岡希，岸本寿男：日本におけるリケッチア感染症の現行検査法に関する検討．第 82 回日本感染症学会総会，島根県松江市，2008 年 4 月

49)山本正悟，岩切章，安藤秀二，岸本壽男：宮崎県南部における日本紅斑熱のベクター．第 82 回日本感染症学会総会，島根県松江市，2008 年 4 月

50)川端寛樹，高野愛，安藤秀二，花岡希，坂田明子，藤田博己，河村好章， 清島真理子，角坂照貴，渡辺治雄：マダニ刺咬例調査によって見いだされた新しいボレリア感染症．第 82 回日本感染症学会総会，島根県松江市，2008 年 4 月

51)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診断・報告状況の調査．第 82 回日本感染症学会総会，松江市，2008 年 4 月

52)松谷峰之介，東慶直，吉岡里美，小川基彦，岸本寿男，白井睦訓： 日本紅斑熱の病原菌リケッチア・ジャポニカの比較ゲノム解析．第 82 回日本感染症学会総会，松江，2008 年 4 月

53)藤田博己，安藤秀二，川端寛樹，坂田明子，高野 愛：福島県のハシブトマダニとタネガタマダニからのリケッチア分離例．第 60 回日本衛生動物学会大会，栃木県下野市，2008 年 4 月

54) 川端寛樹，坂田明子，安藤秀二，高野 愛，渡辺治雄，鶴見みや古，尾崎清明，藤田博己：国内生態系における Borrelia 属細菌の拡散に関与する宿主鳥類と媒介マダニ．第 60 回日本衛生動物学会大会，栃木県下野市，2008 年 4 月

55)安藤秀二.鳥類関連マダニ材料からリケッチア検出の多様性.第 16 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー，和歌山県田辺市，2008 年 5 月

56)小原真弓，山内健生，渡辺護，安藤秀二，石倉康宏，品川保弘，長谷川澄代，中村一哉，堀元栄詞，岩井雅恵，滝澤剛則．富山県のマダニ相および紅斑熱群リケッチア検出.第 16 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー，和歌山県田辺市，2008 年 5 月

57)安藤秀二．発疹熱について．第 4 回国際感染症セミナ

一，東京，2008 年 6 月

58)安藤秀二.リスクアセスに基づくバイオリスク管理の基本．改正感染症法と輸送に関するワークショップ，大阪，2008 年 7 月

59)安藤秀二.バイオセーフティ概説と微生物実験室の安全管理．動物衛生研究所研修会，つくば市，2008 年 7 月

60)安藤秀二.リスクアセスに基ずくバイオリスク管理の基本．改正感染症法と輸送に関するワークショップ，富山，2008 年 7 月

61)安藤秀二，重松美加．病原体取扱に際してのバイオセーフティとその国際的な潮流．第 3 回臨床検査学教育学会，福岡，2008 年 8 月

62)山内健生，小原真弓，渡辺　護，安藤秀二，品川保弘，滝澤剛則，堀元栄詞，長谷川澄代，中村一哉，倉田　毅．富山県のマダニ相と紅斑熱リケッチア．日本昆虫学会第 68 回大会，高松市，2008 年

63)鶴見みや古，尾崎清明，藤田博己，坂田明子，武藤麻紀，高野愛，山内健生，川端寛樹，安藤秀二，岸本壽男．鳥類外部寄生虫からの病原体の検出―鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採集―．日本鳥学会 2008 年度大会，東京，2008 年

64) 安藤秀二，坂田明子，鶴見みや古，尾崎清明，藤田博己，花岡希，高野愛，川端寛樹，渡邉治雄，岸本寿男．鳥類に関連するマダニ類からのリケッチアの検出．第 146 回日本獣医学会学術集会，宮崎，2008 年 9 月

65) 高野愛，鶴見みや古，尾崎清明，藤田博己，安藤秀二，川端寛樹，渡邉治雄．野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討.第 146 回日本獣医学会学術集会，宮崎，2008 年 9 月

66)安藤秀二．検体の取扱，搬送方法．第 3 回輸入感染症講習会，神奈川県湘南，2008 年 9 月

67) 松谷峰之介，花岡　希，東　慶直，吉岡里美，小川基彦，岸本寿男，白井睦訓．日本紅斑熱の病原菌リケッチア・ジャポニカの比較ゲノム解析．第 61 回日本細菌学会中国・四国支部総会，愛媛，2008 年 10 月

68)小川基彦，大内史子，内山恒夫，松谷峰之介，萩原健一，花田賢太郎，倉根一郎，岸本寿男．*Oreintia tsutsugamushi* 発現蛋白質の網羅的同定．第 56 回日本ウイルス学会，岡山，2008 年 10 月

69)内山恒夫，小川基彦，岸　真帆美，山下知輝，岸本寿男，倉根一郎．発疹チフス群リケッチアのマダニ由来細胞における増殖抑制機序の形態学的解析．第 56 回日本ウイルス学会，岡山，2008 年 10 月

70)安藤秀二.バイオセーフティの実際　ソフト面を中心として．BMSA 平成 20 年度バイオセーフティ技術講習会主任者コース，東京，2008 年 10 月

71)安藤秀二．バイオリスク．BMSA 平成 20 年度バイオセーフティ技術講習会主任者コース，東京，2008 年 10 月

72)安藤秀二，坂田明子，宇根有美，五箇公一，藤田博己，花岡 希，高野 愛，川端寛樹，岸本寿男．輸入爬虫類が病原体を持ち込むリスクに関する考察.第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会，岐阜市，2008 年 11 月

73)岸本寿男，安藤秀二，猪熊壽，岩崎博道，大橋典男，岡部信彦，川端寛樹，倉田毅，高田伸弘，堤寛，田原研司，藤田博己，古屋由美子，山本正吾．リケッチア感染症の早期警鐘システム構築-国内実態調査及び早期診断体制の確立に向けた現状と課題.第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会,岐阜市，2008 年 11 月

74)大橋典男，高蛙，鳥日図，川森文彦，千屋誠造，安藤

秀二，川端寛樹，岸本寿男．新興感染症「アナプラズマ症」患者の発見．第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会，岐阜市，2008 年 11 月

75)小川基彦，大内史子，内山恒夫，松谷峰之介，萩原健一，花田賢太郎，倉根一郎，岸本寿男．*Oreintia tsutsugamushi*発現蛋白質の網羅的同定．第15回リケッチア研究会，岐阜市，2008 年 11 月

76)内山恒夫，小川基彦，岸真帆美，山下知輝，岸本寿男，倉根一郎．マダニ由来細胞における発疹チフス群リケッチアの増殖抑制機構．第 15 回リケッチア研究会，岐阜市，2008 年 11 月

77)松谷峰之介，東　慶直，吉岡里美，小川基彦，岸本寿男，白井睦訓．日本紅斑熱の病原菌リケッチア・ジャポニカの比較ゲノム解析　第 31 回分子生物学会，神戸，2008 年 12 月

78)安藤秀二．病原体輸送の現状と課題．第 8 回日本バイオセーフティ学会，大阪，2008 年 12 月

79)安藤秀二．病原体の輸送と感染症法．第 6 回慶應 G-SEC バイオセキュリティワークショップ，東京，2009 年 2 月

80)安藤秀二．リケッチア症の国内の現状と課題．平成 20 年度希少感染症診断技術研修会，東京，2009 年 2 月

81)花岡希，松谷峰之介，川端寛樹，藤田博己，岸本寿男，白井睦訓，安藤秀二．リケッチア感染症に対する特異的診断系の開発．第 82 回日本細菌学会総会，名古屋，2009 年 3 月

82)高野愛，藤田博己，安藤秀二，川端寛樹，渡邉治雄：野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討．第 82 回日本細菌学会総会，名古屋，2009 年 3 月

83)大橋典男，鳥日図，高娃，川森文彦，高野愛，川端寛樹，安藤秀二，岸本壽男．国内初の新興感染症「アナプラズマ症」について．第 82 回日本細菌学会総会，名古屋，2009 年 3 月

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，検査並びに，ワクチン株であるセービン株由来不活化ポリオワクチン（sIPV）の開発推進および検定法の開発である．本年は経口生ポリオワクチンの小分製品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の早期臨床導入のために DTP-sIPV の混合ワクチンとして開発が進んでいる．本ワクチンの開発推進にかかる業務として，国内参照品の開発及び安定性試験，検定方法の開発を行った．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，今後も総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．ノロウイルスの流行は前年度に引き続き，本年度も爆発的な流行は観察されなかったが，引き続き警戒が必要である．また，カリシウイルスの研究が進展した．ノロウイルスのリバースジェネティクス実験系は，NoV ウイルスの病原性発現機構の研究，ウイルスの増殖制御の研究に応用されつつあり，さらなる進展が期待される．

第２室はＷＨＯ世界ポリオ根絶計画に参画している．ＷＨＯの指定をうけて，ポリオ世界特別専門ラボラトリーとして，また西太平洋地域のポリオ地域レファレンスラボラトリー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．今年度も西太平洋地域におけるポリオフリーの維持を確認した．さらに，第２室がまと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が WHO 西太平洋地域ポリオ根絶認定委員会で承認され，西太平洋地域の野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階調査完了が宣言された．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．

エンテロウイルス 71 は手足口病の原因ウイルスであり，脳炎を併発することがある．このエンテロウイルス 71 の感染受容体としてヒト PSGL-1 を同定した．受容体の同定により，ウイルスの病原性に関する研究が今後大いに進展することが期待できる．

第３室及び第４室ではＢ型およびＣ型肝炎ウイルスの研究をおこなった．特にＣ型肝炎ウイルス研究ではウイルスの感染複製増殖に関与する宿主因子の研究が進んだ．また，Ｃ型肝炎ウイルスの粒子形成機構解明が進み，脂質や非構造蛋白質の関与が明らかとなった．肝炎対策として肝炎研究７ヶ年戦略に基づく研究推進が厚生労働省から謳われ，ウイルス第二部では国際医療センターと協力して肝炎研究を推進する必要がある．

第５室の最重要課題はＡ型及びＢ型肝炎ワクチンの検定，検査である．本年はＡ型肝炎ワクチン２件，Ｂ型肝炎ワクチン９件の検定をおこなった．肝炎ワクチン接種のユニバーサル化に関する議論のために，基礎的データの集積が求められている．

E 型肝炎研究はウイルス培養が可能となり，ウイルス学的解析が進行した．今後の進展が期待される．

各室で以下のような国際的技術協力をおこなった．

Nguyen Thi Thanh Thao（ベトナム，パスツール研究所）〈JSPS フェロー〉平成 21 年 2 月 25 日～平成 21 年 3 月 24 日，エンテロウイルス 71 感染症の分子疫学に関する研究

Wang Dong Yan（中国，中国疾病予防控制センター）〈JICA フェロー〉平成 21 年 1 月 13 日～平成 21 年 4

月 11 日，ポリオウイルス実験室診断に関する技術研修

Rifqiyah Nur Umami（インドネシア，RIPI）〈 JSPS フェロー〉平成 20 年 10 月 6 日～平成 21 年 1 月 31 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

Yang Dong Mei（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

李　津，王　寧(中国生物製品研究所）平成20年4月15日ー平成20年7月15日，E型肝炎ウイルス様粒子の作製及び精製技術の習得

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20年3月6日ー平成20年3月31日，E型肝炎ウイルスの分子ウイルス学とワクチン研究

Claire Gondeau(フランス，INSERM U632）平成21年3月14日ー28日，C型肝炎ウイルス病原性の研究

人事面では武田直和第 1 室長が平成 21 年 3 月末をもって定年退官となった．武田先生の研究および検定におけるこれまでの感染研に対する貢献にウイルス第二部一同深謝したい．また，平成 20 年 7 月 1 日付けで東芝病院研究部より加藤孝宣が第 3 室長として着任した．ハンスマン・グラント研究員は，平成 20 年 8 月より，ウイルスゲノムの組換え，および粒子構造の解析のため米国国立癌研究所，NIH に長期出張した．

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）2007-2008 シーズンに流行したノロウイルスのゲノム解析

2006 年のノロウイルス genogroup II/genotype 4 (GII/4)に属する株の大流行を受けて，19 の地方衛生研究所と国立感染症研究所でノロウイルスサーベイランスチームを発足させ，2006 年以降，ノロウイルスゲノムの変化を継続的に解析している．新たに 80 株の全長ウイルスゲノムの配列情報を収集し，構造蛋白質コード領域のノロウイルスゲノム塩基配列の系統樹解析により，2007 年から 2008 年は 2006 年と同様に，GII/4 の中でも 2006b というクラスターに属する株(75/80)が 93.8%検出されたものの，一部に新たなクラスターに属する株が出現していることが明らかとなった．このようなクラスター変化が数年おきに起こる爆発的なノロウイルス感染の引き金となる可能性があるため，来年度も引き続き同様の解析を行う．

[本村和嗣，横山　勝，中村浩美，守　宏美，神田忠仁，佐藤裕徳（病原体ゲノム解析センター），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（2）調理従事者を対象としたノロウイルス検出調査

2007 年 1 月～2008 年 3 月の間，ノロウイルスによる急性胃腸炎が発生した全国 240 の施設から調理従事者 5587 名の糞便をリアルタイム PCR 法でスクリーニング検査し，1150 名(20.6%)からノロウイルスを検出した．このうち，ノロウイルス RNA 量が 1 反応あたり 100 コピー以上だった検体は 352 検体[内訳(GI 12(3.4%)，GII 340(96.6%)であった．このうち 63 名(18%)は不顕性感染者であった．これら 352 検体についてさらに RT-PCR 法によって構造蛋白領域の一部を増幅し，塩基配列を解読した．その遺伝子型別を行ったところ，GI は GI/2，3，4，8,10 に，GII は GII/2,3,4,6,13,16,new に分類された．調理従事者の糞便中に検出された株はGII/4が主流(89%)であった．有症者，不顕性感染者に固有の遺伝子型は存在せず，両群ともにGII/4が主流であった．

［小澤一弘（中部衛生検査センター），岡智一郎，片山和彦，本村和嗣，横山 勝，中村浩美，守 宏美，佐藤裕徳（病原体ゲノム解析センター），武田直和］

（3）河川中のノロウイルスを指標にした地域流行株の把握

糞便中に排泄されたノロウイルスは下水を通じ，一部が河川水中に流入していると考えられている．下水処理水を受容する河川水を網羅的に解析することで，流域に

おける流行株を検出することができる．2003 年４月ー2004 年３月の間に，関東平野を流れる多摩川の上流から下流５地点において河川水を毎月１回採水し，濃縮後，real-time RT-PCR および nested RT-PCR 法によりノロウイルス RNA を検出した．real-time RT-PCR の結果，河川水中には genogroup I，genogroup II ともに急性胃腸炎患者が多い 10 月から３月にかけて，ノロウイルス RNA 量が増加していた．nested RT-PCR 法で検出された株は GI が GI/1,2,4,5,8,9,11，GII が GII/2,3,4,5,6,11,12,16 と多様であった．河川からは急性胃腸炎患者では稀な GI 株が，高濃度かつ高頻度に検出されたことから，流域には急性胃腸炎患者として報告されない多数の GI 感染者が存在する可能性が示唆された．本研究では河川下流にいくほどノロウイルス RNA の汚染度が高いことも示された．

[北島正章（東大院工学），岡智一郎，片山和彦，原本英司（国立保健医療科学院水道工学），片山浩之（東大院工学），武田直和，大垣眞一郎（東大院工学）]

（４）ノロウイルス・ウイルス様粒子（VLPs）のヒト腸上皮様 Caco-2 細胞への結合様式とウシ初乳の VLPs 結合抑制効果

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 Caco-2 細胞に結合することが示された．しかし，ノロウイルスとの結合因子として報告されている組織血液型分子とノロウイルス VLP の局在は必ずしも一致せず，ノロウイルス VLP が結合するのは組織血液型分子のみではない可能性が示された．共焦点レーザー顕微鏡観察において，微絨毛の細胞内部，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．また本研究では，ウシの初乳添加によって Caco-2 細胞へのノロウイルス VLP の結合が阻害されることが明らかとなった．

[村上耕介，鈴木さやか，岡島徹也，灘野大太，松田幹（名古屋大生命農・応生化），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（５）ノロウイルスプロテアーゼの基質との結合モデルの構築

ノロ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 を用いてノロウイルス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のうち，2 箇所の 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て，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．

[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]

（６）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（旧名称 Sa299）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．更に詳細なゲノム組換えの解析の結果 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こと，組換えが ORF1 と ORF2 のジャンクション領域および ORF2 と ORF3 のジャンクション領域で起きていることが示唆された．HK299 の抗原性を調べるため，HK299 の ORF2 からゲノム末端までをバキュロウイルスに組込，VLP の発現を試みている．

[片山和彦，鈴木善幸（国立遺伝学研），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]

（７）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改良

昨年度，構築に成功した，ヒトノロウイルス 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利用し，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 遺伝子を内包したシュードウイルス粒子の作成に成功した．しかし，pKSF203 のシュードウイルス産生効率は，ワイルドタイプと比較して極めて低かった．そこで，GFP の両端に配したノロウイルスプロテアーゼが認識するアミノ酸配列の長さを延長し，効率よくプロテアーゼによる切断が起きるように改良したコンストラクト pKSF205 を作製した．本コンストラクトのシュードウイルス産生量は，ワイルドタイプの 1/10 程度にまで向上した．シュードウイルスは 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，武田直和]

（８）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改良型コンストラクト pKSF205 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 12 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 プロモーター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，N-terminal protein，NTPase，3A-like protein にも細胞傷害誘導能が存在した．これらの蛋白質による細胞死誘導は主に Caspase の活性上昇を伴うアポトーシスによることが明らかになった．

[片山和彦，岡智一郎，武田直和]

（９）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，カリシウェブ（CaliciWeb site，http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calici/modules/news/）上にアップした．本サブデータベースは，世界 3 大データベースを検索するオートパイロットプログラムを登載しており，毎日自動アップデートされる．本年度は，システムの安定化，速度の向上などサブデータベースの機能を改良した．

[片山和彦，三瀬敬治（札幌医大），染谷雄一，武田直和]

（１０）1997 年から 2000 年迄に収集した非細菌性嘔吐下痢症患者便のウイルス学的検討

1997 年から 2000 年に収集した患者検体について電顕観察により小型球形ウイルス粒子を検出し，ウイルス粒子陽性検体 200 検体を選択した．次に，これらの検体について現在汎用されているプライマーを用いて RT-PCR，また PCR 産物のダイレクトシークエンスによる遺伝子型別，Real-time PCR，同じプライマーを用いた HRM 法による遺伝子型別の比較を行なった．

[宇田川悦子，原　正幸，渡辺まゆみ（北里衛生科学センター），高橋邦明（日本ロシュ）]

（１１）陰電荷膜を用いた酸洗浄・アルカリ抽出法の濃縮処理水量におけるウイルス回収率の影響に関する評価

NV が下水処理場などで除去されなかった場合，河川から海に流れ込みカキなどの二枚貝に蓄積し貝類が汚染され，これらの汚染された貝類を生食することで食中毒事件が発生する．二枚貝の汚染防止には，汚染された可能性のある環境水や下水処理水等から NV を除去滅菌処理することが有効な手段であると考える．NV は環境水中あるいは下水処理水中などに非常に低濃度で存在する．これらの試料から NV を検出する為に，陰電荷膜を用いた酸洗浄・アルカリ抽出法が高いウイルス回収率があるとの報告がある．我々は，濃縮処理前水量を変化させてウイルス濃縮し，Qβphage

及び NV の回収率を比較することで，濃縮処理前水量が与えるウイルス回収率の影響について検討した．
[宇田川悦子，原　正幸（北里環境科学センター）]

（１２）ノロウイルス 3C 様プロテアーゼにおける酵素-基質相互作用

ノロウイルスプロテアーゼの Glu54 は触媒残基のひとつとされるが必須ではない．E54L 変異酵素の基質特異性は厳密であり，基質切断部位上流の P4 及び P2 部位に大きな疎水性側鎖を要求することが明らかになった．また，3A/3B 切断部位（^{198}ATSE/G）の S200F 変異により，野生型酵素と変異 C 末端との間に強い相互作用が生じた．この相互作用は周辺残基の変異の影響を受け変化した．以上の結果は反応過程において酵素と基質が相互に感知していることを示唆する．
[染谷雄一，武田直和]

（１３）ノロウイルス様中空粒子の立体構造解析

遺伝子型 GI/1 に属する Norwalk 株のウイルス様中空粒子の三次元立体構造が明らかにされている．遺伝子型により異なる血液型抗原結合パターンを示すことから，ウイルス粒子表層の構造がそれぞれの遺伝子型により異なることが示唆される．このことを明らかにするために，GI/4 型に属する Chiba407 株のウイルス様中空粒子を昆虫細胞で発現させ，精製の後，X 線結晶構造解析のための結晶化に供した．
[染谷雄一，武田直和，長谷川和也（(財)高輝度光科学研究センター），熊坂　崇（(財)高輝度光科学研究センター）]

（１４）NoV と血液型抗原との結合：Lewis 抗原への結合の解析

血液型抗原は末端の構造によって ABO 型，Lewis 型に区別され，さらに内部の linkage によってタイプ 1，2 に区別される．腸管上皮には主にタイプ 1 抗原が，赤血球上には主にタイプ 2 抗原が発現しているとされる．昨年度までに，NoV が ABO 抗原において，タイプ 1，2 構造の識別を行っていることを明らかにした．今年度は，Lewis 抗原においてもタイプ 1，2 構造の識別が行われているかを明らかにするため，Virus-like particles (VLPs)を用い，Biacore により Lewis 抗原との結合パターンを検討した．その結果，Lewis 抗原においてもタイプ 1，2 構造の識別が行われていることが明らかとなった．タイプ 1，2 構造を識別することによって，NoV は自らの組織特異性を決定している可能性がある．
[白土東子，熊谷安希子，武田直和，石井孝司，脇田隆宇]

（１５）NoV と血液型抗原との結合：X 線結晶構造解析による結合解析

プロトタイプ Norwalk/68（NV/68）(GI/1) 株 はα1,2 フコース（Fuc）転移酵素遺伝子活性型の分泌型個体で感染が成立するが，不活性型の非分泌型個体では感染が成立しないことから，NoV と血液型抗原との結合にはα1,2 Fuc が不可欠と言われている．一方，α1,2 Fuc を含まずα1,4 Fuc を含むルイス a 抗原（Le-a）のみを腸管上皮に発現する非分泌型個体にも感染する NoV 株が存在することが知られているが，詳細は明らかではない．NoV の Le-a 認識機構を明らかにするため，Le-a 結合能を有する 258 (GI/2) 株のキャプシド P ドメインと Le-a 複合体の X 線結晶構造解析を行った．その結果，α1,4Fuc 認識は 258 株特有の構造に起因していることが明らかとなった．
[熊谷安希子，久保田智巳（産総研），伊藤浩美（産総研），成松 久（産総研），武田直和，石井孝司，染谷雄一，脇田隆宇，白土東子]

（１６）NoV と血液型抗原との結合：組織切片を用いた解析

血液型抗原の発現は，組織だけでなく，細胞種よっても異なる．小腸においては陰窩における発現は弱く，絨毛先端においては強く発現されているといわれているが，詳細は明らかでない．一方，NoV は下痢症発症の際，腸絨毛に強くダメージを与えることが知られて

いるが，そのメカニズムは明らかになっていない．NoV の組織特異性に血液型抗原が関与するかどうかの検討を行うため，ヒト小腸切片を用いた免疫組織化学染色を行い，Lewis 抗原の発現分布を解析した．今後さらに連続切片上で VLP の Binding assay も行い，その相関性を検討する予定である．

[白土東子，永田典代（感染病理部），池原譲（産総研），成松 久（産総研），橋本康弘（福島県立医科大），武田直和，石井孝司，脇田隆字]

２．サポウイルス（SaV）に関する研究

急性胃腸炎病原因子の解析

（１）小児科外来患者糞便中の病原因子の解析（熊本）

下痢症起因ウイルスには，ノロウイルス（NoV）をはじめ，アデノウイルス（AdV），ロタウイルス（RV），サポウイルス（SaV），アストロウイルス（AstV），アイチウイルス（AiV），エンテロウイルス（EntV）などがある．これらの内，NoV はほとんどの地方衛生研究所で検査が行われ，AdV と RV は簡易検査キットが市販されている．しかし，SaV，AstV，AiV 及び EntV はそれほど検査が行われていないため，その発生動向については不明な部分が多い．2002 年 4 月から 2007 年 12 月に熊本県内の３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 639 検体について，急性胃腸炎を引き起こすウイルス，および細菌の検索を行った．糞便 687 検体中 458 検体（66.7%）から原因物質が検出された．内訳は NoV GⅠが 25 検体，NoV GⅡが 255 検体，SaV が 81 検体，AstV が 9 検体，AiV が 1 検体，GARV が 62 検体，GCRV が 1 検体，AdV が 23 検体，EntV が 13 検体，細菌性が 14 検体であった．この中の 27 検体は混合感染であった．今回の解析により，小児科外来患者において，解析期間を通じてノロウイルスが最も多く検出されたこと，2005 年以降はサポウイルスがノロウイルスに次いで２番目に多く検出されていることが明らかとなった．従来，サポウイルスの検出は少ないとされてきたが，本研究により，サポウイルスが急性胃腸炎の病原因子として以前想定されていたより多く存在することが判明した．

[原田誠也，八尋俊輔，西村浩一，松尾 繁，中島龍一（熊本県保健環境科学研），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（２）2002 年から 2007 年の間に熊本県内で検出されたサポウイルス株の解析

2002 年 6 月から 2007 年 12 月に熊本県内の 3 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 639 検体について，multiplex RT-PCR，RT-PCR，universal nested RT-PCR 法，genogroup specific 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，81 検体(12.7%)でサポウイルス陽性となった．それぞれの検出率は 27.2%，100%，95.1%，100%，97.5%であり，ポリメラーゼ領域をターゲットとした primer を含む multiplex RT-PCR 法以外はいずれもほぼ同様の検出効率を示した．検出されたサポウイルスは ggenogroup Ⅰ が 17 株，genogroup Ⅱ が 10 株，genogroup Ⅳ が 51 株，genogroup Ⅴ が 3 株で，限られた地域において年度毎に異なった genogroup に属するサポウイルス株が検出される傾向にあった．サポウイルス排泄量は糞便 1g 中 1.32×10^{5}ー1.07×10^{11} コピーであった．今回の解析により 2007 年には 9 月から 11 月にかけて，genogroup Ⅳ に属するサポウイルス株が熊本県内 10 市町に及ぶ範囲で流行していたことを明らかにした．

[原田誠也，八尋俊輔，西村浩一，松尾 繁，中島龍一（熊本県保健環境科学研），岡田峰幸，篠崎邦子（千葉衛生研），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（３）散発胃腸炎患者糞便中のサポウイルスの解析

愛媛県内で発生した散発性胃腸炎患者糞便から検出されたサポウイルスの解析を行ったところ，2007 年の愛媛県内においては，他の県と同様，主に genogroup Ⅳ に属する株が検出されることを明らかにした．また，これらの株のゲノム 3’側約 2.3kb を増幅し，塩基配列解析を行った結果，これら genogroup Ⅳ に属する株が発生時期，場所が異なるにもかかわらず，極めて類似した塩基配列を有することも示した．

[大塚有加，近藤玲子，市川高子，山下育孝，大瀬戸光明，（愛媛県立衛生環境研），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（4）サポウイルス集団発生事例の解析および不顕性感染者の検出

2004 年 6 月および 2007 年 7 月に長野県内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それぞれ genogroup I と genogroup IV で，ウイルス排泄量は糞便 1g 中 10^6～10^{11} コピーであった．いずれの事例も疫学調査の結果から，ヒトーヒト感染によるものと考えられた．さらに，今回の解析では無症状であるにもかかわらず，糞便中に発症者と同レベル(糞便 1g 中 10^7～10^{10} コピー)のサポウイルス RNA を排泄している成人の存在が初めて示された．

[吉田徹也，粕尾しず子，畦上由佳，内山友里恵，薩摩林一代，白石崇（長野県環境保全研），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（5）サポウイルス糞便中排泄期間の解析

サポウイルス集団感染事例の患者糞便中のサポウイルス RNA の定量的解析および変異解析を行い，サポウイルス RNA が発症後数日から約２週間，長い例では約 1 ヶ月間にわたって検出されることを明らかにした．さらに，約 1 ヶ月間にわたって サポウイルスが体内に存在した場合，サポウイルスの構造タンパク質コード領域にアミノ酸変異を伴う遺伝子変異が生じることを初めて見いだした．サポウイルスは遺伝的に極めて多様であるが，このように体内で変異を生じることがウイルスの多様性を生み出す１つのメカニズムである可能性がある．

[岩切　章，山本正悟（宮崎県衛生環境研），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（6）牡蠣が原因と疑われた食中毒事例の患者糞便中ウイルスの検出

従来，生牡蠣の原因ウイルスの検索はノロウイルスのみに注目して行われてきた．本研究では他の下痢症ウイルスの存在の有無を検索する目的で牡蠣が原因と疑われた食中毒事例の患者糞便中について，ノロウイルス，サポウイルス，アストロウイルス，アイチウイルス RNA の検出を nested RT-PCR 法で行い，ノロウイルス以外にサポウイルスやアイチウイルスが同時に検出される例があることを報告した．本研究では，牡蠣そのものの検討ができなかったが，牡蠣にはノロウイルスだけでなく，サポウイルスやアイチウイルスなど，他のウイルスも濃縮されている可能性が示唆された．

[中川玲子（山口県環境保健センター），有田知子（日本スポーツ振興センター），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（7）牡蠣からのサポウイルスの検出

河川中に垂下した牡蠣にサポウイルス RNA が濃縮されること，市場に流通する牡蠣にもサポウイルス核酸が検出されること，検出された配列は急性胃腸炎患者糞便から検出されるものと極めて類似することを示した．本研究は牡蠣による食中毒事例ではないが，食用の牡蠣からサポウイルス RNA を検出した初めての例であり，環境に混入したサポウイルスが牡蠣にも取り込まれていること，牡蠣の喫食によってサポウイルス感染が引き起こされる可能性を示す．

[植木 洋，庄司美加（宮城県保健環境センター），山本美和子，阿部勝彦，伊藤文明，池田義文（広島市衛生研），西尾 治，岡智一郎，片山和彦，武田直和，野田　衛（国立医薬品食品衛生研）]

（8）アサリを原因とするノロウイルス，サポウイルス食中毒事例の解析

サポウイルスの感染経路はノロウイルスと同様と考えられているが，原因食材が特定された例はいまだない．本研究では加熱不十分のアサリが原因と考えられた食中毒事例において患者糞便と原因と推定されたアサリから nested RT-PCR によってサポウイルス，ノロウイルスの検出を行った．その結果，サポウイルス，ノロウイルスともに患者糞便と原因と疑われた食材と

同一ロットのアサリから極めて類似した（約99%以上）塩基配列を検出した．特にサポウイルスについては患者糞便と原因食材とで 100%解析した塩基配列が一致したものもあった．この結果から，ノロウイルスだけでなく，サポウイルス感染が貝の喫食によって引き起こされることを証明した．本事例はサポウイルス感染における原因食材を特定した世界で初めての事例である．

[飯塚節子（島根県保健環境科学研），岡智一郎，片山和彦，武田直和，野田 衛（国立医薬品食品衛生研）]

（９）結婚式場で発生したサポウイルスによる集団食中毒事例の解析

2007 年に愛媛県の結婚式場で発生したサポウイルスの集団感染事例について解析し，感染者が年齢に限局されず発症すること，喫食時間から推定した発症までの潜伏時間が 14.5ー99.5 時間（平均 38 時間）であることを明らかにした．今回の事例では原因食材や施設内の汚染源の特定にはいたらなかった．このことは極めて微量のサポウイルスが集団感染を引き起こす可能性を示唆する．この事例は食中毒事例として扱われ，今後はノロウイルスだけでなく，サポウイルスも食中毒事例の病原因子として検索対象に加える必要性が示唆された．

[大塚有加，近藤玲子，市川高子，山下育孝，大瀬戸光明（愛媛県立衛生環境研），関谷安正，上田哲郎，芝信明（松山市保健所），岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（１０）サポウイルスサブゲノム遺伝子領域増幅方法の確立

サポウイルスのゲノム解析は主に nested RT-PCR 法で増幅されたポリメラーゼコード領域もしくは構造蛋白質コード領域の数百塩基の配列によって解析されている．しかし，近年の研究により，サポウイルスの構造蛋白質コード領域の配列は極めて多様であることが明らかとなってきており，その情報蓄積が急務である．従来は株ごとに個別のプライマーを設計して，構造蛋白質全長に対応する遺伝子領域の塩基配列決定が行われてきたが，共通の方法で増幅ができるように，検出に広く使用されているプライマーと oligodT primer を組み合わせ，nested RT-PCR 法による，構造蛋白質コード領域からゲノム末端までの遺伝子領域増幅方法を構築した．

（岡智一郎，片山和彦，武田直和）

（１１）河川水からのサポウイルスの検出

河川中のサポウイルスの存在の有無を検討するため，リアルタイム RT-PCR 法による核酸検出を試みた．その結果，関東地方の河川水において急性胃腸炎患者の増加する冬期にサポウイルス RNA 量が増加することが明らかとなった．現在，河川中のサポウイルスの塩基配列解析を行っている．

[北島正章（東大院工学），岡智一郎，片山和彦，原本英司（国立保健医療科学院水道工学），片山浩之（東大院工学），武田直和，大垣眞一郎（東大院工学）]

（１２）サポウイルス Virus-like particle 発現効率増加法の検討

ヒト由来のサポウイルスは培養細胞での増殖が出来ないが，構造蛋白質コード領域を昆虫細胞，あるいは哺乳動物細胞を用いて発現させると，構造的にnativeのウイルスと同様のウイルス様中空粒子（VLP）を調製することが出来る．現在までに複数のサポウイルス株について VLP 発現に成功し，抗原性の評価や，抗原検出系開発のためのポリクローナル，モノクローナル抗体の作成を行ってきた．これまでの検討により，昆虫細胞発現系において，発現コンストラクトの開始コドン直前への３塩基の挿入によって，VLP の収量が増加した例があったため，哺乳動物細胞発現系においても同様に検討し，株によっては VLP の収量が約 1.5 倍に増加することを確認した．

[岡智一郎，Hansman S. Grant，片山和彦，武田直和]

（１３）サポウイルスプロテアーゼによる切断効率を制御する因子の同定

サポウイルスのプロテアーゼによる ORF1 ポリプロテインの切断は特定のグルタミンもしくはグルタミン酸の直後でおこる．切断部位認識に重要なアミノ酸残基として，我々はこれまでに６箇所中，５箇所で，切断部位上流４番目のアミノ酸が芳香族アミノ酸（フェニルアラニンもしくはチロシン）であり，これらをアラニンに置換すると切断効率が顕著に低下することを明らかにしてきた．一方で残りの１箇所の切断部位は上流４番目のアミノ酸がアルギニンであり，切断効率が非常に低いことから，本研究では，このアルギニンを芳香族アミノ酸であるフェニルアラニンに置換したところ，この切断部位の著しい切断効率の亢進を認めた．この結果から，切断部位上流４番目の残基がサポウイルス ORF1 ポリプロテインの切断効率を制御していることを証明した．特定の部位の切断効率の抑制は，サポウイルスの複製，増殖に何らかの重要な意味を有すると考えられる．

［岡智一郎，片山和彦，武田直和］

（１４）サポウイルスプロテアーゼの基質認識に関わるアミノ酸残基の解析

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 を用いてサポウイルス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箇所それぞれの上流下流４残基（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として T30，H31，E52，Y101，K112，R113 を同定し，アミノ酸変異導入により，ポリプロテイン切断活性への影響を証明した．

サポウイルスプロテアーゼの基質認識メカニズムとして，サポウイルスプロテアーゼドメイン内の正に帯電したアミノ酸の側鎖にかこまれた領域と切断部位上流１番目のアミノ酸（P1 残基）の静電相互作用，さらに切断部位上流４番目のアミノ酸（P4 残基）と Y101 との芳香環を介するπ-π相互作用，あるいは疎水相互作用によるスタッキング構造の形成が重要であることが示唆された．

［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］

３．マウスノロウイルスに関する研究

（１）マウスノロウイルスの環境安定性と消毒剤感受性の検討

2003 年に同定された培養細胞で増殖可能なマウスノロウイルスと，従来，モデルとして使用されてきたネコカリシウイルスを用い，同時に環境安定性，塩素耐性について検討した．マウスノロウイルス，ネコカリシウイルスは水中で，室温７２時間にわたり安定であった．また NaClO 125ー500ppm に対する感受性を検討し，マウスノロウイルスがネコカリシウイルスより塩素消毒に対して抵抗性を示すことを明らかにした．本研究で得られた知見はヒト由来ノロウイルスの不活化条件の推定と，動物実験施設内におけるマウスノロウイルスの感染伝播制御方法の確立に有用である．

[高木弘隆，杉山和良（バイオセーフティ管理室），遠矢幸伸（東大院獣医），片山和彦，岡智一郎，武田直和］

（２）完全長マウスノロウイルスゲノムのクローニング

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 S7 株を RAW 細胞で増殖させ，ウイルス粒子を精製した．精製粒子よりゲノム RNA を抽出し，ゲノム全長の塩基配列を決定した．今後，完全長ゲノム cDNA をプラスミドベクターに組み込み，インフェクシャスクローンの構築を試みる．

[片山和彦，岡智一郎，遠矢幸伸（東大院獣医），高木弘隆（バイオセーフティ管理室），武田直和］

（３）マウスノロウイルス検出抗体の作成

マウスノロウイルスのゲノム全長を含むクローンを鋳型に各機能蛋白質，構造蛋白質に対応する遺伝子領域をそれぞれ大腸菌で発現させ，ウサギおよびモルモットに免疫し，感染細胞の免疫染色に使用可能な部位

特異抗体を作成した.
[岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（4）マウスノロウイルス核酸検出系の構築

公的データベースには４０株以上のマウスノロウイルスのフルゲノム塩基配列が登録されているが，これらの株をすべて検出できる核酸検出系は構築されていない．そこでマウスノロウイルスゲノム中，高度に保存された領域を検索し，nested RT-PCR 用に複数のプライマーを設計した．現在，検出系の構築を進めている．
[北島正章（東大院工学），岡智一郎，片山和彦，遠矢幸伸（東大院獣医），武田直和]

４．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検出抗体の作成

ネコカリシウイルスのゲノム全長を含むクローンを鋳型に各機能蛋白質，構造蛋白質に対応する遺伝子領域をそれぞれ大腸菌で発現させ，ウサギに免疫し，ウイルス感染細胞の免疫染色に使用可能な部位特異抗体を作成した.
[岡智一郎，片山和彦，武田直和]

（2）ネコカリシウイルスプロテアーゼの基質との結合モデルの構築

ネコカリシ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 を用いてネコカリシウイルスプロテアーゼドメインの分子モデルを構築後，ASEDock2005 を用いて構造蛋白質前駆体の切断部位１箇所の上流下流４残基（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て，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.
[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]

（3）BRET を用いたネコカリシウイルスプロテアーゼ活性検出系の構築

多くのカリシウイルスは培養細胞で増殖させることが出来ないが，ネコカリシウイルス（FCV）はネコ腎臓由来細胞(CRFK 細胞)で増殖可能である．カリシウイルスの増殖阻害物質のスクリーニングを行うため，ウイルスプロテアーゼによる切断部位を含む FCV 構造蛋白質前駆体コード領域の一部を Green Fluorescence Protein (GFP)と Renilla luciferase (rLuc)間にクローニングし，Bioluminescence Resonance Energy Transfer (BRET)を利用した FCV プロテアーゼ活性検出系の構築を行った．今後のスクリーニング操作を考慮し，BRET コンストラクトを安定発現する細胞株を確立している.
［岡智一郎，高木弘隆（バイオセーフティ管理室），遠矢幸伸（東大院獣医），片山和彦，武田直和]

５．ラゴウイルスに関する研究

（1）兎出血病ウイルスのプロテアーゼ発現に重要なアミノ酸残基の解析

カリシウイルスに属し，ウサギに高い致死性を示す兎出血病ウイルス（RHDV)のプロテアーゼ活性発現に重要なアミノ酸残基を他のカリシウイルス（ノロウイルス，サポウイルス，ネコカリシウイルス）と比較することを目的に，国内で分離された RHDV のゲノム全長の cDNA clone を鋳型として，4 箇所のアミノ酸（H, D, C および H)を site-directed mutagenesis 法によって A に置換した clone を作製した．これらを鋳型に in vitro coupling transcription/ translation system を用いて ORF1 全長領域(2344 アミノ酸)を発現させ，発現産物の泳動パターンを解析した．その結果，RHDV プロテアーゼの活性発現に重要なアミノ酸として，H^{1135}, D^{1152}, C^{1212},H^{1227} を同定した．この結果から，カリシウイルスプロテアーゼの活性発現に重要な基本残基が共通することが確認された.
［岡智一郎，恒光　裕（動物衛生研），片山和彦，武田直和]

６．カリシウイルスに関する研究

（1）カリシウイルスのポリプロテイン切断部位認識

に重要な切断部位上流アミノ酸の解析

カリシウイルスは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ポリプロテイン中の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．この切断部位認識について検討するため，サポウイルスの ORF1 切断部位１箇所，ノロウイルス２箇所，ラゴウイルス１箇所，ベジウイルス１箇所の切断部位上流４残基をそれぞれアミノ酸置換し，切断への影響を検討したところ，サポでは上流４番目と１番目，ノロ，ラゴでは４番目，２番目，１番目，そしてベジでは４番目，３番目，１番目が切断部位認識に影響することを見いだした．これらの結果からカリシウイルスの切断部位認識には共通して切断部位上流４番目のアミノ酸が重要であることが示された．

[岡智一郎，横山　勝，本村和嗣，守　宏美，中村浩美，佐藤裕徳（病原体ゲノム解析センター）恒光　裕(動物衛生研)，片山和彦，武田直和]

（２）カリシウイルスプロテアーゼ分子モデルによる基質認識の解析

カリシウイルス科の４つ属（サポ，ノロ，ベジ，ラゴ）のうち３つに対応する Sapporo virus (SaV), Norwalk virus (NoV), および feline calicivirus (FCV)のプロテアーゼと基質が結合した分子モデルを構築し，カリシプロテアーゼの基質認識メカニズムを詳細に解析した．基質の P1 残基は E または Q であり，プロテアーゼの正電荷を持つアミノ酸の側鎖に囲まれていた．P1 残基とプロテアーゼ内部アミノ酸との静電気相互作用が基質認識に重要であると考えられた．P4 残基はプロテアーゼ内部の疎水性のアミノ酸の近傍に配置されたことから，P4 残基が疎水性であると，基質とプロテアーゼの親和性が高まると考えられた．P4 残基周辺の疎水性の強さは SaV ＞ FCV ＞ NoV であった．P4 残基の疎水度の寄与は，SaV で最も高いと推定された．

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

７．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６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 6 検体でウイルス粒子が確認され，この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 Moller(Robert Koch-Institute)]

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．2008 年度は，エンテロウイルス同定用パネル血清 EP95 を 11 セット，エンテロウイルス単味抗血清 67 種類，コクサッキーA 群同定用 CF 腹水 4 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 18 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 19 日ー2 月 6 日，研修参加者は，エチオピア，ナイジェリア，パキスタンから各 1 名，ベトナムから 2 名の計 5 名の他，個別研修として中華人民共和国からの参加者 1 名の計 6 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，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．また，麻疹を中心とした他のワクチン予防可能疾患に関する講義・実習を実施した．

（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 148 検体およびラオス 114 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・ベトナム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．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の維持を確認した．

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．2008 年の 3-6 月を中心として，中国本土で大規模な手足口病流行が発生し，とくに安徽省では，短期間に 20 名以上の急性死症例が報告され，中国ポリオ RRL から，感染研へ検査方法と検査試薬に関する照会がなされた．同時に，西太平洋地域の他のポリオネットワーク実験室から，手足口病の検査試薬等の供給について，WHO 地域事務局を介しての依頼があり，中国，ベトナム，モンゴルのネットワーク実験室に対して，同定用抗血清，病理組織免疫染色用抗体，遺伝子解析用プライマー等の送付を行った．

［吉田弘，西村順裕，有田峰太郎，清水博之］

エ）2008 年モンゴルにおける大規模な手足口病流行の際，モンゴル National Polio Laboratory は，エンテロウイルス同定の経験に乏しかったことから，一部の臨床検体を受け入れて，ウイルス分離同定・遺伝子解析を行った．その結果，2008 年のモンゴルの手足口病の主要な原因ウイルスは EV71 であり，EV71 遺伝子型は，中国本土で多く検出されている subgenogroup C4 ではなく C2 であることが明らかとなった．

［西村順裕，吉田　弘，有田峰太郎，清水博之］

オ） 2008 年 6 月 24－27 日に，WHO 本部(ジュネーブ)で行われた The 14th Informal Consultation on the Global Polio Laboratory Network および *Ad Hoc* Small Working Group to discuss the development and evaluation of a range diagnostic reagents に参加し，世界ポリオ根絶計画の現状およびポリオ実験室診断技術開発に関する情報交換を行った．

［清水博之］

カ） 2009 年 3 月 24－3 月 26 日に，オランダ RIVM で行われた *Ad hoc* Small Working Group discussion on development and evaluation of new diagnostic reagents and approaches to testing に参加し，ポリオ実験室診断技術開発に関する情報交換を行った．

［清水博之］

キ） 2006 年 12 月より開始したＶＰＤｓプロジェクトの後方支援（協力計画策定，研修受け入れ）に関与すると共に，中国ＣＤＣより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］

ク） 2008 年 10 月 15－10 月 21 日に行われた中国省級ポリオ実験室レビュー(青海省，陝西省)に JICA 専門家として参加し，レビューの結果を WHO および JICA に報告した．

［清水博之］

２．西太平洋地域の 2008 年のポリオウイルス分離状況

2008 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 262 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．カンボジア，ベトナム，モンゴルにおいて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．野生株ポリオウイルスおよびVDPVは検出されなかった．

[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を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，横断性脊髄炎患者由来の3型ポリオウイルスは，ワクチン株と比較すると高い病原性を有しており，OPV投与による横断性脊髄炎発症の可能性が示唆された．

[西村順裕，清水博之，Bruce Thorley (VIDRL)]

（２）新規ポリオウイルス検査法の開発

世界ポリオ実験室ネットワークによるウイルス学的診断では，培養細胞を用いたウイルス分離同定に基づくポリオウイルス検査を基本としているが，検査の迅速化には限界がある．そのため，糞便検体から，直接ポリオウイルスを検出同定する新たな検査手法が検討されているが，検体からのポリオウイルス直接検出には，検査感度・精度に関する技術的課題が多く残されている．そのため，高価な機器あるいは高度な技術を要する検査手法を用いることなく，技術レベルの異なる多くのネット出来るだけ多くの実験室への導入が可能な簡便なポリオウイルス検出法(RT-LAMP法，PA法等)に関する基礎的な技術開発を試みている．

[有田峰太郎，清水博之]

（３）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]

（４）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

中国は10年以上ポリオフリーであるが，インド，パキスタンといった野生株流行地に隣接することで輸入リスクを有する．また大都市部は流動人口を抱え疾患サーベイランスは困難な状況である．広東省広州市，山東省済南市をパイロットエリアとして，環境サーベイランスによるポリオ/エンテロウイルスの地域流行像を把握することを目的とする研究を行った．2008年4月から2009年2月までの流入下水，河川水調査を行ったところ，様々な腸管系ウイルスの流行を示唆しており，血清型，ゲノタイプなど詳細な解析が進行中である．

[吉田　弘，帖佐　徹（九州産業衛生協会）]

（５）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．

各種条件での安定性等についての評価を実施している．
［清水博之］

４．エンテロウイルスおよび他の腸管ウイルスに関する研究

（１）エンテロウイルス 71 結合受容体の探索

エンテロウイルス 71 結合受容体の同定を試みた．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．様々な cDNA ライブラリーを用いてクローニングを試み，Jurkat 細胞 cDNA ライブラリーから EV71 受容体候補分子を特定した．
［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 71 とヒト PSGL-1 との結合の解析

パンニングを用いた発現クローニングにより，エンテロウイルス 71 に結合する宿主蛋白質として，P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1)を同定した．PSGL-1 をほとんど発現していない 293T 細胞に PSGL-1 を一過性に発現させると，293T 細胞にエンテロウイルス 71 が結合するようになった．また，この結合は抗 PSGL-1 抗体で阻害された．したがって，PSGL-1 とエンテロウイルス 71 が特異的に結合することが示された．
［西村順裕，脇田隆字，清水博之］

（３）ヒト PSGL-1 発現マウス L929 細胞の樹立

ヒト PSGL-1 がエンテロウイルス 71 の細胞侵入に関わる受容体かどうかを解析するために，ヒト PSGL-1 を安定的に発現するマウス L929 細胞株(L-PSGL-1.1 細胞)を樹立した．エンテロウイルス 71-1095 株を L-PSGL-1.1 細胞に感染させたところ，感染後４日後に L-PSGL-1.1 細胞は細胞変性効果を示した．また，感染した L-PSGL-1.1 細胞質内にはエンテロウイルス 71 キャプシド抗原が検出された．さらにこれらの現象は，抗 PSGL-1 抗体で阻害された．したがって，ヒト PSGL-1 はエンテロウイルス 71-1095 株の侵入にも関わる受容体であることが示された．
［西村順裕，脇田隆字，清水博之］

（４）白血球細胞株，非白血球細胞株におけるエンテロウイルス 71 増殖の解析

各種細胞株を用いて，エンテロウイルス 71 受容体である PSGL-1 の発現と，エンテロウイルス 71 増殖の関連を解析した．PSGL-1 は Jurkat 細胞等の白血球細胞株に発現していたが，RD 細胞，Vero 細胞など非白血球細胞株にはほとんど発現していなかった．また，抗 PSGL-1 抗体は，エンテロウイルス 71 の Jurkat 細胞での増殖を阻害したが，RD 細胞や Vero 細胞での増殖を阻害しなかった．したがって，RD 細胞，Vero 細胞は PSGL-1 以外のエンテロウイルス 71 受容体を発現していることが示唆された．
［西村順裕，脇田隆字，清水博之］

（５）Jurkat 細胞における，エンテロウイルス 71 分離株の増殖性の解析

エンテロウイルス 71 受容体である PSGL-1 を発現している Jurkat 細胞を用いて，エンテロウイルス 71 分離株(8 株)の増殖を解析した．8 株のうち 5 株の増殖は抗 PSGL-1 抗体で阻害され，PSGL-1 依存的増殖が示された．さらにこれら 5 株は，可溶性 PSGL-1 と結合した．しかし，他の 3 株は可溶性 PSGL-1 に結合せず，Jurkat 細胞においても PSGL-1 依存的増殖を示さなかった．したがって，エンテロウイルス 71 は PSGL-1 に結合する株と結合しない株に分類されることが明らかとなった．
［西村順裕，脇田隆字，清水博之］

（６）ヒト PSGL-1 発現マウス L929 細胞におけるエン

テロウイルス 71 増殖の解析

ヒト PSGL-1 を安定的に発現するマウス L929 細胞株(L-PSGL-1.1 細胞)における，エンテロウイルス 71 分離株の増殖を解析した．分離株にはエンテロウイルス 71-1095 株を含む 5 株を用いた．RD または Vero 細胞で増殖させたエンテロウイルス 71-1095 株を L-PSGL-1.1 細胞に感染させたところ，4 日後には細胞変性効果を示した．しかし，その他の 4 株は 4 日後では明瞭な細胞変性効果を示さず，十分な細胞変性効果発現には 1 週間程度の培養を要した．この表現型の違いの原因を探るため，L-PSGL-1.1 細胞での増殖前後における，エンテロウイルス 71 ゲノム変異の比較解析を行っている．

[宮村紘平，西村順裕，脇田隆字，清水博之]

（７）ヒト中枢神経組織におけるエンテロウイルス 71 受容体発現の解析

PSGL-1 等エンテロウイルス 71 受容体分子の局在・分布と神経病変との関連性を解析することにより，アジア太平洋地域で発生しているエンテロウイルス 71 脳炎死亡例を含む手足口病流行におけるエンテロウイルス 71 神経病原性発現の分子機構を明らかにすることを目的として，急性エンテロウイルス 71 脳髄膜炎患者の中枢神経組織における，特異的エンテロウイルス 71 受容体分子の組織分布の解析を実施している．エンテロウイルス 71 脳炎患者および対照例に由来する中枢神経組織を用いて，エンテロウイルス 71 抗原，組織病変とエンテロウイルス 71 受容体分子の分布・局在および病理学的特徴を比較解析する．

[Wong Kum Thong (マラヤ大学)，西村順裕，清水博之]

（８）RD 細胞におけるエンテロウイルス 71 受容体の解析

エンテロウイルス 71 感受性である RD-A 細胞のゲノム DNA を非感受性であるマウス由来 L929 細胞に導入することで，EV71 感受性を持つ L929 細胞(L051 細胞)を樹立した．L929 細胞および L051 細胞から Total RNA をそれぞれ精製し，マイクロアレイの結果から，L051 細胞における mRNA 発現が L929 細胞よりも多いとされたヒトの遺伝子 523 個の中から上位５つの膜蛋白質を選んだ．それらの遺伝子に対応するヒト由来ゲノムが L051 細胞のゲノムに存在するかを PCR で確認した．5 つの候補遺伝子のうち 1 つの遺伝子の全長ゲノムが L051 細胞のゲノム中に導入され L051 細胞にエンテロウイルス 71 感受性をもたらすことを確認した．

[山吉誠也，小池　智(東京都臨床医学総合研)，清水博之]

（９）抗エンテロウイルス活性を持つ宿主細胞キナーゼ阻害剤の解析

ポリオウイルスおよびエンテロウイルス 71 の感染を阻害する Raf-1 阻害剤 GW5074 の活性を増強する細胞のキナーゼ阻害剤の探索を行い，MEK1/2 阻害剤，Akt1/2 阻害剤，およびチロシンキナーゼ阻害剤を同定した．CPE の観察により耐性ウイルスが分離されなかった GW5074 について，ウイルスゲノムの複製を確認したところ，選択 4 回目でウイルス複製が部分的な耐性を示した．ウイルスタンパク質 3A の同一の変異が，チロシンキナーゼ阻害剤 Flt3 Inhibitor II と GW5074 の阻害活性に耐性を示したため，これらの細胞のキナーゼ阻害剤はウイルスタンパク質 3A を標的とする阻害活性を持つことが示唆された．

［有田峰太郎，脇田隆字，清水博之］

（１０）エンテロウイルス 71 マウス感染モデルの解析

エンテロウイルス 71 マウス感染モデルを樹立するため，2 週齢のマウスに病原性を示すマウスアダプト株 2 株を分離した．マウスアダプトエンテロウイルス 71 株の遺伝子変異および培養細胞でのウイルス学的性状を解析したところ，1 株については温度感受性変異を有することが示された．現在，遺伝子解析および感染性クローンの作製により，in vivo および in vitro におけるウイルス学的性状を規定するウイルスゲノム部位の同定を行っている．

[Ong Kien Chai , Wong Kum Thong (マラヤ大学)，西

村順裕，有田峰太郎，清水博之]

（１１）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．用いた190検体から，HEV-A (11.05%)，HEV-B (24.21%)，およびHEV-C (11.05%)が同定可能であった．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，多様な血清型のエンテロウイルスが同定された．また，ヒト以外の類人猿由来糞便検体からエコー12型が高頻度に検出された．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．

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

（１２）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

従来，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・同定が広く用いられてきた．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．上気道炎患者からの咽頭拭い液検体から直接RNA を抽出してCODEHOP-PCR 法を用いた高感度検出法によりエンテロウイルス遺伝子検出を試みた．用いた213 検体のうち，46 検体(22%)についてエンテロウイルス同定可能であり，coxsackievirus A16 (59%)，coxsackievirus A5 (15%)，coxsackievirus A3 (11%)，coxsackievirus A6 (7%)，coxsackievirus B5 (4%)，および enterovirus B (4%)が検出された．ウイルス同定の精度と感度について，培養法との比較を実施している．

[吾郷昌信(長崎県環境保健研究センター)，Rifqiyah Nur Umami，西村順裕，清水博之]

（１３）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．2003ー2008 年にかけてベトナムで分離され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が，2006 年の分離株の一部は subgenogroup C4 に分類された．

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

（１４）セレン欠乏マウスモデルによるエンテロウイルス 71 病原性の解析

必須微量元素の一つであるセレンの欠乏条件下でのウイルス遺伝子変異誘導による病原性発現の可能性を検証するため，セレン欠乏マウスモデルおけるエンテロウイルス 71 感染モデルの樹立を試みた．妊娠マウスの妊娠初期よりセレン充足あるいは欠乏餌（特注市販品）を与えて飼育し，仔の出生後，通常に離乳し，離乳後も親と同じ餌で給餌を続ける．中枢神経組織を含めた各種臓器におけるセレン濃度およびグルタチオンペルオキシダーゼ活性，脱ヨード酵素活性等を測定

してマウスモデルにおける欠乏状態を評価する．セレン欠乏状態が確認された場合，エンテロウイルス 71 感染による病原性発現へのセレン欠乏の影響を解析する．

［小林紗弥加，渡辺知保(東大医学系研究科)，清水博之］

（１５）カプシド領域塩基配列を用いたエンテロウイルス同定法の比較

ヒトエンテロウイルス同定法として，カプシド領域の遺伝子解析に基づく塩基配列データを用いた手法が，現在広く用いられている．VP1 領域の配列に基づく解析が，血清型同定の精度の上からはもっとも妥当性があると考えられているが，比較的簡便に解析可能な VP4 領域解析を用いた同定の妥当性については評価が分かれる．今回，アジアの広範な地域で分離されたエンテロウイルス分離株を用いて，VP4，VP2 および VP1 領域の塩基配列を用いた同定法の妥当性を比較評価した．その結果，HEV-B および HEV-C については，VP1 領域を用いた同定の妥当性が高いが，HEV-A 分離株に関しては，どの領域を用いてもエンテロウイルスの同定が可能であることが明らかになった．

[David Perera, Mary Cardosa (Universiti Malaysia Sarawak)，石古博明(三菱化学メディエンス)，吉田 弘，清水博之］

（１６）カンボジア糞便検体中ヒトパレコウイルスの解析

ヒトパレコウイルスは，急性胃腸炎，呼吸器症状患者等，多様な臨床症状を有する患者から分離されるが，臨床症状との関連性は，ほとんど明らかにされていない．カンボジアの AFP 患者由来糞便 256 検体から RNA を抽出し，randam 6 mer で RT 反応を行った．Benschop らの方法(J Clin Virol, 2008)に基づいた 5’NTR 領域の primer，probe を用いた Real Time-PCR により，HPeV1ー6 型の検出を行った．Real-Time PCR 陽性サンプルは，VP1 領域の PCR 法を施行し血清型の同定を行い，その塩基配列を決定した．Real Time-PCR 法での HPeV 陽性検体は 256 検体中 17 検体であった．陽性の 17 検体中 9 検体では，EV11，EV14，EV71，EV88，CA2 などのエンテロウイルスが同一糞便検体から検出された．

[町田早苗 (埼玉医大)，Rifqiyah Nur Umami，西村順裕，清水博之］

（１７）コクサッキーウイルス A16 による手足口病に合併した間質性肺炎症例の解析

手足口病の原因は，大部分が EV71 とコクサッキーウイルス A16(CA16)である．EV71 は中枢神経合併症を起こしやすいことが知られている一方，CA16 による重症例の報告は極めて稀である．症例は 58 歳男性．骨外性粘液型軟骨肉腫の手術を施行後，多発肺内転移を認め，高熱，乾性咳嗽，呼吸困難が出現した．胸部 CT により肺炎が疑われ，同時に手足口病を疑う皮膚所見を認めた．さらに手足口病に罹患した娘との接触が確認されたため，各種ウイルスの検索を行ったところ，皮疹部位皮膚生検組織，咽頭ぬぐい液，直腸ぬぐい液，血痰より CA16 が分離・検出された．血痰等の材料から，CA16 が分離・検出されたことから，間質性肺炎発症の原因として CA16 感染が関与している可能性が高いと考えられた．

[福元伸一，平賀博明(北海道がんセンター)，長谷川秀樹(感染病理部)，西村順裕，清水博之］

（１８）CA16 による手足口病に合併した菱脳炎症例の解析

手足口病の原因は，大部分が EV71 と CA16 である．EV71 は中枢神経合併症，特に菱脳炎を起こしやすいことが知られている一方，CA16 による菱脳炎の報告はない．発熱および発疹により手足口病と診断された女児は，嘔吐・体幹の震え・眼の揺れ・立位不能等が出現し，神経学的所見として，異常眼球運動(オプソクローヌス)，頭部・体幹・上肢のミオクローヌス，筋力・筋トーヌスの減弱，体幹・四肢の失調を認め，オプソクローヌス・ミオクローヌス症候群の症状を呈していた．便からのウイルス分離で CA16 が検出され，血清

抗体価は，EV71 は感度以下であったのに対し CA16 は 64 倍と上昇していた．髄液のウイルス分離・エンテロウイルス PCR はいずれも陰性であった．本症例は，CA16 による手足口病に菱脳炎を合併した最初の報告である．CA16 による手足口病の流行の際にも，菱脳炎等の中枢神経合併症に注意する必要があると考えられる．

［實藤雅文，楠原浩一(九州大)，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

世界的ポリオ根絶達成およびその後の OPV 接種停止を視野に入れて，ポリオウイルス野生株の実験室封じ込めについて具体的な行動が必要とされている．WHO は全世界で統一された基準の下，ポリオウイルス野生株の実験室封じ込めを進めることを，すべての加盟国に求めている

2000-2008 年における野生株ポリオウイルス保有施設調査により得られた情報を，厚生労働省と国立感染症研究所により集計・評価し，野生株ポリオウイルス感染性材料・感染性を有する可能性のある材料を保有する可能性のある 82 施設をリストアップし，所管省庁の了解のもと各施設に対し確認調査を実施した．その結果，2008 年時点で，野生株ポリオウイルス感染性材料を保有する 14 施設が特定された．その後，新たに 1 施設が，他施設からの分与を受け野生株ポリオウイルスを保有したため，2008 年末時点で計 15 施設が野生株ポリオウイルス保有施設としてリストアップされた．2008 年 12 月，日本および中国は，現時点における野生株ポリオウイルス保有施設リストを含む，野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階最終評価報告書(Final quality assurance report of phase 1 wild poliovirus laboratory containment)を，WHO 西太平洋地域ポリオ根絶認定委員会第 14 回年次会議に提出した．西太平洋地域では，日本と中国以外のすべての加盟国は，すでに野生株ポリオ実験室封じ込め第一段階調査と外部評価を完了しており，今回の最終報告書の提出と承認をもって，西太平洋地域全体の野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階調査完了が宣言された．

［小林一司(厚労省)，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），宮村達男，清水博之］

６．その他

平成 20 年度は 7 件の行政検査依頼があり，ウイルス分離同定，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．

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 型肝炎ウイルスの薬剤耐性試験

HAV の中和試験を改変した薬剤耐性試験をデザインした．至適濃度に調整した HAV と階段希釈した薬剤を混和し細胞に感作・薬剤除去後，維持培地を加えて１週間静置し増殖した HAV を ELISA で検出した．カットオフ値は【ウイルス除去効果：陰性コントロールの平均＋3SD】，【ウイルス増殖阻害効果：陽性コントロールの平均-2SD】とした．数種類の薬剤について試験を実施したところ，ウイルス増殖阻害効果を示す薬剤が選択された．

［清原知子，石井孝司］

（２）不活化Ａ型肝炎参照ワクチン（国内参照品）の標準化

品質管理の一環として，国際標準品に対する現行の不活化Ａ型肝炎国内参照品[LotP1]の標準化を検討中である．NIBSC から供与された国際標準品と国内参照品を用いて，in vivo 力価試験及び in vitro 力価試験を行い国内参照品の国際単位を値付けする．平成 20 年度は国際標準品の輸入を行った．平成 21 年度に力価試験を予定している．

［清原知子，下池貴史，佐藤知子，吉崎佐矢香，石井孝司］

２．B 型肝炎ウイルス（HBV）に関する研究

（１）HBs 抗原陰性 B 型劇症肝炎患者のウイルスゲノム遺伝子の解析

HBs抗原陰性の劇症肝炎患者中のHBVのウイルスゲノムの解析を行った．患者血清よりHBVを分離し，その全塩基配列を決定した．その結果，遺伝子型はCで，B型肝炎の劇症化に関与するコアプロモータ変異，Pre-C stop変異をともに認めた．また，S領域のA-loopには保存された変異は検出されなかった．これらの結果より，この患者でHBs抗原が陰性であったのはウイルス変異によるものではなく，感染後に劇症化する課程でセロコンバージョンがおこった結果と考えられた．

［加藤孝宣，津田喜裕（大阪府立中河内救命救急センター），脇田隆字］

（２）HBV と糖鎖の相互作用の解析

HBV は硫酸多糖類と結合することが知られているが，他の糖鎖との相互作用については十分に解析されていない．HBV の S プロモーターを利用して HBs 抗原発現プラスミドを作製し，これを導入した Huh7 細胞の培養上清を濃縮，ショ糖密度勾配遠心分画し HBs 粒子を精製した．電子顕微鏡観察により，小型球形粒子，長さ不均一の管状粒子を確認した．糖鎖との相互作用を糖鎖固定化金ナノ粒子，糖鎖アレイで解析したところ，HBs 抗原は GlcNAc，Mannose と結合しうることが示されたが，N-glycan との相互作用は認められなかった．

［松田麻未，田中恵子（感染病理部），鈴木哲朗，脇田隆字］

（３）蛋白輸送関連化合物が HBV 分泌に及ぼす影響

細胞内の蛋白輸送，分泌系の各過程，シグナル伝達を阻害する低分子化合物が HBV 粒子産生，細胞外への分泌にどのような影響を及ぼすかを調べた．Microtubule stabilizer である Paclitaxel 及び Rac I kinase inhibitor の NSC23766 で分泌阻害効果が認められた．チューブリン重合，再編成など微小管の形成にかかわる細胞内機構が HBV 粒子の成熟化，輸送に重要な役割を果たす可能性が示唆された．

［Neetu Kapoor，鈴木哲朗，脇田隆字］

（４）HBs 抗原とチューブリン，微小管モーター蛋白との相互作用

HBV 遺伝子型 A，B，C の HBs 抗原ともチューブリン，キネシン軽鎖，キネシン重鎖との相互作用が認められた．また，HBV ゲノム発現細胞にキネシン軽鎖ドミナントネガティブを強制発現しておいた場合，このような HBs 抗原-キネシン相互作用が低下することも明らかとなった．さらに，共焦点レーザー顕微鏡観察により，HBV 発現細胞内において HBs 抗原とチューブリンが共局在することが観察された．一方，HBc 抗原はチューブリン，キネシンとの相互作用は認められなかった．

［Neetu Kapoor，鈴木哲朗，脇田隆字］

（５）HBV PreS1 抗原，virion-associated viral DNA とチューブリンとの相互作用

感染性 HBV 粒子の形成には HBs 抗原の他に large S 抗原が重要であることが知られている．HBV ゲノム発現細胞を抗チューブリン抗体で免疫沈降した後，抗 large S 抗体でウエスタン解析を行ったところ，チューブリン-large S 抗原の相互作用が認められた．また，同免疫沈降物から DNA を抽出し PCR 法を行った結果，HBV DNA が検出された．これらの結果より，微小管は，HBs 粒子だけでなく感染性粒子の産生，輸送にも関与している可能性が考えられた．

［Neetu Kapoor，鈴木哲朗，脇田隆字］

（６）HBV 感染増殖細胞系の作製

肝細胞様の形態を保持し高い薬物代謝酵素発現を示すヒト肝がん細胞株 HepaRG を使って HBV の感染増殖系の作製を行った．Huh7 細胞で産生させた HBV genotyoe C 株を感染させたところ，感染後少なくとも 13 日目まで HBs 抗原，HBe 抗原の産生が維持された．感染前に heparinase 処理した HepaRG 細胞では抗原産生は顕著に低下した．

［鈴木哲朗，Neetu Kapoor，脇田隆字］

（７）Ｂ型肝炎ウイルスの薬剤耐性試験

HBV を産生する 2.2.15 細胞（HepG2 由来）を薬剤含有培地で維持し，上清に分泌された HBs 抗原量を in-house ELISA で測定した．無処置群に対する薬剤添加群の HBs 抗原産生阻害作用を算出し，有効薬剤のスクリーニングを行った．薬剤は LOPAC1280[SIGMA]，陽性対照はラミブジンを使用した．対象の 1268 薬剤から陽性対照以上の HBs 抗原産生阻害作用を示した 5 薬剤を選択した．

［清原知子，鈴木哲朗，石井孝司，脇田隆字］

（８）Ｂ型肝炎ワクチンの試験管内試験法の検討

当室ではＢ型肝炎ワクチン国家検定で実施している in vivo 力価試験の代替法として Binding ELISA による in vitro 試験を検討してきた．平成 20 年度は Binding ELISA に加えて Inhibition ELISA による in vitro 試験の検討を開始した．

［清原知子，佐藤知子，吉崎佐矢香，石井孝司］

３．Ｃ型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究

（１）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との結合領域はコア蛋白質1-43aaは共通であるが，Ｃ末端側の第二の結合領域については，hnRNPHおよびhnRNPFとで必要な部位がことなることが示唆された．

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

（２）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ＨＣＶ−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，ＨＣＶ−ＲＮＡ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コア蛋白質の結合にはHCV-RNAが関与していることが示唆された．

［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］

（３）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．flag-tagを付加した各蛋白を強発現した細胞のcrude S10を作製し，IIId-RNAとの結合について検討した．その結果，コントロールであるIIIdアンチセンスRNAには結合しなかったが，IIId-RNAにはいずれの蛋白も結合することが確認できた．また，endgenous hnRNPsとの結合についても同様に確認した．

［村上恭子，阿部克俊，勝二郁夫，小池和彦（東大感染症内科），脇田隆字］

（４）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．この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．このうち，ergic53,ergic63について詳細な検討を行った．これらの蛋白のノックダウンによりHCV-RNA複製効率が低下し，ＨＣＶ複製効

率の調節に関与している可能性が示唆された．また，細胞染色によりこれらの蛋白は細胞内でＮＳ３およびＨＣＶ-ＲＮＡと共局在することが明らかとなった．
[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]

（５）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．培養形態によって発現の異なる宿主因子のひとつである脂肪酸結合蛋白質 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．三次元培養細胞では細胞内のＦＡＢＰ量は上昇しているが培地中のＦＡＢＰ量は減少しており，FABPが感染抑制に作用している可能性が示唆された．
［村上恭子，勝二郁夫，吉崎佐矢香，松田麻未，鈴木哲朗，宮村達男，脇田隆字]

（６）NS5A との結合に必要なコア蛋白領域の同定

NS5A とコア蛋白の相互作用は感染性 HCV 粒子の形成に重要である．しかし，その結合様式や結合領域は明らかになっていない．そこで，NS5A との結合に必要なコア蛋白領域を同定するために，種々のコア蛋白欠損体を用いて解析を行った．精製蛋白を用いた pull-down 解析により，コア蛋白の aa 117-173 領域が NS5A との相互作用に重要であることが分かった．現在，細胞内での結合領域の解析を免疫沈降法により行っている．
[政木隆博，加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字]

（７）コア蛋白との結合に必要な NS5A 領域の同定

コア蛋白との相互作用に重要な NS5A 領域は，NS5A の C 末端側であることが示唆されている．コア蛋白との結合に必要な NS5A 領域をさらに詳細に解析するために，種々の NS5A 欠損体を用いて解析を行っている．精製蛋白を用いた pull-down 解析により，NS5A の domain 3（JFH-1 NS5A における aa 352-466)がコア蛋白と相互作用することを確認した．現在，細胞内での結合領域の解析を免疫沈降法により行っている．
[政木隆博，加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字]

（８）NS5A-コア蛋白間相互作用の生細胞イメージング

CoraHue®Fluo-chase Kit は，タンパク質断片コンプリメンテーション法を基にした，タンパク質間相互作用を蛍光シグナルとして検出するキットである．このシステムを用い，生細胞における NS5A-コア蛋白間相互作用をリアルタイムに解析した．蛍光タンパク質断片を融合した形で NS5A 及びコア蛋白を Huh-7 細胞に発現させ，蛍光顕微鏡でシグナルを解析した．その結果，野生型 NS5A 導入細胞において中等度の蛍光シグナルが観察されたのに対して，変異型 JFH-1 導入細胞では蛍光シグナルが減弱していた．
[政木隆博，加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字]

（９）NS5A とコア蛋白の相互作用に関与する宿主因子の解析

HCV の生活環はウイルス蛋白が様々な宿主因子と相互作用することによって維持されており，NS5A とコア蛋白間の相互作用にも宿主蛋白等の介在因子が関わっている可能性が考えられる．そこで，野生型 JFH-1 複製細胞と変異型 JFH-1 複製細胞における NS5A 結合因子を SDS-PAGE 後の銀染色で確認したところ，両細胞間の泳動プロファイルに差が認められた．現在，宿主因子の同定に向け解析を進めている．
[政木隆博，加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字]

（１０）NS5A と相互作用するヒトプロテインキナーゼの探索

NS5A のリン酸化はウイルスゲノム複製だけでなく，感染性ウイルス粒子の形成にも重要である．そこで，NS5A と相互作用するヒトプロテインキナーゼを網羅的手法により探索した．その結果，400 種類超のヒト

プロテインキナーゼのうち，38 種類において NS5A との強固な相互作用が認められた．
[政木隆博，*澤崎達也，*遠藤弥重太，加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字（*愛媛大無細胞生命科学工学研究センター）]

（１１）NS5A のリン酸化に関与する新規セリン/スレオニンプロテインキナーゼの探索
NS5A と強く相互作用するヒトプロテインキナーゼを，それぞれ[γ-^{32}P]ATP 存在化で精製 NS5A と混和し，SDS-PAGE 後オートラジオグラフィーにより NS5A のリン酸化を解析した．その結果，4 種類のセリン/スレオニンプロテインキナーゼが NS5A をリン酸化する活性を有していた．うち 1 種類は NS5A のリン酸化に関与することが既に報告されているカゼインキナーゼ II であった．[政木隆博，*澤崎達也，*遠藤弥重太，加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字（*愛媛大無細胞生命科学工学研究センター）]

（１２）スフィンゴミエリン合成における protein phosphatase 2Cε (PP2Cε)の役割
PP2CεはVAP-A との結合依存的に CERT を活性化させ，ゴルジにおけるスフィンゴミエリン合成を亢進させることで知られている．これを確認するため，siRNA により PP2Cε発現をノックダウンし，薄層クロマトグラフィーを用いてスフィンゴミエリン合成量を解析した．PP2Cε発現の約 50%のノックダウンにより，細胞内のスフィンゴミエリン合成量が非ノックダウン細胞に比べ約 50%減少した．
[政木隆博，花田賢太郎（細胞化学部），加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字]

（１３）HCV 生活環における PP2Cεの役割
PP2Cεは VAP-A と相互作用し，スフィンゴミエリン合成に関わるホスファターゼであるため，HCV 生活環に何らかの影響を与えている可能性が考えられる．HCV subgenomic replicon 細胞，JFH-1 感染細胞を用い，PP2Cεの発現制御が HCV 生活環に与える影響を解析した．PP2Cεの強制発現により高リン酸化型 NS5A の発現量が低下したが，HCV RNA 複製，粒子形成に対する有意な影響はみられなかった．PP2Cε発現のノックダウンにおいても HCV RNA 複製，粒子形成に対する有意な影響はみられなかった．
[政木隆博，花田賢太郎（細胞化学部），加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字]

（１４）レポーター遺伝子を持った JFH-1 株の効率的な感染増殖系の樹立
簡便に HCV 感染を検出する系の構築のため，GFP 遺伝子を HCV ゲノムに挿入し，細胞感染後に GFP を発現するレポーターウイルスの構築を試みた．JFH-1 株における GFP 挿入可能部位を NS5a 領域に同定し，GFP を持ったウイルスの感染増殖系を作成したが，ウイルス生成効率，感染効率ともに低く，簡便に感染を検出しうる系は得られなかった．そこで JFH-1 株の長期培養により得られた適応変異を GFP ウイルスに導入し，これらの変異による影響を検討した．その結果，変異を持った GFP ウイルスの感染ではより多くの GFP 陽性細胞を認め，変異導入により GFP ウイルスの生成能と感染能が増強されたと考えられた．
[加藤孝宣，脇田隆字]

（１５）HCV1b 株感染増殖系における ISDR 変異の感染増殖への影響とインターフェロン感受性の検討
新たに開発した HCV-1b 株の感染増殖系を用い，インターフェロン(IFN)治療に対する感受性への関与が報告されている ISDR の変異がウイルス増殖に与える影響を検討した．われわれが使用している HCV-1b 株の ISDR は mutant タイプであった．そこでこの株の ISDR をワイルドタイプ(WT)の配列になるように変異を導入した株を作成し，培養細胞での増殖能を検討した．その結果，ISDR を WT に変化させた株の増殖能は mutant タイプの株に比べ低下し，IFN に対する感受性と培養細胞での増殖能は相反する関係に有った．今後この意義について検討していく予定である．
[加藤孝宣，伊達朋子，脇田隆字]

（１６）JFH-1 患者血清感染チンパンジーで認めた変異が JFH-1 の培養細胞での増殖能に与える影響の検討

培養細胞で作製した JFH-1 ウイルスとその JFH-1 株が分離された患者血清をチンパンジーに接種し感染実験を行った．感染が成立した JFH-１株に認めた変異を JHF-1 株に導入し，それらの変異が JFH-1 株の培養細胞での感染増殖に与える影響を検討した．その結果，これらの変異を導入すると JFH-1 株の培養細胞内での増殖は低下するが，ウイルス粒子の生成効率は亢進していた．これらの変異の JFH-1 株に与える影響は，HCV のチンパンジーでの感染に関与していると考えられた．

［Mohsan Saeed，加藤孝宣，脇田隆字］

（１７）JFH-1 株培養細胞適応変異株の分離法の樹立

JFH-1 株を培養細胞に導入し長期培養を行うと，培養細胞での適応変異を得ることで強い増殖能を持つようになることが知られている．しかし，この適応変異の同定のため適応したウイルスのダイレクトシーケンスを行うと，得られた変異ではその適応ウイルスの増殖能を再現できないことが多い．そこで，適応ウイルスを限界希釈し，96 ウエルプレートに播いた細胞に再感染させることで，強い増殖能を持った適応ウイルスを分離した．この分離したウイルスの適応変異を同定し，得られた変異の JFH-1 株の感染増職能に与える影響を検討中である．

［加藤孝宣，脇田隆字］

（１８）JFH-1 株で認めた培養細胞適応変異が他の株の感染増殖に与える影響の検討

生体内で認めた適応変異を JFH-1 株に導入したところ，この変異は JFH-1 株の培養細胞内での感染性ウイルス粒子の組み立てを亢進していた．そこで，この変異の普遍性を検討するため JFH-1 株の構造領域を J6CF 株に置換した J6/JFH-1 キメラ株にこの変異を導入し，培養細胞内でのウイルスの増殖を検討した．その結果，J6/JFH-1 キメラ株ではウイルス粒子形成効率の亢進は認められず，この変異の効果は JFH-1 株の構造領域の配列に特異的なものであると考えられた．

［加藤孝宣，脇田隆字］

（１９）GFP 挿入全長遺伝子レプリコンのヒト肝細胞キメラマウスへの感染の検討

レポーター遺伝子を挿入した感染可能なウイルスの中で，J6/JFH-１キメラ株の GFP 挿入全長遺伝子レプリコンが最も安定して感染性ウイルス粒子の作成が可能であった．そこでこの GFP 挿入全長遺伝子レプリコンをヒト肝細胞キメラマウスへ接種し感染が可能であるか，またキメラマウスの肝での感染細胞で GFP の観察が可能であるかを検討した．その結果，GFP 挿入全長遺伝子レプリコンの接種によりキメラマウスでの HCV の感染は確認し得たが，肝での GFP の観察は不可能であった．おそらく GFP 挿入全長遺伝子レプリコンウイルスがキメラマウスの肝細胞に感染後，GFP を排除して増殖しているものと考えられた．

［赤澤大輔，加藤孝宣，今村道雄*，茶山一彰*（*広島大分子病体制御内科学），石橋真理子**，江角眞理子**（日大医学部病理），脇田隆字］

（２０）HCV 感染における細胞表面脂質の役割

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．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．これらの処理により，HCV のレセプターである CD81，SR-BI は脂質ラフト分画から可溶性分画へ移行した．また，HIV や HTLV では標的細胞膜上の脂質ラフトが膜融合に影響を与えていることも知られており，HCV 感染における細胞表面の脂質ラフトの役割について解析している．また，感染過程における糖スフィンゴ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），鈴木哲朗，脇田隆字］

（２１）HCV粒子形成，感染性に重要なコレステロール構造の解析

HCV粒子形成，ウイルス感染性に重要なコレステロール構造を明らかにするため，dihydrocholesterol，coprostanol，25-hydroxycholesterol，5-alphacholestane，lanosterol，7-dehydrocholesterol，4-cholestenoneなどコレステロール類縁体を用いて構造活性相関を解析した．脂質ラフト状ドメインの構造維持に重要であると報告されているコレステロール環構造の3位のヒドロキシル基の存在と環構造の柔軟性がHCVの感染性と粒子構造の維持に重要であることが示唆された．

[山本真民，相崎英樹，鈴木哲朗，脇田隆字]

（２２）HCV E2タンパク質の機能解析

分泌シグナル配列を付加した E2（E2dTM）を293GnTI(-)，293T 細胞に遺伝子導入し，培養上清から精製を行い修飾糖鎖の異なる 2 種の E2dTM を得た．糖鎖質量解析の結果，修飾されたN型糖鎖はそれぞれ293GnTI(-)では高マンノース型，293T では複合型であった．高マンノース型 E2dTM は 60 kDa の均一な分子量を示し，複合型は 75 kDa を中心とした不均一な分子量を示した．これら 2 種の E2dTM を用いて CD81 分子との結合能，E2 抗体との結合能を解析し，精製E2dTM はともに CD81 分子と相互作用し，E2 抗体によって認識された．

[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]

（２３）HCV E2タンパク質の結晶化

293GnTI(-)細胞の培養上清から精製を行い高マンノース型のE2dTMを得た．精製したE2dTMはジスルフィド結合を介した多量体（2 量体，3 量体など）を形成しており，これを更にゲルろ過にて分画することで均一な単量体 E2dTM を得た．結晶化を始めるにあたり，単量体E2dTMの性状分析を行った．動的光散乱法，質量分析にてその性状を分析したところ，結晶化のスクリーニングに十分な性状であった．1 度目のスクリーニングを行ったが，現在のところ結晶を得るまでには至ってない．現在，新たな E2 タンパク質の作製を検討している．

[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]

（２４）HCV粒子侵入過程におけるE1，E2の糖鎖の役割

HCVのE1，E2を有するpseudo-particle（HCVpp）を作成して，HCV の侵入過程における糖鎖の影響を解析した．293GnTI(-)細胞(高マンノース型)及び，293T細胞（複合型）を用いて，異なる糖鎖を有する HCVppを作成した．Real-time PCR法で2種のHCVpp中のRNA量を測定することで粒子量の定量を行い，感染後，細胞中のルシフェラーゼ活性を測定することで比較検討した．その結果，高マンノース型において活性の減少がみられた．次に，感染に必要とされているN型糖鎖（6 か所）のみに注目して，それ以外のアミノ酸に変異を導入して更なる解析を行う予定である．

[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]

（２５）HCVと硫酸多糖類との結合様式の解析

HCV感染初期過程において，肝細胞表面の硫酸化多糖とウイルスの結合が深く関与していることが知られている．硫酸化多糖の一種であるヘパリンを固定化した担体を用いて培養細胞由来HCVとの相互作用をみたところ効率よく結合することが示されたが，HCV陽性患者血清を用いた場合は，培養細胞由来HCVに比べ，その相互作用に血清間で多様性が認められた．血液成分またはHCVの多様性がこれらの相互作用に影響を及ぼしているものと推察された．

[高橋由佳，鈴木哲朗，脇田隆字]

（２６）HCV JFH-1株の配列の挿入によるJ6CF株の複製能獲得の解析

HCV JFH-1株は培養細胞内で効率的よく複製できる．J6CF株は同じ遺伝子型に属する株であるが，培養細胞

では複製できない．この２つの株間でのキメラを用いた解析の結果，NS3 ヘリカーゼ領域と NS5B 領域，3’UTR が，JFH-1 株の複製に重要であることが明らかとなっている．NS5B 領域では，C 末端側領域が複製に重要であり，JFH-1 株の NS3 ヘリカーゼ領域と 3’UTR の存在下で，JFH-1 株の NS5B の C 末端側領域のみの置換で J6CF 株が複製できるようになった．

[村山麻子，伊達朋子，赤澤大輔，加藤孝宣，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字]

（２７）HCV JFH-1 株の NS5B ポリメラーゼ活性の解析

培養細胞で効率よく増殖できる HCV JFH-1 株と増殖できない J6CF 株の，ポリメラーゼをコードしている NS5B の RdRp 活性を *in vitro* で解析した．JFH-1 株の NS5B は高いポリメラーゼ活性を示し，一方 J6CF 株の NS5B は非常に低いポリメラーゼ活性を示した．この J6CF 株の NS5B に JFH-1 型の変異を導入して解析し，J6CF 株の NS5B のポリメラーゼ活性を上昇させる JFH-1 型の変異を同定した．

[村山麻子，伊達朋子，赤澤大輔，加藤孝宣，石井孝司，鈴木哲朗，豊田哲也（上海パスツール研），脇田隆字]

（２８）HCV J6CF 株のへの JFH-1 型 NS5B 変異導入の効果

培養細胞で効率よく増殖できる HCV JFH-1 株と増殖できない J6CF 株の，ポリメラーゼをコードしている NS5B 領域の変異を比較解析した．JFH-1 株の NS3 ヘリカーゼ領域と 3’UTR の存在下で，J6CF 株の NS5B 領域に数個の JFH-1 型アミノ酸変異を導入すると，RNA 複製およびウイルス分泌が上昇した．これらの JFH-1 型変異はポリメラーゼ活性を上昇させることにより RNA 複製能を高めていると考えられる．

[村山麻子，伊達朋子，赤澤大輔，加藤孝宣，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字]

（２９）HCV JFH-1 株の NS5B 領域の変異が RNA 構造および RNA 複製に及ぼす影響

HCV ゲノムの NS5B コーディング領域の 3’末端側には，高次構造をとり 3’UTR と相互作用することが知られている RNA 配列(CRE)が存在する．この配列のすぐ近傍に，J6CF 株の複製能を上昇させる JFH-1 型変異を見いだした．解析の結果，この変異は報告されている RNA 配列上にはないものの，複製に重要な 3’UTR との相互作用に影響を与えていることが示唆された．JFH-1 株では，CRE の配列が他の株よりも長く，より強固な相互作用があると考えられる．

[村山麻子，伊達朋子，赤澤大輔，加藤孝宣，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字]

（３０）HCV 3’UTR 内の可変領域の効率よい RNA 複製における重要性

培養細胞で増殖可能な HCV JFH-1 株と増殖できない J6CF 株の比較により，JFH-1 株の 3’UTR は効率の良い RNA 複製に重要であることが明らかとなっている．3’UTR は可変領域(VR)，poly-U 領域，そして保存性の高い 3’X 領域からなるが，VR を JFH-1 型にするとゲノム複製が著しく上昇することが判明した．JFH-1 株と J6CF 株の VR の構造は予測上異なり，この構造変化を担う変異を同定した．VR の変異は RNA 二次構造を変化させることで複製に関与すると考えられる．

[村山麻子，伊達朋子，赤澤大輔，加藤孝宣，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字]

（３１）HCV poly U 領域の長さが RNA 複製に及ぼす影響

培養細胞で増殖可能な HCV JFH-1 株と増殖できない J6CF 株の比較により，JFH-1 株の 3’UTR は効率の良い RNA 複製に重要であることが明らかとなっている．3’UTR の解析により，poly-U 領域を JFH-1 型にするとゲノム複製が上昇し，J6CF 型にすると，複製能が低下することが判明した．JFH-1 株の poly-U 領域は J6CF 株のものより 27 ヌクレオチド短い．J6CF 型の長い poly-U 領域は培養細胞内での複製には不利に働いていることが示唆された．

[村山麻子，伊達朋子，赤澤大輔，加藤孝宣，石井孝

司，鈴木哲朗，脇田隆字]

（３２）HCV NS3 ヘリカーゼ領域のウイルス複製における役割の解析

JFH-1 株の NS3 ヘリカーゼ領域は JFH-1 株の効率の良いゲノム複製に必要である．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 株の間でキメラウイルスを作製し，解析した．その結果，JFH-1 株の NS3 ヘリカーゼの中央の領域が高い複製能に重要であることが明らかとなった．現在，この領域に含まれるアミノ酸変異について解析中である．

[村山麻子，伊達朋子，赤澤大輔，加藤孝宣，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字]

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

CKB は NS4A 蛋白と結合し複製複合体を構成すること，ノックダウン，阻害剤により HCV ゲノム複製が阻害されることを明らかにしている．さらに，セミインタクト細胞を用いた複製系において，CKB，基質 phosphocreatine を加えたとき高い HCV replicase 活性が認められること，CKB ノックダウン細胞の場合，複製能は低下することなどを新たに見出した．

[原　弘道，相崎英樹，松田麻未，井上　寧，勝二郁夫（神戸大），鈴木哲朗，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

これまでに 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ことを報告しており，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．複製に関与することが知られている宿主蛋白の NS5A 結合性の違いを見出しており，宿主因子依存性の詳細が不明な遺伝子型 2a レプリコンの複製メカニズムについても解析している．

[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），鈴木哲朗，脇田隆字]

（３５）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分子シャペロン CCT/TRiC 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も同定された．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，HCV 感染細胞系においても HCV 粒子産生が TRiC siRNA によって抑制されることが示された．

[井上　寧，村上恭子，松田麻未，相崎英樹，原　弘道，勝二郁夫，鈴木哲朗，脇田隆字]

（３６）HCV NS5A 蛋白と相互作用し HCV 複製を調節する宿主因子の同定

NS5A 発現細胞より免疫沈降法を用いて NS5A に結合する宿主蛋白質を精製し，質量分析法にて蛋白質を同定した．約 30 種類のヒト蛋白が同定され，未報告蛋白群について replicon 細胞及び HCV 感染細胞を用いて siRNA screening を行い，HCV 複製に関与しうる３種類の NS5A 結合蛋白を同定した．

[木村敬郎，鈴木亮介，勝二郁夫（神戸大），山越 智（生物活性物質部），鈴木哲朗，脇田隆字]

（３７）Prohibitin 2 による HCV 複製調節

HCV replicon 細胞，感染細胞で Prohibitin 2 遺伝子をノックダウンすると HCV RNA レベルまたウイルス産生が有意に抑制されることを見出した．Prohibitin 2 は，replicon 細胞において内在性蛋白が NS5A と複合体を形成しその相互作用には NS5A の N 末端側領域が重要であることが示された．また，Prohibitin 2 は複製複合体分画でエンリッチされていた．

[木村敬郎，鈴木亮介，勝二郁夫（神戸大），山越 智

（生物活性物質部），鈴木哲朗，脇田隆字］

（３８）HCV RNA 複製におけるスフィンゴ糖脂質の役割

HCV 遺伝子型 1b 由来サブゲノムレプリコン細胞にグルコシルセラミド合成阻害剤を添加すると HCV RNA 複製が有意に低下することを見出した．このとき，レプリコン細胞のメンブレンフローテーションアッセイを行ったところ，複製複合体が界面活性剤可溶画分へシフトすることが示された．

［山本真民，相崎英樹，原 弘道，鈴木哲朗，脇田隆字］

（３９）HCV RNA を複製する肝星細胞株の樹立

慢性肝炎は発症とともに肝臓組織の線維化へと進行する．これは主に，細胞外マトリクスを調節する肝星細胞の活性化によって調節機構に異常が起こるためと考えられている．肝星細胞の活性化過程に HCV 因子が関与するかを解析するため，肝星細胞を用いて HCV RNA 複製系の樹立を試みた．JFH1 subgenomic replicon RNA を肝星細胞株（TWNT-4 細胞）に遺伝子導入し G418 存在下で選択培養を行った．その結果，10^7 copies/ug total RNA を示す replicon 細胞株を 2 クローン樹立した．

［渡邉則幸，相崎英樹，鈴木哲朗，脇田隆字］

（４０）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，感染性ウイルス粒子形成に及ぼす影響を解析している．これまでのところ，Golgi の機能阻害剤 Cyclofenil diphenol，Nordihydroguaiaretic acid では感染性ウイルスの産生低下が認められたものの，ER から Golgi への輸送阻害剤 ADP-ribosylation factor inhibitory peptide，Brefeldin A では認められなかった．現在，阻害剤を処理した感染細胞の観察および生化学的解析を行っている．

［相崎英樹，原 弘道，鈴木哲朗，脇田隆字］

（４１）HCV 粒子形成に関与する脂肪滴周辺膜蛋白の同定と機能解析

細胞内脂肪滴が HCV 粒子形成に重要であることが知られている．本研究では，脂肪滴周辺膜（lipid droplet-associated membrane）のプロテオーム解析を行い，ウイルス粒子産生に関与する蛋白の同定を行った．45 種類の脂肪滴周辺膜蛋白が同定され，それらの蛋白のうち apolipoprotein E，dehydrocholesterol reductase，hydroxysteroid dehydrogenase 等をノックダウンするとウイルス粒子産生が著しく低下した．得られた宿主因子に関する詳細な機能解析は，HCV の粒子形成，細胞内移行の分子メカニズムの解明につながるものと期待される．

［相崎英樹，後藤耕司，山本真民，深澤征義（細胞化学部），花田賢太郎（細胞化学部），脇田隆字，鈴木哲朗］

（４２）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）が存在するが，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 の変異体コアでは，RNA との結合能，RNA パッケージングの効率が低下するため，感染性粒子が正常に形成されないことが示唆された．

［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］

（４３）HCV コア蛋白のプロテアソームによるユビキチン依存的および非依存的分解

HCV コア蛋白はプロテアソームによってユビキチン依存的に分解されるが，ユビキチン鎖が形成されない変異コア蛋白を用いてユビキチン非依存的な分解経路の存在を明らかにした．この機構には PA28g との結合が重要である事が明らかとなった．

［鈴木亮介，森石恆司（大阪大微研），石井孝司，白倉雅之（ウイルス３部），勝二郁夫，松浦善治（大阪大微研），鈴木哲朗，脇田隆字］

（４４）HCV 生活環における小胞体関連蛋白分解機構の役割

HCV 感染に伴って，小胞体ストレス応答に関与する XBP-1 のスプライシングが誘発され，その下流に位置する小胞体関連蛋白分解（ERAD）因子である EDEM１の発現が誘導された．HCV 感染細胞に EDEM1 siRNA を導入することにより培養上清中の感染性ウイルスレベルが上昇することを見出した．HCV 粒子産生過程に ERAD 経路が関与することが示唆された．

［Saeed Mohsan，加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字，渡邉治雄］

（４５）プラスミドトランスフェクションによるHCV *trans*-packagingシステムの確立

HCV（JFH-1株）のcore-NS2発現プラスミド，およびルシフェラーゼ(Luc)発現レプリコンcDNAをpolI promoter/terminator間に挿入したレプリコンプラスミドを作製し，これら２つのプラスミドをHuh7.5.1細胞へ導入する事により，感染性粒子の産生をLuc活性で評価できる系を構築した．

［鈴木亮介，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字］

（４６）感染性粒子形成におけるHCV NS2蛋白の役割

Core-p7 発現プラスミド，NS2 発現プラスミド，さらにレプリコンプラスミドの３種類のプラスミドトランスフェクションにより，NS2 変異体の感染性粒子産生を評価した．NS2 の N 末端側の膜貫通領域または C 末端のアミノ酸を欠損させると，感染性粒子の産生は認められなかった．一方，NS2 のプロテアーゼ活性中心，リン酸化部位と推定されるセリン残基をアラニンに置換した変異体は粒子形成に影響しなかった．

［鈴木亮介，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字］

（４７）分割ユビキチン法を利用した HCV NS2 と結合する宿主因子の探索

分割ユビキチン法を利用した酵母 two hybrid システムにより，HCV NS2 と結合する宿主因子を，ヒト肝臓ライブラリーよりスクリーニングした．NS2 蛋白質に結合性を示した複数のクローンについて塩基配列を決定した．

［鈴木亮介，鈴木哲朗，脇田隆字］

（４８）遺伝子型 1a の外殻タンパク質を持つ効率の良い HCV 粒子産生系の構築

遺伝子型 1a である H77 株と JFH-1 株のキメラ HCV 遺伝子を作製し，粒子産生能および感染性についての検討を行った．H77/JFH-1 RNA 導入細胞の長期継代を行うことにより，培養上清中に感染性 HCV 粒子が産生されることが示された．粒子産生能が向上した細胞中の HCV ゲノム配列を解析した結果，H77 株由来の NS2 領域である 835 番目と 838 番目のチロシン(Y)がシステイン(C)に変異している事が見出され，特に 835 番目の変異が HCV 粒子産生増強に影響を与えることが判明した．

［高橋　仁，赤澤大輔，尾見法昭，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］

（４９）劇症肝炎患者から分離した新規 JFH-2.1 株を用いた HCV 粒子産生系の構築

劇症肝炎患者から分離した遺伝子型 2a の HCV である JFH-2.1 株を用いてウイルス粒子産生について検討を行った．JFH-2.1 株の NS5A 領域にあるアラニン(A)をセリン(S)へ置換することによりウイルス粒子の産生がみられ，JFH-2.1 HCV 粒子産生には AS 変異が重要であることが示された．得られた JFH-2.1 HCV 粒子は感染性を有し，抗 CD81 抗体により感染が阻害されることから JFH-1 ウイルス粒子と同じ経路で感染していることが示唆された．

［高橋　仁，伊達朋子，赤澤大輔，尾見法昭，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］

（５０）無血清培養による感染性 HCV 粒子の作製

Huh7 細胞で作製した感染性 HCV の精製を効率的に行うため，無血清条件での培養を試みた．培養液のウシ血清添加量を漸減すると培養液中へのウイルス産生量が減少するが，無血清に細胞を馴化した後にウイルス RNA を導入して作製すると効率良く作製できることが明らかとなった．この方法で作製した感染性 HCV は感染力価や浮遊密度プロファイルには変化がなかった．

[赤澤大輔，森川賢一，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），深澤秀輔（生物活性物質部），伊達朋子，加藤孝宣，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字]

（５１）感染性 HCV 粒子の濃縮粗精製法の検討

感染性 HCV 粒子を用いたワクチン開発を視野に入れ，細胞培養 HCV 粒子の大量サンプルからの精製を検討している．初期の粗精製工程として効率良く除タンパク質が可能な限外濾過膜を選定し，排除分子量 500 kDa のホローファイバー（GE ヘルスケア製）を使用して濃縮・透析を行うことで大量サンプルからの初期精製が可能となった．

[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，石井孝司，鈴木哲朗，脇田隆字]

（５２）J6/JFH-1 キメラ HCV を用いたワクチンにおけるアジュバント検討

Huh7 細胞にて産生したキメラ HCV J6/JFH-1 を粗精製し，UV で不活化した後，各種アジュバントと混合して 5 週齢雌性 BALB/c マウスに隔週 4 回腹腔内投与した．免疫原性は組換え E1 および E2 タンパク質に対する EIA で確認した．アジュバントとして水酸化アルミニウムゲル，MPL および poly I:C が有効であることが示唆された．今後，さらに反応を高める組み合わせを調べていく．

[尾見法昭，赤澤大輔，高橋　仁，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]

（５３）HCV 粒子ワクチンの感染中和活性の誘導

Huh7 細胞で作製した J6/JFH-1 キメラ HCV を限外濾過およびショ糖密度勾配超遠心で精製した．UV で不活化した HCV 粒子を，5 週齢雌性 BALB/c マウスに MPL をアジュバントして隔週 4 回腹腔内投与し，血清を採取して抗体価および in vitro 中和活性を調べた．HCV 粒子免疫マウスでは抗 E1 および E2 抗体の惹起が認められ，その血清は遺伝子型 2a だけではなく，1a および 1b の HCV 感染を in vitro で阻害した．

[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），鈴木哲朗，石井孝司，脇田隆字]

（５４）HCV 粒子免疫マウスからの感染中和抗体の作製

Huh7 細胞で作製した J6/JFH-1 キメラ HCV を不活化し，5 週齢雌性 BALB/c マウスに MPL をアジュバントして隔週 4 回腹腔内投与した．抗体価が上昇したマウスにおいて，免疫 4 ヶ月後または 6 ヶ月後に脾臓を摘出して脾細胞をミエローマ細胞と融合させた．現在，モノクローナル抗体のスクリーニングを行っている．

[赤澤大輔，渋谷悠子（東レ医薬研），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）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

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ウイルス由来の core タンパク量を測定する方法により，低分子化合物ライブラリーを用いた抗 HCV 剤スクリーニングを実施中である．

[朝長充則，伊達朋子，鈴木哲朗，脇田隆字]

（５６）マンノシダーゼ阻害剤による HCV 産生調節機構の解析

各種糖鎖修飾酵素阻害剤の HCV 産生に及ぼす影響を

調べ，ER-mannosidase 阻害剤 Kifnensine 処理によって培養上清中のコア蛋白，感染性ウイルスレベルが亢進することが示された．同薬剤はゲノム複製には影響を与えず，細胞内ウイルスレベルも大きな変化は認められなかった．一方，HCV 感染関連因子の一つ SR-BI の糖鎖修飾パターンが Kifnensine によって影響を受けることを見出した．Kifnensine による HCV 産生上昇の作用機序の詳細を解析中である．

[Saeed Mohsan，加藤孝宣，鈴木哲朗，脇田隆字，渡邉治雄]

（５７）NS4A アンタゴニストの HCV 複製阻害機構

HCV レプリコン複製阻害活性を有する NS4A アンタゴニストが，感染細胞系でウイルス産生を顕著に阻害することを示した．さらに，この化合物が細胞内での NS4A と CKB との相互作用を濃度依存的に阻害することを見出した．NS4A アンタゴニストが NS3 プロテアーゼ阻害とともに複製複合体へのエネルギー供給阻害としても働く可能性が示された．

[原　弘道，相崎英樹，松田麻未，鈴木哲朗，脇田隆字]

（５８）C 型肝炎治療薬リバビリンに対する耐性 HCV の解析

HCV JFH-1 レプリコン細胞へのリバビリン（RBV）長期添加により，RBV 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 NS5A 及び NS5B 領域の点変異（V2405A，Y2471H）が JFH-1 クローンの RBV に対する耐性獲得に関与することを見出した．この変異に伴って HCV RNA 複製効率が低下することから，RBV による HCV RNA 複製阻害作用からのエスケープに寄与する可能性が示された．

[Su-Su Hmwe，村上恭子，小池和彦（東大感染症内科），鈴木哲朗，脇田隆字]

（５９）HCV プロテアーゼ阻害剤に対する耐性 HCV の解析

HCV JFH-1 の持続感染細胞に HCV NS3 プロテアーゼ阻害剤 BILN2061 を終濃度 100 nM で添加し継代培養を行った．継代時に培養上清を回収しコア蛋白を測定したところ，3 ヶ月培養によって感染細胞の薬剤耐性化が認められた．この培養上清を naïve 細胞に感染させた場合も BILN2061 に対する耐性が観察された．現在，薬剤耐性 HCV の詳細な解析を行っている．

[Su-Su Hmwe，伊達朋子，朝長充則，鈴木哲朗，脇田隆字]

（６０）HCV コア抗原検出試薬の評価

５種類の 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，この検出感度の違いにはコアの 48 番目アミノ酸が関与することが明らかとなった．さらに，現行と異なる検出用コア抗体を用いることで 2a 型コア抗原も同等に測定することが可能となることが示された．

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

（６１）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

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を行っている．また，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．

[相崎英樹，小池和彦（東大感染症内科），鈴木哲朗，脇田隆字]

（６２）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．一般のヒト，患者，医療関係者，研究者等，それぞれのヒトに必要な情報を提供するシステムを構築している．

［相崎英樹，田中純子（広島大），吉澤浩司（広島大），脇田隆字］

４．E 型肝炎ウイルス(HEV)に関する研究

（１）キメラマウスにおける E 型肝炎ウイルス(HEV)の複製

現在までサル以外に HEV 感染動物モデルは確立されておらず，HEV の増殖，感染のメカニズムには解明されていない点が多い．本研究ではヒト肝臓細胞に置換したキメラマウス（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，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．また，キメラマウスの体内で増幅された HEV をカニクイザルに接種したところ，その感染性が保たれていることが明らかになった．

［李　天成，宮村達男，脇田隆字，武田直和］

（２）培養細胞における HEV の増殖

HEV を効率よく増殖させる細胞培養系の確立はウイルスの複製，増殖，感染のメカニズムの解明には必須である．我々は遺伝子型の異なる複数の HEV 株をそれぞれ PLC/PRF/5 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 が増殖できる培養細胞系を樹立した．さらに 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を確認した．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，吉崎佐矢香，石井孝司，宮村達男，脇田隆字，武田直和］

（３）培養細胞を用いた HEV の安定性の検討

PLC/PRF/5 細胞で増殖した HEV を種々の条件下で加熱処理した後，PLC/PRF/5 細胞に接種した．経時的に培養上清中のウイルス抗原を ELISA 法で測定し，HEV の増殖の有無によりウイルスを失活させる温度を見いだした．消毒剤感受性については有効塩素濃度を 500～32ppm とした NaClO 溶液とウイルスを混合し，２０分後，チオ硫酸ナトリウムを用いて塩素を中和した後 PLC/PRF/5 細胞に接種し，経時的に培養上清中のウイルスを測定した．また，紫外線照射のウイルス感染性への影響，有機溶媒に対する抵抗性なども同じ方法を用いて検討した．本研究から得られた HEV 安定性の情報は HEV による感染症や食中毒の防止に有用である．

［李　天成，武田直和，宮村達男，脇田隆字］

（４）培養細胞で増殖した HEV を用いた不活化 E 型肝炎ワクチンの研究

上記の培養細胞を用いて増殖させた HEV が含まれる培養上清を 65℃，15 分間熱処理してウイルスを失活させた後にラットとマウスに免疫したところ，抗体が効率よく誘導された．現在，誘導された抗体の中和活性を解析すると同時にサルにおける抗体誘導および感染防御効果を検討している．

［李　天成，武田直和，宮村達男，脇田隆字］

（５）HEV の感染性 cDNA のクローニング

ブタ肝臓より得られた HEV 株 83-2 は一部の肝癌由来細胞で増殖する．本株の全長 cDNA を構築し，RNA を合成して上記細胞株に導入したが HEV 粒子の産生は見られなかった．再度クローニングを行い感染性クローンを構築している．

［石井孝司，吉崎佐矢香，李 天成，脇田隆字］

（６）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 in vitro translation 法により行った．培養細胞での増殖が確認されたクローンを用い，ORF1 の全長および C 末端側を欠損させた変異体から発現を試みたところ，全長蛋白の他に 40KDa 付近に切断断片と予想される蛋白が検出された．また N 末端側を欠損させた変異体の発現から，その切断断片は N 末端を含むことが確認された．

［吉崎佐矢香，石井孝司，李 天成，武田直和，脇田隆宇］

（７）HEV-ORF1 の切断配列の解析

HEV の ORF1 の切断配列を同定するために，大腸菌発現系を用いて切断断片の精製を試みた．ORF1 の N 末端から Prolin-rich 領域までをサブクローニングし，C 末端側に His タグを付加したコンストラクトを作成した．抗 His 抗体によって発現を確認したところ，全長蛋白の他に 35KDa 付近に切断断片と思われる蛋白が検出された．そこで His タグを用いて切断断片を精製し，N 末端アミノ酸配列解析を試みた．Protease 領域内に切断配列が同定されたが，同定部位に変異を導入し大腸菌で発現させても変異前と切断パターンは同様となり，変異の効果は観察されなかった．

［吉崎佐矢香，石井孝司，李 天成，武田直和，脇田隆宇］

（８）HEV-ORF1 の哺乳類細胞での発現

HEV の ORF1 のプロセシング解析をするために，哺乳類細胞を用いて ORF1 の発現を試みた．HEV の感染増殖が確認されている PLC/PRF/5 細胞と vaccinia/T7 hybrid system を用いて発現を行い，各領域に対する抗体を用いたウエスタンブロット法により検出を行った．N 末および C 末側を欠損させた変異体蛋白を発現させたところ，全長蛋白と切断断片と思われる様々な分子量の蛋白の発現が検出された．現在，C 末端に His タグを付加したコンストラクトを作製し，切断断片の精製を試みている．

［吉崎佐矢香，石井孝司，李 天成，武田直和，脇田隆宇］

（９）HEV 蛋白がインターフェロンシグナル応答に及ぼす作用の解析

肝炎ウイルスの主要な感染部位である肝臓は特に IFN 応答が強い場所であるため，ウイルス増殖の際にこの応答を阻害するメカニズムを有することが推定され，HAV や HCV では阻害メカニズムが明らかにされている．HEV にも阻害メカニズムがあるかどうかを検討するため，IFN-b プロモーターの下流にレポーター遺伝子を挿入したプラスミドを作成し，数種の肝癌由来細胞に導入した細胞株を作成した．本細胞株をセンダイウイルスや二本鎖 RNA で刺激して IFN 応答を誘導するとレポーター活性が上昇することを確認した．この系で HEV 蛋白の効果を解析する予定．

［石井孝司，吉崎佐矢香，李 天成，脇田隆宇］

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．また，E6APの結合に必要なPRDX1内の領域は一箇所ではない可能性が示唆された．

[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）]

（２）ヒトポリオーマウイルス BKV，JCV の糖脂質結合の比較解析

BKV，JCV，SV40 などでは，シアル酸を含むガングリオシドを感染レセプターとすることが示されているが，感染様式の違いなど不明な点が多い．そこで，BKV と

JCV のウイルス様粒子（VLP）と糖脂質との結合様式の比較解析を Sucrose floatation assay 及び表面プラズモン共鳴（SPR）法によって行った．その結果，BKV-LP は，GD1a，GD1b，GD2，GD3，GT1a，GT1b，GQ1b と，JCV-LP は，GM1，GM2，GM3，GD1a，GD1b，GD2，GD3，GT1a，GT1b，GQ1b とそれぞれ結合することが示された．

［松田麻未，李　天成，片野晴隆（感染病理部），中村智之（感染病理部），脇田隆字，鈴木哲朗］

（３）新規ヒトポリオーマウイルス MCV と糖脂質との相互作用

昨年皮膚がんの一種メルケル細胞癌から発見された新規ヒトポリオーマウイルス MCV については感染過程の分子機構は全く不明である．MCV-LP と糖脂質との結合を SPR 法で解析したところ，MCV-LP は多くのガングリオシドで相互作用を示さず，GM3，GD3 と結合することが示された．メルケル細胞癌組織では，GM3，GD3 が高い発現を示すことが報告されており，MCV 感染の組織特異性を規定する要因として，ガングリオシドとの相互作用が重要である可能性が示唆された．

［松田麻未，李　天成，片野晴隆（感染病理部），中村智之（感染病理部），脇田隆字，鈴木哲朗］

（４）メルケル細胞ポリオーマウイルス（MCV）様粒子の作製およびその応用

MCV は昨年メルケル細胞癌（MCC）からクローン化された新しいヒトポリオーマウイルスであり，MCV ゲノムが一部の癌組織に組み込まれていることから新規癌ウイルスと考えられている．しかしながら，MCC 以外の疾患との関連は不明な点が多く，また，増殖細胞系は確立されておらず，MCV の生活環，粒子構造などは全くと言ってよいほど明らかにされていない．今回われわれは組換えバキュロウイルス発現システムを用いて MCV のウイルス様粒子（VLP）の作製，精製を試みた．さらに得られた MCV VLP を用いて，MCV 抗体保有率を調査し，血清疫学解析を行った．

［李　天成，片野晴隆*，片岡紀代*，中村智之*，永田典代*，宮村達男，佐多徹太郎*，脇田隆字，鈴木哲朗（*感染病理部）］

V．その他の研究

（１）CAV apoptinとTTV VP3の機能に関する検討

Human torque teno virus (TTV)の近縁のウイルスであるchicken anemia virus(CAV)のウイルス蛋白のひとつであるapoptinのＣＡＶ複製において必須であることを明らかにした．また，蛋白としての相同性についてはそれほど高くないにもかかわらず，TTV-VP3がapoptinを欠損ＣＡＶの複製を相補した．

［Prasetyo AA（鳥取大医学部ウイルス学），釜洞俊雄（鳥取大医学部ウイルス学），黒石歩（鳥取大医学部ウイルス学），村上恭子，日野茂男（鳥取大医学部ウイルス学）］

（２）１回感染型キメラ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１回感染型キメラフラビウイルスを作製した．デング Capsid 蛋白発現細胞を用いて大量に調製したウイルスは，インターフェロンレセプターKO マウスにおいて安全性およびワクチン効果が認められた．

［鈴木亮介，Peter W. Mason（テキサス大）］

（３）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，日本国内に広く浸淫しており，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．現在，キメラ粒子の抗原性と免疫原性の解析を行っている．
［李　天成，劉　蘭軍，恒光　裕（動物衛生研），宮村達男，脇田隆字，武田直和］

（４）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淫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，高力価の免疫血清を取得し，本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），宮村達男，脇田隆字，武田直和］

（５）日本におけるブタおよび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 抗体保有率は 50%であり，これに対して６ヶ月例ブタにおける抗 PCV2 抗体保有率は 100％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 PCV2 全長配列が分離された例は少なく，イノシシから全長配列が分離された例はない．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，イノシシとブタ由来 PCV2 の違いを比較する．
［李　天成，劉　蘭軍，恒光　裕（動物衛生研），宮村達男，脇田隆字，武田直和］

＜別＞　検査業務

第１室：

検定業務

経口生ポリオワクチン　　小分製品　１件

第２室：

平成 20 年度は 7 件の行政検査依頼があり，ウイルス分離同定，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：

行政検査

HBV 及び HCV の遺伝子解析検査　１件

依頼検査

HBV 核酸定量用キットの感度及び特異性試験　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）　９件

検査業務

E 型肝炎確認検査　４件，９検体

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) 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 82: 5715-5724, 2008.

2) Akazawa D, Date T, Morikawa K, Murayama A, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Ishii K, Suzuki T, Mizokami M, Mochizuki H, Wakita T: Characterzation of infectious hepatitis C virus from liver-derived cell lines. Biochem Biophys Res Commun 377: 747-751, 2008.

3) Arita M, Wakita T, Shimizu H: Characterization of pharmacologically active compounds that inhibit poliovirus and enterovirus 71 infection. J Gen Virol 89: 2518-2530, 2008.

4) Ariumi Y, Kuroki M, Dansako H, Abe K, Ikeda M, Wakita T, Kato N: The DNA damage sensors ataxia-telangiectasia mutated kinase and checkpoint kinase 2 are required for hepatitis C virus RNA replication. J Virol 82(19): 9639-9646, 2008.

5) 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.

6) Ebihara T, Shingai M, Matsumoto M, Wakita T, Seya T: Hepatitis C virus-infected hepatocytes extrinsically modulate dendritic cell maturation to activate T cells and natural killer cells. Hepatology 48(1): 48-58, 2008.

7) 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.

8) Hansman GS, Oka T, Li TC, Nishio O, Noda M, Takeda N. Detection of human enteric viruses in Japanese clams. J Food Prot 71 (8): 1689-1695, 2008.

9) Hansman GS, Oka T, Takeda N: Sapovirus-like particles derived from polyprotein. Virus Res 137(2): 261-265, 2008.

10) Ishida S, Yoshizumi S, Miyoshi M, Ikeda T, Okui T, Katayama K, Takeda N, Oka T: Characterization of sapoviruses detected in Hokkaido, Japan. Jpn J Infect Dis 62(6): 504-506, 2008.

11) Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Ami Y, Fukushi S, Taguchi F, Tsunetsugu-Yokota Y: Vaccine-induced neutralizing antibody against SARS-CoV Spike is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. Microbiol Immunol 53: 75-82, 2009.

12) Ishii K, Murakami K, Hmwe S, Zhang B, 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 371: 446-450, 2008.

13) 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.

14) Jin H, Yamashita A, Maekawa S, Yang P, He L, Takayanagi S, Wakita T, Sakamoto N, Enomoto N,

Ito M: Griseofulvin, an oral antifungal agent, suppresses hepatitis C virus replication in vitro. Hepatol Res 38(9): 909-918, 2008.

15) Kato T, Choi YK, Elmowalid G, Sapp RK, Barth H, Furusaka A, Mishiro S, Wakita T, Krawczynski K, Liang TJ: Hepatitis C virus JFH-1 strain infection in chimpanzees is associated with low pathogenicity and emergence of an adaptive mutation. Hepatology 48: 732-740, 2008.

16) Kimura T, Imamura M, Hiraga N, Hatakeyama T, Miki D, Noguchi C, Mori N, Tsuge M, Takahashi S, Fujimoto Y, Iwao E, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Arataki K, Tateno C, Yoshizato K, Wakita T, Okamoto T, Matsuura Y, Chayama K. Establishment of an infectious genotype 1b hepatitis C virus clone in human hepatocyte chimeric mice. J Gen Virol 89(9): 2108-2113 2008.

17) Kondo Y, Machida K, Liu HM, Ueno Y, Kobayashi K, Wakita T, Shimosegawa T, Lai MM: Hepatitis C virus infection of T cells inhibits proliferation and enhances fas-mediated apoptosis by down-regulating the expression of CD44 splicing variant 6. J Infect Dis 199(5): 726-736, 2009.

18) Kuroki M, Ariumi Y, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N: Arsenic trioxide inhibits hepatitis C virus RNA replication through modulation of the glutathione redox system and oxidative stress. J Virol 83(5): S2338-2348, 2009.

19) Lan L, Gorke S, Rau SJ, Zeisel MB, Hildt E, Himmelsbach K, Carvajal-Yepes M, Huber R, Wakita T, Schmitt-Graeff A, Royer C, Blum HE, Fischer R, Baumert TF: Hepatitis C virus infection sensitizes human hepatocytes to TRAIL-induced apoptosis in a caspase 9-dependent manner. J Immunol 181(7): 4926-4935, 2008.

20) Li T-C, Suzaki Y, Ami Y, Tsunemitsu H, Miyamura T, Takeda N: Mice are not susceptible to hepatitis E virus infection. J Vet Med Sci 70: 1359-1362, 2008.

21) Liu LJ, Suzuki T, Tsunemitsu H, Kataoka M, Nagata N, Takeda N, Wakita T, Miyamura T, Li T-C: Efficient production of type 2 porcine circovirus-like particles by a recombinant baculovirus. Arch Virol 153: 2291-2295, 2008.

22) Masaki T, Suzuki R, Murakami K, Aizaki H, Ishii K, Murayama A, Date T, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Interaction of hepatitis C virus nonstructural protein 5A with core protein is critical for the production of infectious virus particles. J Virol 82: 7964-7976, 2008.

23) Mateu G, Donis RO, Wakita T, Bukh J, Grakoui A: Intragenotypic JFH1 based recombinant hepatitis C virus produces high levels of infectious particles but causes increased cell death. Virology 376(2): 397-407, 2008.

24) Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H, the Norovirus Surveillance Group of Japan: Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history. J Virol 82(22): 11247-11262, 2008.

25) 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 89: 1587-1592, 2008.

26) Nagatsuma K, Hayashi Y, Hano H, Sagara H,

Murakami K, Saito M, Masaki T, Lu T, Tanaka M, Enzan H, Aizawa Y, Tajiri H, Matsuura T: Lecithin: retinol acyltransferase protein is distributed in both hepatic stellate cells and endothelial cells of normal rodent and human liver. Liver Int 29: 47-54, 2009.

27) Nahmias Y, Goldwasser J, Casali M, van Poll D, Wakita T, Chung RT, Yarmush ML: Apolipoprotein B-dependent hepatitis C virus secretion is inhibited by the grapefruit flavonoid naringenin. Hepatology 47(5): 1437-1445, 2008.

28) Nakagawa-Okamoto R, Arita-Nishida T, Toda S, Kato H, Iwata H, Akiyama M, Nishio O, Kimura H, Noda M, Takeda N, Oka T: Detection of multiple sapovirus genotypes and genogroups in oyster-associated outbreaks. Jpn J Infect Dis 62(1): 63-66, 2009.

29) Nitahara-KasaharaY, Fukasawa M, Shinkai-Ouchi F, S, Suzuki T, Murakami K, Wakita T, Hanada K, Miyamura T, Nishijima M. ; Cellular vimentin content regulates the protein level of hepatitis C virus core protein and the hepatitis C virus production in cultured cells. Virology 383(2): 319-327, 2009.

30) Oka T, Yamamoto M, Miyashita K, Ogawa S, Katayama K, Wakita T, Takeda N: Self-assembly of sapovirus recombinant virus-like particles from polyprotein in mammalian cells. Microbiol Immunol 53(1): 49-52, 2009

31) Okamoto K, Mori Y, Komoda Y, Okamoto T, Okochi M, Takeda M, Suzuki T, Moriichi K, Matsuura Y: Intramembrane processing by signal peptide peptidase regulates the membrane localization of hepatitis C virus core protein and viral propagation. J Virol 82: 8349-8361, 2008.

32) 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 13: 929-937, 2008.

33) Prasetyo AA, Kamahora T, Kuroishi A, Murakami K, Hino S: Replication of chicken anemia virus (CAV) requires apoptin and is complemented by VP3 of human torque teno virus (TTV). Virology 365(1): 85-92, 2009.

34) Shimasaki N, Kiyohara T, Totsuka A, Nojima K, Okada Y, Yamaguchi K, Kajioka J, Wakita T, Yoneyama T: Inactivation of hepatitis A virus by heat and high hydrostatic pressure: variation among laboratory strains. Vox Sang 96(1): 14-19, 2009.

35) Shinkawa N, Noda M, Yoshizumi S, Tokutake Y, Shiraishi T, Arita-Nishida T, Nishio O, Oka T, Hansman GS, Takeda N, Kimura H: Molecular epidemiology of noroviruses detected in food handler-associated outbreaks of gastroenteritis in Japan. Intervirology 51(6): 422-426, 2008.

36) Shirato H, Ogawa S, Ito H, Sato T, Kameyama A, Narimatsu H, Xiaofan Z, Miyamura T, Wakita T, Ishii K, Takeda N: Noroviruses distinguish between type 1 and type 2 histo-blood group antigens for binding. J Virol 82: 10756-10767, 2008.

37) Sir D, Chen WL, Choi J, Wakita T, Yen TS, Ou JH: Induction of incomplete autophagic response by hepatitis C virus via the unfolded protein response. Hepatology 48(4): 1054-1061, 2008.

38) Someya Y, Takeda N, Wakita T: Saturation mutagenesis reveals that Glu54 of norovirus 3C-like protease is not essential for the proteolytic activity. J Biochem 144(6), 771-780, 2008.

39) Sugitani M, Tamura A, Shimizu YK, Sheikh A, Kinukawa N, Shimizu K, Moriyama M, Komiyama K, Li T-C, Takeda N, Arakawa Y, Suzuki K, Ishaque SM, Roy PK, Raihan A Hasan M: Detection of hepatitis E virus RNA and genotype in Bangladesh. J Gastroenterol Hepatol 24: 599-604, 2008.

40) Suzuki R, Fayzulin R, Frolov I, Mason PW: Identification of mutated cyclization sequences that permit efficient replication of West Nile virus genomes: use in safer propagation of a novel vaccine candidate. J Virol 82: 6942-6951, 2008.

41) Suzuki R, Moriishi K, Fukuda K, Shirakura M, Ishii K, Shoji I, Wakita T, Miyamura T, Matsuura Y, Suzuki T: Proteasomal turnover of hepatitis C virus core protein is regulated by two distinct mechanisms: ubiquitin-dependent and ubiquitin-independent but PA28gamma-dependent. J Virol 83: 2389-2392, 2009.

42) Suzuki R, Winkelmann ER, Mason PW: Construction and characterization of a single-cycle chimeric flavivirus vaccine candidate that protects mice against lethal challenge with dengue virus type 2. J Virol 83: 1870-1880, 2009

43) Tajiri-Utagawa E, Hara M, Takahashi K, Watanabe M, Wakita T: Development of a rapid high-throughput method for high-resolution melting analysis for routine detection and genotyping of noroviruses. J Clin Microbiol. 47(2): 435-440, 2009.

44) Wakatsuki K, Kawamoto D, Hiwaki H, Watanabe K, Yoshida H: Identification and characterization of two strains of human parechovirus 4 isolated from two clinical cases in Fukuoka City, Japan. J Clin Microbiol 46: 3144-3146, 2008.

45) Wakita T. Isolation of JFH-1 strain and development of an HCV infection system. In: Hepatitis C Methods and Protocols Second Edition (ed. by Hengli Tan). Methods Mol Biol, Human Press, 510: 305-327. 2009.

46) Wu FT, Oka T, Takeda N, Katayama K, Hansman GS, Muo CH, Liang SY, Hung CH, Dah-Shyong Jiang D, Hsin Chang J, Yang JY, Wu HS, Yang CF: Acute gastroenteritis caused by GI/2 sapovirus, Taiwan, 2007. Emerg Infect Dis 14(7): 1169-1171, 2008.

47) Yamamoto H, Li T-C, 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. Experimental Animals 57: 367-376, 2008.

48) Yao X, Han Q, Song J, Liang C, Wakita T, Yang R, Chen X: Baculovirus mediated production of infectious hepatitis C virus in human hepatoma cells stably expressing t7 RNA polymerase. Mol Biotechnol 40(2): 186-194, 2008.

2. 和文発表

1) 吉田徹也, 粕尾しず子, 畔上由佳, 宮澤衣鶴, 小林正人, 白石 崇, 岡 智一郎, 片山和彦, 武田直和. 長野県内で発生したサポウイルスによる集団感染性胃腸炎の 2 事例 IASR Vol. 29 p. 129-132: 2008.5.

2) 大塚有加, 近藤玲子, 市川高子, 山下育孝, 大瀬戸光明, 関谷安正, 上田哲郎, 芝 信明, 岡 智一郎, 片山和彦, 武田直和. 結婚式場におけるサポウイルスを原因とする食中毒事例-愛媛県, IASR Vol. 29 p. 198-200: 2008.7.

3) 原 正幸，宇田川悦子．Real time PCR を用いたノロウイルスの遺伝子定量比較．感染症学雑誌 vol.82． No.4，2008.7.

4) 北島正章，遠矢幸伸，松原康一，原本英司，宇田川悦子，片山浩之，大垣眞一郎．新たな代替指標としてマウス分離株を用いた水道水中のノロウイルスの塩素耐性の解明．環境工学研究論文集．45：361-370，2008.

5) 染谷雄一．ノロウイルス感染症，産業保険ハンドブック VI 職場の感染症対策 pp．287-290 財団法人 産業科学振興財団 2008.

6) 白土東子，武田直和，石井孝司：ノロウイルスと血液型抗原との結合 遺伝子医学MOCK 11 2008：192-198.

7) 片山和彦．ノロウイルス感染症を予防するには 2008 婦人の友 1267 2008 年.

8) 片山和彦．ウイルス感染症-最新の動向 ノロウイルス感染症，臨床検査 53，2009.1.

9) 片山和彦．特集＝感染症をめぐるトピックス ノロウイルス感染症の対策と治療，MEDICAMENT NEWS 1969 号，2009.

10) 片山和彦，本村和壽，夕＆Eye，産経新聞夕刊，2008.9.16.

11) 片山和彦．感染を防げ！！ノロウイルス，産経新聞日刊，2008.11.5.

12) 清水博之：不活化ポリオワクチン開発の現状．臨床と微生物 36：35-40，2009.

13) 清水博之：東アジアにおけるエンテロウイルス71型感染症の流行．病原微生物検出情報 30:9-10，2009.

14) 吉田 弘，清水博之：エンテロウイルスの実験室診断の現状と問題点．病原微生物検出情報 30：10-12，2009.

15) 西村順裕，Rifqiyah Nur Umami，吉田 弘，清水博之：CODEHOP PCR によるエンテロウイルス同定．病原微生物検出情報 30：12-13，2009.

16) 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.

17) 清水博之：急性灰白髄炎．綜合臨床 57：335-336,2008.

18) 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.

19) 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 ：2007 年度調査報告．日本医師会雑誌 137：1486-1491，2008.

20) 清水博之，武田直和：不活化ポリオワクチン導入の必要性と問題点．日本臨床 66:1950-1955，2008.

21) 清水博之：急性灰白髄炎（ポリオ）．綜合臨床 57(増刊号):335-336，2008.

22) 清水博之：ポリオワクチン．VIRUS REPORT 5：56-64，2008.

23) 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．臨床とウイルス 26：149-158，2008.

24) 清水博之：ポリオ・コクサッキー・エコーウイルス．バイオセーフティの辞典，263-265，みみずく舎，2008.

25) 政木隆博，鈴木哲朗：HCV の分子生物学．肝癌．日本臨床 67（suppl.3)：134-137，2009.

26) 加藤孝宣，高橋和明：Overview：E 型ウイルス性肝炎．メディカルテクノロジー 26：971-974，2009.

27) 加藤孝宣，三代俊治：わが国のA型・E型肝炎の発症率と抗体保有率はどれくらいか？ 肝臓病診療 Q&A 5-9，中外医学社 2009.

28) 鈴木哲朗，政木隆博，相崎英樹：C 型肝炎ウイルスの感染粒子形成機構．ウイルス 58：199-206，2008.

29) 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.

30) 石井孝司，李 天成，武田直和 E 型肝炎 食品

由来感染症と食品微生物　中央法規出版　印刷中 (2009)

31) 清原知子, 米山徹夫　A型肝炎ウイルス食中毒とは　食品安全の事典（日本食品衛生学会編集）: 171-174, 2009.

32) 清原知子, 石井孝司, 脇田隆字: A 型肝炎. 臨床と微生物 35: 645-650, 2008.

33) 李 天成, 石井孝司, 武田直和: E 型肝炎と豚肉, 鹿肉, 猪肉の安全性.　臨床とウイルス　36: 298-304, 2008.

34) 石井孝司 遺伝子組換え生ワクチン. 日本臨床 66: 1903-1907, 2008.

II. 学 会 発 表

国際学会

1) Oka T, Iwakiri A, Yamamoto S,Katayama K, Wakita T, Takeda N: Sequential analysis of fecal sapovirus shedding, 第 14 回国際ウイルス学会, トルコ, 2008.8.10-15.

2) Oka T, Yamamoto M, Miyashita K, Katayama K, Wakita T, and Takeda N. Role of amino acid residues located upstream from cleavage site on sapovirus, ORF1 polyprotein processing. ibid.

3) Katayama K, Hansman GS, Oka T, Suzuki Y, Wakita T, Takeda N: The newly identified human Norovirus strain HK299 may be recombinant between genogroup. ibid.

4) Oka T, Yokoyama M, Katayama K, Yamamoto M, Miyashita K, Ogawa S, Motomura K, Tsunemitsu H, Wakita T, Sato H, Takeda N: Substrate specificities of calicivirus-encoded 3C-like proteases. The Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases, Viet Nam, 2008.10.6.

5) Arita M, Wakita T, Shimizu H: A RAF-1 inhibitor GW5074 inhibits poliovirus and enterovirus 71 replication independently of the RAF-1 signaling pathway. Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses (EUROPIC 2008), Sitges, Spain. 2008.5.

6) Shimizu H: Mouse and Non-human Primate Models for EV71 disease. 13th International Congress on Infectious Diseases, Kuala Lumpur, Malaysia. 2008.6.

7) Ong K, Shimizu H, Nishimura Y, Arita M, Shamala D, Cardosa M, Wong K: Phenotypic and genotypic characterization of two mouse adapted enterovirus 71 strains that showed differences in murine CNS infection. 13th International Congress on Infectious Diseases, Kuala Lumpur, Malaysia, 2008.6.

8) Shimizu H: Molecular basis of the pathogenicity of enterovirus 71 in experimental animal models. 20th Anniversary Symposium of Department of Pediatric National Cheng-Kung Hospital, Tainan, Taiwan. 2008.7.

9) Umami RN, Dhenni R, Jajuli A, Shimizu H, Utama A: Detection and identification of human enteroviruses among healthy children in Antajaya, Bogor. Bogor, Indonesia. The 4th Indonesian Biotechnology Conference, 2008.8.

10) Kelly H, Shimizu H, Nishimura Y, Thorley B: Oral poliovirus vaccine causes transverse myelitis. Public Health Association of Australia conference, Brisbane, Australia, 2008.9.

11) Shimizu H: Current Knowledge on the Molecular Pathogenesis of Enterovirus 71. Beijing International Symposium on Hand, foot and Mouse Disease, Beijing, China, 2009.1.

12) Shoji I, Osaki M, Fukuda K, Murakami K, Hotta H, Suzuki T, Wakita T, Miyamura T: Molecular mechanism of E6AP-mediated regulation of

hepatitis C virus production. Keystone Symposia. Vancouver, Canada, 2008.4.

13) Masaki T, Suzuki R, Murakami K, Aizaki H, Ishii K, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: The C-terminal serine cluster of NS5A is critical for the production of hepatitis C virus particles. ibid.

14) Murakami K, Abe K, Shoji I, Takamiya S, Kimura T, Ishii K, Suzuki R, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T: Identification of hnRNPH1 as a binding partner of hepatitis C virus core protein and the IRES IIId region of viral RNA. IUMS2008. Istanbul, Turkey 2008.08.10-15.

15) Prasetyo AA, Kamahora T, Murakami K, Hino S: Requirement of Apoptin for CAV replication. ibid.

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

17) Suzuki R, Fayzulin R, Mason PW: Identification of mutated cyclization sequences that permit efficient replication of West Nile virus genomes.ibid.

18) Li T-C, Liu LJ, Suzuki T, Tsunemitsu H, Kataoka M, Ngata N, Takeda N, Wakita T, Miyamura T: Efficient production of type 2 porcine circovirus-like particles by a recombinant baculovirus. ibid.

19) Masaki T, Suzuki R, Murakami K, Aizaki H, Ishii K, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: The C-terminal serine cluster of NS5A is a determinant of NS5A-core protein interaction and HCV production. 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio, USA, 2008.10.5-9.

20) Hamamoto I, Murakami K, Suzuki T, Taya K, Okabe N, Wakita T, Shoji I: ERGIC-53 regulates the HCV RNA replication through interaction with the viral NS3 protein. ibid

21) Abe K, Murakami K, Takamiya S, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Wakita T, Suzuki T: Identification of hnRNPH1 and hnRNPF as binding protein partners for HCV core protein. ibid.

22) Shoji I, Osaki M, Murakami K, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T, Hotta H: Ubiquitylation signal of hepatitis C virus core protein. ibid.

23) Hara H, Aizaki H, Matsuda M, Murakami K, Shoji I, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Involvement of creatine kinase B in hepatitis C virus genome replication through interaction with the viral NS4A protein. ibid.

24) Takahashi H, Omi N, Akazawa D, Nakamura N, Mochizaki H, Suzuki T, Wakita T: Biological properties of purified recombinant HCV particles with the epitope-tagged envelope. ibid.

25) Uenishi R, Hakamata W, Nohtomi K, Liao H, Hase S, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y: Identification of novel small molecule HCV ently inhibitor that acts through CD81. ibid.

26) Fukasawa M, Nakamura S, Nitahara-Kasahara Y, Shimotohno K, Suzuki T, Wakita T, Nishijima M, Mashino T: Anti-HCV activity of novel Fullerene Derivatives. ibid.

27) Watanabe N, Murayama A, Akazawa D, Tomonaga M, Date T, Kato T Suzuki T, Wakita T: Purification and structural analysis of HCV E2 protein. ibid.

28) Abe K, Murakami K, Takamiya S, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Wakita T, Syoji I: Identification of hnRNPH1 and hnRNPF as binding partners for HCV core protein. ibid.

29) Murayama A, Date T, Akazawa D, Kato T, Suzuki T, Nomoto A, Wakita T: A single amino acid mutation in core region is important for efficient infectious virus particle production in genotype 2b/2a chimeric HCV. ibid.

30) Suzuki R, Winkelmann E and Mason PW : Construction and characterization of a single-cycle chimeric flavivirus that protects mice against lethal challenge with dengue virus type 2. ibid.

31) Ishii K, Murakami K, Hmwe S, Li J, Suzuki R, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Trans-encapsidation of HCV subgenomic replicon RNA with viral structure proteins. ibid.

32) Omi N, Akazawa D, Takahashi H, Nakamura N, Morikawa K, Date T, Wakita T: Analysis of immunogenicity of cell culture-grown hepatitis C virus in the mouse. 2nd Vaccine Congress, Boston, USA 2008.12.7-9.

33) Suzuki T: Interaction of hepatitis C virus nonstructural protein 5A with core protein is critical for the production of infectious virus particles. The 50th Anniversary Meeting of the International Association for the Study of the Liver. San Francisco, USA 2008.10.31-11.4.

34) Koike K, Tsutsumi T, Matsuda M, Hideki H, Moriya K, Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Miyamura T, Suzuki T: Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of mitochondrial protein chaperone, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein. ibid.

35) Braconi C, Meng F, Huang N, Suzuki T, Taccioli C, Crane C, Patel T: Hepatitis C virus proteins can modulate microRNA expression and chemotherapeutic responses in hepatocellular carcinoma (HCC). ibid.

36) Mason PW, Widman D, Ishikawa T, Bourne N, Suzuki R, Winkelmann E, Frolov I, Carrion R, Konishi E: Engineering third-generation vaccines for West Nile encephalitis, Japanese encephalitis, and dengue. Pan-American Dengue Research Network Meeting, Recife, Brazil, 2008.7.

37) Ishii K: Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. Novel Strategies for Viral Infection Control. Taipei, Taiwan, 2008.11.1.

38) Li TC, Ishii K, Takeda N: Challenges in creating a vaccine to prevent hepatitis E. The Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases, Hanoi, Viet Nam, 2008.10.6.

39) Ishii K, Hasegawa H, Nagata Y, Ami Y, Fukushi S, Taguchi F, Tsunetsugu-Yokota Y: SARS-CoV Spike-reactive neutralizing antibody is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. XIth International Symposium on Nidoviruses, Oxford, UK, 2008.6.22-27.

40) Ami Y, Ishii K, Tsunetsugu-Yokota Y, Nagata Y, Hasegawa H, Taguchi F: Fatal exacerbated pneumonia of mice induced by co-infection of respiratory bacterium and SARS-CoV.ibid.

41) Li T-C, Miyamura T, Wakita T, Takeda N: Characterization of recombinant virus-like particles of genotype 3 hepatitis E viruses. The 7th Japan-China International Conference of Virology, Tokyo, Japan, 2008.6.1-3.

42) Miyamura T, Li T-C, 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.

43) T Wakita: HCV culture system and antiviral development. 21st International Conference on Antiviral Research (ICAR), Montreal, Quebec, Canada, 2008.4.

44) T Wakita: HCV replication and virus particle formation. The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity, The Hyogo Prefecture Awaji Yumebutai International Conference Center, 2008.9.

45) T Wakita: Development of HCV culture system, Workshop/Hepatitis, The 7th Japan-China International Conference of Virology, Tokyo, Japan, 2008.6.

46) T Wakita: Hepatitis C virus replication and virus particle formation: Symposium: Emerging Viruses and the Control of Viruses, XIVth International Congress of Virology, IUMS, Istanbul, Turkey, 2008.8.15.

47) M Saeed, T Kato, T Wakita: In vitro replication efficiencies of hepatitis C virus JFH-1 strain with mutations emerged in chimpanzee, The Hyogo Prefecture Awaji Yumebutai International Conference Center, 2008.9.7-11.

48) Munakata T, Wakita T, Nomoto A: Induction ofhepatic TLR3 by E2F1during hepatitis C virus infection. 15th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. San Antonio TX, USA, 2008.10. 5-9.

49) Zeisel MB, Hoffmann M, Jilg N, Stoll-Keller F, Wakita T, Barth H, Henneke P, Baumert TF: Sensing of hepatitis C virus core by toll-like receptor 2 is shielded in enveloped viral paricles. ibid.

50) Kato N, Mori K, Abe K, Dansako H, Ariumi Y, Wakita T, Ikeda M, A new human hepatoma cell line enabling persistent reproduction of HCV life cycle and assay for anti-HCV reagents. ibid.

51) Akazawa D, Morikawa K, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Mochizuki H, Date T, Wakita T: Production and purification of HCV particles from serum-free culture. ibid.

52) Machida R, Tong S, Heintges T, Wakita T, Wands JR : Interruption of hepatitis C virus particle formation by an intracellular antibody targeting the viral core protein. ibid.

53) Ariumi Y, Kuroki M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N: The vacuolar protein sorting pathway is essential for HCV budding. ibid.

54) Abe K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N: Cyclophilins A and B mediate the anti-HCV activity of cyclosporine A in 1b/2a chimeric replicon-harboring cells. ibid.

55) Kuroki M, Ariumi Y, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N: Arsenic trioxide inhibits HCV RNA replication through modulation of oxidative stress. ibid.

56) Murayama A, Date T, Akazawa D, Kato T, Suzuki T, Nomoto A, Wakita T: A single amino acid mutation in core region is important for efficient infectious virus particle production in genotype 2b/2a chimeric HCV. ibid.

57) Seronello S, Ito C, Wakita T, Choi J: Ethanol enhances hepatitis c virus replication in human hepatoma cells supporting infectious virus production. ibid.

58) Sir D, Chen W-L, Wakita T, Yen TSB, Ou J-HJ: Perturbation of autophagic response by hepatitis c virus. ibid.

59) K Morikawa, D Akazawa, Imawari M, T Wakita: The structural analysis of highly purified infectious HCV particles produced in cultured

cells. The 59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. San Francisco, CA, USA, 10.31-11.4, 2008.

60) Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Tasaka M, Nishimura-Sakurai Y, Suda G, Onuki Y, Yamamoto M, Wakita T, Watanabe M : Establishment and genetic analysis of cytopathogenic HCV-JFH1 mutants by plaque-forming assay. ibid.

61) Kato T, Choi Y, Elmowalid G, Sapp RK, Barth H, T Wakita, Krawczynski K, Liang TJ: Hepatitis C virus JFH-1 strain infection in chimpanzee is associated with low pathogenicity and emergence of an adaptive mutation. ibid.

62) Machida R, Tong S, Heintges T, Wakita T, Wands JR, Li J: Interruption of hepatitis C virus particle formation by an intracellular antibody targeting the viral core protein. ibid.

2. 国内学会

1) 原田誠也, 八尋俊輔, 西村浩一, 松尾 繁, 岡田峰幸, 岡智一郎, 武田直和: PCR 法による集団及び散発下痢症事例の起因ウイルス調査. 公衆衛生獣医師協議会, 東京, 2008.9.5.

2) 岡智一郎: 第 14 回国際ウイルス学会の報告. ウイルス性下痢症研究会第 20 回学術集会, 岡山, 2008.10.25.

3) 赤澤大輔, 森川賢一, 尾見法昭, 高橋 仁, 中村紀子, 深澤秀輔, 伊達朋子, 加藤孝宣, 石井孝司, 鈴木哲朗, 脇田隆字: 無血清培養による HCV 粒子の作製と精製工程の検討. 第 56 回日本ウイルス学会, 岡山, 2008.10.26-28.

4) 阿部健一, 池田正徳, 有海康雄, 團迫浩方, 脇田隆字, 加藤宜之, Cyclosporine A に対し抵抗性を示す 1b/2a キメラレプリコン, 同上.

5) 有海康雄, 黒木美沙緒, 團迫浩方, 阿部健一, 池田正徳, 脇田隆字, 加藤宜之, DNA 損傷センサー ATM および Chk2 と HCV NS5B との相互作用, 同上.

6) 有田峰太郎, 脇田隆字, 清水博之: GW5074のエンテロウイルス複製阻害機構の関する解析. 同上.

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

8) 石橋真理子, 脇田隆字, 江角眞理子, C 型肝炎ウイルス量の多い肝組織に発現亢進する分子 OASL はウイルス制御分子か？, 同上.

9) 伊藤昌彦, 持田恵子, 村上恭子, 鈴木哲朗, 山口一成, 水落利明: HCV慢性感染患者におけるB細胞リンパ腫発症機序の解明: 末梢血B細胞でのHCV感染増殖およびAID (activation-induced cytidine deaminase) の発現上昇. 同上.

10) 飯塚節子, 岡智一郎, 片山和彦, 武田直和, 野田衛: サポウイルスとノロウイルスが検出された食中毒事例. 同上.

11) 岩切 章, 山本正悟, 岡智一郎, 片山和彦, 武田直和: リアルタイム RT-PCR 法を用いた急性胃腸炎患者糞便中のサポウイルス排泄期間の解析. 同上.

12) 岩崎優紀, 森健一, 槇昇, 石井孝司, 飯島沙幸, 吉田友教, 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 長期持続感染サルのウイルスゲノム解析. 同上.

13) 宇田川悦子, 高橋邦明, 原 正幸: HRM 分析法によるノロウイルス遺伝子解析法の検討. 同上.

14) 小澤一弘, 岡智一郎, 片山和彦, 本村和嗣, 中村浩美, 守 宏美. 佐藤裕徳, 武田直和: 調理従事者を対象としたノロウイルスの網羅的検出調査. 同上.

15) 植木 洋, 庄司美加, 山本美和子, 阿部勝彦, 伊藤文明, 池田義文, 西尾 治, 岡智一郎, 片山和彦, 武田直和, 野田 衛: カキを用いたサポウイ

ルスの環境調査. 同上.

16) 上西理恵, 廖華南, 袴田航, 納富香子, 長谷彩希, 赤澤大輔, 鈴木哲朗, 脇田隆字, 武部豊: HCV JFH-1 infectivity assay を用いた低分子 HCV 阻害剤の探索とその評価, 同上.

17) 岡智一郎, 横山 勝, 片山和彦, 恒光 裕, 山本真民, 宮下佳奈, 本村和嗣, 守 宏美, 中村浩美, 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に影響する切断部位上流アミノ酸残基の解析. 同上.

18) 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キメラ HCV ウイルス株および JFH1 株の免疫の検討. 同上.

19) 片山和彦: ノロウイルスのリバースジェネティックスシステムとその展望. 同上.

20) 片山和彦, 岡智一郎, 脇田隆字, 武田直和: リバースジェネティックスを利用したノロウイルスの病原性発現機構の解析. 同上.

21) 加藤宜之, 森京子, 阿部健一, 團迫浩方, 有海康雄, 脇田隆字, 池田正徳, 新しいヒト肝癌細胞株 Li23 を用いた HCV 生活環再現システム, 同上.

22) 北島正章, 岡智一郎, 片山和彦, 原本英司, 片山浩之, 武田直和, 大垣眞一郎: 河川中のノロウイルスを指標にした地域流行株の把握. 同上.

23) 黒木美沙緒, 有海康雄, 池田正徳, 團迫浩方, 脇田隆字, 加藤宜之: 亜ヒ酸は酸化ストレスを介して HCV RNA の複製を顕著に阻害する, 同上.

24) 白土東子, 熊谷安希子, 伊藤浩美, 佐藤 隆, 亀山昭彦, 成松 久, 脇田隆字, 石井孝司, 武田直和: ノロウイルスによる血液型抗原の識別. 同上.

25) 下池貴志, SA Mckenna, DA Lindhout, 脇田隆字, JD. Puglisi: HCV IRES 依存的翻訳は eIF2 のリン酸化耐性である, 同上.

26) 鈴木亮介, Evandro Winkelmann, Peter Mason: キメラシュードフラビウイルスを用いたデングワクチンの構築とその評価. 同上.

27) 染谷雄一, 武田直和, 脇田隆字: ノロウイルス3C様プロテアーゼGlu54残基変異の基質認識への影響. 同上.

28) 高木弘隆, 遠矢幸伸, 片山和彦, 岡智一郎, 武田直和, 杉山和良: 国内で分離されたマウスノロウイルスの安定性および消毒剤に対する感受性の検討. 同上.

29) 武部豊, 上西理恵, 納富香子, 廖 華南, 長谷彩希, 鈴木哲朗, 脇田隆字, 袴田 航: CD81 を標的とする新しいクラスの低分子性 HCV エントリー阻害剤の同定, 同上.

30) 浜本いつき, 村上恭子, 鈴木哲郎, 多屋馨子, 岡部信彦, 脇田隆字, 勝二郁夫: C型肝炎ウイルス複製を制御する宿主因子ERGIC-53の機能. 同上.

31) 原田誠也, 岡田峰幸, 岡智一郎, 八尋俊輔, 西村浩一, 松尾 繁, 中島龍一, 篠崎邦子, 片山和彦, 武田直和: サポウイルスによる散発性下痢症の地域流行-熊本-. 同上.

32) 原 弘道, 相崎英樹, 松田麻未, 松浦善治, 宮村達男, 脇田隆字, 鈴木哲朗: creatine kinase B による NS4A を介する HCV RNA 複製調節の解明. 同上.

33) 政木隆博, 鈴木亮介, 村上恭子, 相崎英樹, 石井孝司, 村山麻子, 伊達朋子, 松浦善治, 宮村達男, 脇田隆字, 鈴木哲朗: HCV 粒子形成における NS5A 蛋白の役割. 同上.

34) 町田早苗, 西村順裕, 吉崎佐矢香, 石井孝司, 清水博之: カンボジア糞便検体中ヒトパレコウイルス検出とその分子疫学. 同上.

35) 棟方 翼, 脇田隆字, 野本明男: TLR3 は C 型肝炎ウイルス感染を抑制する, 同上.

36) 村上恭子, 阿部克俊, 高宮智史, 木村敬郎, 鈴木哲朗, 宮村達男, 小池和彦, 脇田隆字, 勝二郁夫: HCVコア蛋白に結合する新規宿主因子hnRNPH1/H2のHCV生活環における役割. 同上.

37) 村上裕子, 鈴木哲朗, 脇田隆字, 深澤秀輔: 細胞感染系を用いたスクリーニングにより見いだされた新規標的を持つ抗 HCV 物質の作用機構解析.

同上.

38) 本村和嗣, 横山 勝, 岡智一郎, 中村浩美, 守 宏美, Hansman Grant, 片山和彦, 田中智之, 真崎宏則, 星野和彦, 蒔本 恭, 秋山美穂, 木村博一, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳: ノロウイルスの免疫淘汰と周期的流行の分子機序. 同上.

39) 森 嘉生, 山下哲生, 嶋 亮一, 森石恆司, 李 天成, 武田直和, 松浦善治: E 型肝炎ウイルス様粒子の形成に重要なアミノ酸の同定と細胞吸着阻害モノクローナル抗体の作製. 同上.

40) 山下篤哉, 松本武久, 高谷大輔, 上條加寿恵, 前川伸哉, 雨宮史武, 坂本直哉, 脇田隆字, 梅山秀明, 横山茂之, 榎本信幸, 伊藤正彦: In silico screening による HCV NS3 プロテアーゼ阻害化合物の検索, 同上. ワークショップ８ ウイルス感染症の診断と治療

41) 山下哲生, 宮崎直幸, 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: 分析能 3.5A の 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.

42) 山吉誠也, 山下康子, 花方信孝, 箕輪貴司, 竹村太郎, 清水博之, 小池 智: エンテロウイルス 71 の感染性決定分子の同定. 同上.

43) 横山 勝, 岡智一郎, 片山和彦, 山本真民, 宮下佳奈, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳: サポウイルスプロテアーゼの基質認識に関わるアミノ酸残基の解析. 同上.

44) 吉田徹也, 粕尾しず子, 畔上由佳, 内山友里恵, 薩摩林一代, 白石 崇, 岡智一郎, 片山和彦, 武田直和: 長野県内で発生したサポウイルスによる集団感染性胃腸炎の２事例. 同上.

45) 李　天成, 恒光　裕, 宮村達男, 脇田隆字, 武田直和: 培養細胞における E 型肝炎ウイルス(HEV)の増殖. 同上.

46) 渡邉則幸, 村山麻子, 赤澤大輔, 朝長充則, 伊達朋子, 加藤孝宣, 鈴木哲朗, 脇田隆字: HCV E2 タンパク質の精製および機能, 構造の解析. 同上.

47) 脇田隆字: ウイルス培養系を用いた C 型肝炎ウイルス研究, 同上, シンポジウム４　C 型肝炎

48) 相崎英樹, 山本真民, 原弘道, 森川賢一, 谷 英樹, 松浦善治, 斎藤恭子, 深澤征義, 花田賢太郎, 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における役割, 第 31 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2008.12.9-12.

49) 石橋真理子, 脇田隆字, 清水洋子, 江角眞理子: 肝臓類洞内皮 C 型レクチン L-SIGN の C 型肝炎ウイルス受容体機能の解析. 同上.

50) 岡智一郎, 横山 勝, 片山和彦, 恒光 裕, 山本真民, 宮下佳奈, 本村和嗣, 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活性発現に重要なアミノ酸残基の解析. 同上.

51) 片山和彦, 岡智一郎, 脇田隆字, 武田直和: ノロウイルスプロテアーゼを利用したノロウイルスリバースジェネティックスシステムの制御. 同上.

52) 勝二郁夫, 大崎一直, 村上恭子, 鈴木哲朗, 宮村達男, 脇田隆字, 堀田 博: C型肝炎ウイルスコア蛋白質のユビキチン化シグナル. 同上.

53) 高橋 仁, 尾見法昭, 赤澤大輔, 中村紀子, 望月英典, 鈴木哲朗, 脇田隆字: エピトープタグを付加した組換え HCV 粒子の効率的な産生と性状解析. 同上.

54) 村上恭子, 阿部克俊, 高宮智史, 木村敬郎, 鈴木哲朗, 宮村達男, 小池和彦, 脇田隆字, 勝二郁夫: HCVコア蛋白に結合する新規宿主因子hnRNPH1/H2のHCV生活環における役割. 第31回日本分子生物学会年会, 神戸, 2008.12.9-12.

55) 村上耕介, 鈴木さやか, 岡島徹也, 灘野大太, 岡智一郎, 片山和彦, 武田直和, 松田 幹: ノロウイルス・ウイルス様粒子 (VLPs) のヒト腸上皮様 Caco-2 細胞への結合様式とウシ初乳の VLPs 結合抑制効果. 同上.

56) 横山 勝, 岡智一郎, 片山和彦, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳: カリシウイルスプロテアーゼ分子モデルによる基質認識の解析. 同上

57) 原田誠也, 八尋俊輔, 西村浩一, 松尾 繁, 岡田

峰幸，岡智一郎，武田直和：PCR 法による集団及び散発下痢症事例の起因ウイルス調査．日本獣医会学会年次大会（日本産業動物獣医学会，日本小動物獣医学会医及び日本公衆衛生学会合同年次大会），岩手，2009．1．22-24.

58）北島正章，原本英司，岡智一郎，片山和彦，武田直和，片山浩之，大垣眞一郎：多摩川河川水から検出されたノロウイルスの遺伝子解析．第 43 回日本水環境学会年会．山口，2009.3.16-18.

59）岡智一郎，高木弘隆，遠矢幸伸，片山和彦，脇田隆字，武田直和：BRET を用いたネコカリシウイルスプロテアーゼ活性検出系の構築．日本薬学会第 129 年会，京都，2009.3.26-28.

60）染谷雄一，武田直和，脇田隆字：ノロウイルスプロテアーゼGlu54残基の役割．同上.

61）白土東子，熊谷安希子，伊藤浩美，佐藤 隆，亀山昭彦，成松 久，成松幾世， 脇田隆字，石井孝司，武田直和：ノロウイルスの結合する糖鎖構造．第 12 回 日本神経ウイルス研究会学術集会，鹿児島，2008.7.17-19.

62）白土東子，熊谷安希子，伊藤浩美，佐藤 隆，亀山昭彦，成松 久，脇田隆字，石井孝司，武田直和：ノロウイルスによる血液型抗原タイプ 1，2 構造の識別．第 28 回 日本糖質学会年会，つくば，2008.8.18-20.

63）片山和彦：ノロウイルスの感染症の基礎．第 82 回日本感染症学会総会 シンポジウム，ノロウイルス感染症の最前線，島根，2008.4.

64）山吉誠也，山下康子，花方信孝，箕輪貴司，竹村太郎，清水博之，小池 智：エンテロウイルス 71 の感染受容体の同定．第 12 回神経ウイルス研究会，鹿児島．2008.7.

65）福元伸一，長岡健太郎，中野浩輔，須甲憲明，原田眞雄，平賀博明，加藤直子，西村順裕，清水博之，長谷川秀樹：コクサッキーウイルス A-16 による手足口病に合併した間質性肺炎の 1 例．第 96 回日本呼吸器学会北海道地方会，札幌市，2008.9.20.

66）實藤雅文，楠原浩一，後藤多奉，吉良龍太郎，清水博之，鳥巣浩幸，原 寿郎：コクサッキーウイルス A16 の手足口病に伴って菱脳炎を呈した一例．第 13 回日本神経感染症学会総会，東京都，2008.10.10-11.

67）加藤孝宣，三代俊治，脇田隆字：HCV JFH-1 株のチンパンジーへの感染実験：in vivo 適応変異の機能的解析．第 44 回日本肝臓学会総会，愛媛，2008.6.5-6.

68）政木隆博，鈴木亮介，村上恭子，相崎英樹，石井孝司，宮村達男，脇田隆字，鈴木哲朗：HCVの粒子形成におけるNS5A蛋白の役割．同上.

69）森川賢一,脇田隆字:培養細胞で作製した感染性 C 型肝炎ウイルス粒子の免疫原性の解析およびワクチン応用への可能性．同上.ワークショップ 7「肝炎ウイルスの感染・複製・排除のメカニズム」

70）平賀伸彦,今村道雄,木村俊之,畠山剛,光井富喜子,三木大樹,森奈美,柘植雅貴,高橋祥一,脇田隆字,茶山一彰: HBV と HCV はインターフェロン感受性が異なる-ウイルス複製培養細胞および動物モデルを用いた検討-．同上.

71）鈴木亮介：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 の同定とその応用．第 15 回トガ・フラビ・ペスチ研究会，岡山，2008.10.

72）鈴木亮介：シュードフラビウイルスを用いたデングワクチンの開発．第 5 回ウイルス学キャンプ in 湯河原，湯河原，2008.8.

73）脇田隆字，C 型肝炎ウイルス研究の最先端．第１２回日本肝臓学会大会,シンポジウム１「肝炎ウイルス研究のカッティングエッジ：基礎から臨床への贈り物」東京,2008.10.1.

74）脇田隆字: C 型肝炎ウイルスのウイルス培養とワクチン開発．第 67 回日本癌学会学術総会，シンポジウム４ ウイルス発癌,名古屋,2008.10.28-30.

75）有海康雄，黒木美沙緒，圃迫浩方，阿部健一，池田正徳，脇田隆字,加藤宜之：ATM DNA 損傷センサーは C 型肝炎ウイルスの RNA 複製に必要であ

る.ワークショップ３−４ HCV,同上.

76) 渋谷悠子，尾見法昭，中村紀子，脇田隆宇: 細胞培養系で作製したC型肝炎ウイルスにより誘導された抗体の性状解析，第 12 回日本ワクチン学会学術集会，熊本，2008.11.8-9.

77) 清原知子，徳永英治，石井孝司，脇田隆宇: A型肝炎ワクチンの *in vitro* 力価試験の検討，同上.

78) 千代智子，関口 敏，松原明弘，保富康宏，脇田隆宇，志田壽利，水野喬介，村井 深，小原道法: HCV 遺伝子組換えワクチニアウイルスの作製とワクチンとしての検討. 同上.

III. その他

1) 岡智一郎: 下痢症ウイルス II サポウイルス. 国立保健医療科学院主催 平成 20 年度短期研修ウイルス研修，東京，2008.10.9.

2) 片山和彦: ノロウイルス集団発生事例に対して感染症及び食品部が共同で実施する初期実地疫学調査及び微生物学的検査のポイント. 平成 20 年度神奈川県保健福祉部生活衛生課研修会，2008.2.

3) 片山和彦: 下痢症ウイルス(ノロウイルス・サポウイルス). 平成19年度希少感染症診断技術研修会，2008.2.

4) 片山和彦: ノロウイルス感染症 過去・現在・未来. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会ランチョンセミナー，岡山，2008.10.

5) 片山和彦: ノロウイルスの新知見. ウイルス性下痢症研究会第20回学術集会，岡山，2008.10.

6) 清水博之: 東アジアにおける重症エンテロウイルス71感染症の流行と分子疫学. アボット感染症アワー，ラジオ日経，(http://radio848.rsjp.net/abbott/html/20081031.html)，2008.10.31.放送.

7) Final quality assurance report of phase 1 wild poliovirus laboratory containment: WHO report, 2008.

8) Country Progress Report on Maintaining Polio-free Status, Japan: WHO report, 2008.

9) 脇田隆宇: C型肝炎ウイルスのウイルス培養系とその応用. 第28回広島山口肝疾患研究会，広島，2009.4.4.

10) 脇田隆宇: C 型肝炎ウイルスの細胞内粒子形成過程の解析.「感染現象のマトリックス」横糸の会，東京，2008.5.29-30.

11) 相崎英樹，脇田隆宇: C 型肝炎ウイルスの生活環における脂質の役割に関する研究.「感染現象のマトリックス」横糸の会，西宮市，2008.6.28-29.

3．ウイルス第三部

部長　田代眞人

概　要

当部は村山支所に配置され、第1室(インフルエンザ)、第2室(風疹)、第3室(麻疹)、第4室(ムンプス)、第5室(インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン)に、10月1日付で第6室(インフルエンザワクチン)が加わって構成される。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20年12月1日付で板村繁之主任研究官が第三部六室長に配置換え、有田知子研究員、佐藤佳代子研究員が採用された。平成21年1月1日付で信澤枝里主任研究官、高橋仁研究員(第6室)、平成21年3月1日付で徐 紅主任研究官が採用された。

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方衛生研究所、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型高病原インフルエンザウイルス及び、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。

国際協力では、WHOインフルエンザ協力センターとして世界各国から送付された分離ウイルスの解析及び候補ワクチンの効果予測を行い、WHOインフルエンザワクチン推奨株を決定した。H5N1型の流行に対しては、WHO H5N1レファラアンス研究室にも指定され、世界各地のウイルス診断、分離と解析、各地への技術支援、研修、診断方法の改良を行った。またWHO世界インフルエンザ計画に参画してWHOおよび我が国の大流行準備対応計画の策定と実施を推進し、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。また、WHO世界麻疹、風疹実験室ネットワーク(Global Measles and Rubella Laboratory Network)のGlobal Specialized Laboratory (GSL)、ならびにWHO西太平洋 地区 のRegional Reference Laboratory (RRL)として、周辺諸国への麻疹・風疹診断技術の研修、指導、ならびに麻疹・風疹診断精度管理試験等を実施した。また、JICAの依頼に応じてアフリカ、アジア、中国等への研修、講義等を実施した。WHOのSARSの診断法に関する研究室としても協力している。

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。2008/09シーズンの流行の始まりは例年よりやや早く、患者発生数のピークは2009年第4週に見られたが、第11週目にもB型ウイルスを主体とする小さなピークが見られた。A/H1、A/H3、B型各ウ

イルスの分離比はそれぞれ49%、27%、24%であった。A/H1分離株のほとんどは抗原的にワクチン株 A/Brisbane/59/2007と類似であった。HA 遺伝子の系統樹解析でも、分離株はワクチン株に代表される一群に分類された。A/H3 分離株の大半はワクチン株 A/Uruguay/716/2007 や A/Brisbane/10/2007 と抗原性が類似していたが、抗原変異株も 3 割ほどみられた。しかし、HA 遺伝子系統樹解析では両者は区別できなかった。一方、B 型ウイルスでは前シーズンに流行した山形系統株は B 型全体の約 1 割にとどまり、Victoria 系統株が 9 割以上を占めた。Victoria 系統分離株は抗原的にも遺伝系統的にも B/Brisbane/60/2008 や B/Brisbane/33/2008 と類似であったが、山形系統分離株の大半はワクチン株 B/Florida/4/2006 とは異なる抗原性を示した。これら、解析結果は定期的に厚労省感染症サーベイランスシステム（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。さらに日本ウイルス学会等の研究集会を通じて研究機関へ還元され、感染研 HP で一般にも還元された。[小渕正次、有田知子、氏家誠、徐紅、白倉雅之、伊東玲子、松浦純子、菅原裕美、望月菊、島袋梢、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うえで重要である。ウイルス第3部第1室では成人層および老人層の各群24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、有田知子、伊東玲子、松浦純子、菅原裕美、望月菊、島袋梢、岸田典子、齋藤玲子*、鈴木宏*、池松秀之**、小田切孝人、田代眞人 : *新潟大学医学部公衆衛生学、**原土井病院臨床研究部]

3. 2008/09 シーズンの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。そのため、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、2008/09 シーズンの HA 及び NA 遺伝子について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、R188K、E273K のアミノ酸置換を持つ一群(クレード 2B)に属し、さらに殆どの株が A189T のアミノ酸置換を持つサブクレードに属した。A/H3N2 亜型の HA 遺伝子は 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、その中でも多くの株が K173Q のアミノ酸置換を持つ一群（クレード 2）に属した。B 型の山形系統は、B/Florida/4/2006 に代表される G229S の置換を持つ一群（サブクレード 1）又は N167Y、G229D のアミノ酸置換を持つ一群（サブクレード 3）に属し、一方、ビクトリア系統では多くの株が B/Brisbane/33/2008 に代表される N75K、N146I、N165K、S172P のアミノ酸置換を持つ一群に属した。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、望月菊、島袋梢、小渕正次、伊東玲子、松浦純子、菅原裕美、田代眞人、堀川博司*、加藤裕美子*、細山哲*、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. 2008/09 シーズンにおける 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

2007/08 シーズンの前半から、ノイラミニダーゼ（NA）蛋白の 275 番目のアミノ酸に特異的な変異（H275Y）をもち、オセルタミビルに対して耐性となる A/H1N1 亜型ウイルスが、世界各地で高頻度に検出されるようになった。その後、耐性株は急速に広まり、現在では世界全体で 95%の発生頻度となっている。わが国では昨シーズンに、全国の地方衛生研究所の協力のもとに耐性株の調査したところ、1,734 株中 45 株(出現頻度=2.6%)のみが耐性であり、諸外国に比べて極めて低い発生状況であった。一方、2008/09 シーズンに入ると、各地から耐性株の検出が相次ぎ、耐性株の全国的な流行が懸念された。このため、昨シーズンに引き続き地研と協力して耐性株サーベイラインスを行った。この結果、総解析数 1452 株中 1447 株に耐性株が同定され、国内全体の耐性株の発生頻度は

99.7%となり、わずか半年で耐性株が劇的に広がっている事が示された。国内で分離された耐性株について薬剤感受性試験、抗原解析を行った結果、これらの耐性株は、ザナミビルに対しては感受性を保持しており、また抗原的には 2008/09 ワクチン株の A/ブリスベン/59/2007 に類似していることから、これら耐性株に対してワクチンが有効であると考えられた。これらの調査結果は IASR を通して週ごとに更新・開示し、関係者が各地における耐性株の流行状況を迅速に把握できるように努めた。［氏家誠、島袋梢、望月菊、小渕正次、伊東玲子、松浦純子、菅原裕美、田代眞人、堀川博司*、加藤裕美子*、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］

5. 2007/08 シーズンのインフルエンザウイルスの遺伝子解析及び薬剤感受性試験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。耐性株の発生動向を把握するため、M2 蛋白質阻害薬に関しては M2 遺伝子解析を、NA 阻害薬に関しては NA 遺伝子解析及び薬剤感受性試験を行い、市中流行株に対する耐性マーカーの検索及び薬剤への感受性を評価した。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 55% (130/236：耐性株検出数/総解析数)、A/H3N2 亜型で 100% (114/114)となった。昨シーズンの発生頻度(A /H1N1=約 58%、A/H3N2 亜型=約 83%)に比べると、A/H1N1 亜型では大きな変化はないものの、A/H3N2 に関しては耐性株の比率はさらに増加し 100%となった。一方、NA 阻害薬に対する耐性株の出現頻度は、A /H1N1 亜型で 2.6% (45/1734)、A/H3N2 亜型で 0% (0/130)、B 型で 0%(0/170)であり、2007/08 シーズンは NAI に対する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］

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

ヒトに接種できるワクチン株をリバースジェネティクス（RG）法で作製するためには、高度な安全性が確保されたワクチン製造用細胞株が必要である。我々は既に、LLC-MK2 細胞は安全性が高く、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や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、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。この LLC-MK2 細胞を用いた細胞培養により、ウイルスの大量培養ができるのかどうか、また、安定性などワクチン作製への応用が可能かどうかを探るために、これらリアソータントウイルスの LLC-MK2 細胞における増殖能および HA 遺伝子の安定性を一部のリアソータントウイルスを用いて調べた。その結果、十分なウイルス濃度で継代した場合は、6 代の継代で変異は出現せず安定性が高い事が明らかとなった。一方、ウイルスの増殖効率は MDCK 細胞よりも低いため増殖効率の改善を検討する必要がある。［影山努、岸田典子、白倉雅之、小田切孝人］

7. 沈降 H5N1 インフルエンザワクチン接種者の野生型ウイルス株に対する抗体応答の評価

新型インフルエンザ対策として国家備蓄が進められているワクチンの免疫原性及び交叉免疫性を評価する臨床研究の一環として、ベトナム株(clade1)ワクチン接種後に異なる clade のワクチンで追加免疫したワクチン接種者（B 試験）の血清ならびに、インドネシア株（clade2.1）または安徽株（clade2.3）ワクチン初回接種者（S 試験）の血清について、強毒型野生株に対する交叉反応性を中和試験で評価し、得られた抗体価を他の共同研究機関が測定した弱毒型ワクチン株に対する抗体価と比較した。B 試験、S 試験いずれの血清についても、強毒型野生株に対する抗体価は弱毒型ワクチン株に対する抗体価より低い傾向が見られた。また、両試験の血清中に含まれる抗体は、弱毒型ワクチン株に対する抗体価と同様、異なる clade に属するウイルスにも広く交叉反応性を示したが、S 試験血清中の抗体価は B 試験血清中の抗体価と比較すると全体的に低く、特に clade1 ウイルスに対しては、中和抗体が全く検出されなかった。以上の結果から、ベトナム株接種後に異なるクレードのインドネシア株または安徽株で交叉追加免疫すると、広い交叉反応性をもつが、弱毒化ワクチン株に対するよりも全体的に低い中和活性を持つ抗体が誘

導されることが明らかになった。一方、H5N1 ワクチンで初回免疫した場合に誘導される抗体は、追加免疫の場合と比較して交叉反応性が狭いことが示唆された。[小田切孝人、原田勇一、高橋　仁、佐藤佳代子、信澤枝里、河野直子、板村繁之、田代眞人、*奥野良信、**佐々木学、***庵原俊昭：*（財）阪大微生物病研究会、**（学）北里研究所、***国立病院機構三重病院]

8.　組織培養を用いた新型インフルエンザワクチン等の開発研究

本年度から開始された、組織培養型インフルエンザワクチン実用化のための開発研究国家プロジェクトの一環として、ワクチンメーカー等から様々な情報を収集し、組織培養型ワクチン開発研究に必須となる器材を研究施設内に設置した。また、組織培養型インフルエンザワクチン開発に用いる組織培養細胞の候補に関して、国内外のワクチンメーカーの持つ組織培養ワクチン作製用培養細胞について当該メーカーから必要な情報を収集し、その有用性や安全性を評価した。その結果、本年度末時点で、Novartis 社ならびに Crucell 社の MDCK 細胞ならびに Per.C6 細胞を候補として選定し、共同開発研究契約締結に向けた交渉を行っている。[田代眞人、小田切孝人、原田勇一、影山　努、板村繁之、高橋　仁、信澤枝里]

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

現在ヒトでの感染例を多く出している clade2.3 強毒株ウイルスに属する A/Anhui/01/2005 より作製したアルミアジュバント添加不活化全粒子ワクチンを用い、これまでヒトの間で流行を起こした clade1、clade.2.1、clade2.2 強毒株ウイルスに対する交叉防御効果について、マウスモデルを用いた評価を行った。3μg の HA を含有するワクチンを皮下接種して免疫したマウスの血中には、幅広い clade のウイルスに反応するウイルス中和抗体が誘導されたが、clade2.1 ウイルスである A/Indonesia/6/2005 に対する抗体価は特に高かった。また、ワクチン接種マウスにはその後の致死性ウイルス感染による攻撃試験において、用いた全ての clade のウイルスに対して全マウスが生残し、体重変動もほとんど起こさないような効果的な感染防御がもたらされた。以上の結果から、clade2.3 ウイルスに属する A/Anhui/01/2005 由来ワクチンは、幅広い clade のウイルスに対して効果的な交叉防御能を有することが示唆された。[原田勇一、森　愛*、多田善一**、田代眞人、小田切孝人：*神戸市環境保健研究所、**（財）阪大微生物病研究会]

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)

標準血清およびパネル血清は診断キットの評価や検査会社の精度管理のために必要不可欠である。日本国内で使用できる国内標準血清とパネル血清を整備する目的で、昨年度はインフォームドコンセントを得て採取したプール血清の国内標準血清候補および各パネル血清を HI 法および ELISA 法で測定し、HI 価および EIA 価の間に良好な相関があることを示した。この結果を踏まえ、今年度は国内標準血清候補と各パネル血清の国際単位(IU 値)の値付けを行うため、検査会社に WHO 国際標準血清と国内標準血清候補、パネル血清を配布し、HI 法および ELISA 法による測定を依頼した。来年度は各検査会社から返された結果を処理し、国内標準血清およびパネル血清を定める予定である。[岡本貴世子、大槻紀之、藤井薫、駒瀬勝啓]

2. 風疹ウイルス遺伝子検出 RT-PCR 法の検討

一般に国内における風疹感染の診断は、血清中の IgM 抗体価の測定、あるいはペア血清の IgG 抗体価の推移により行われるが、ウイルス遺伝子の検出は行われておらず、血清による診断ほど一般化されていない。しかし、1)発症初期においては血清中の IgM による診断より感度が優れている、2)ウイルスの排出期間が発疹の発症の時期とほぼ一致しているため適切な時期に検体の採取が可能である、3)咽頭拭い液からも検出可能であるため、検体採取が比較的容易で、患者の負担も少ない、4)WHO ではウイルスの遺伝子型でウイルスの移動をトレースする事を風疹排除に向けての情報として重視している、という点から、感度のよいウイルスゲノムの検出法の確立は重要である。また一本鎖 RNA ウイルスであることからゲノムの変異が大きい事が知られている。これらの事情を踏まえて、現在の病原体検出マニュアルにある RT-PCR 法を検証し、必要ならば改良、改訂をする必要がある。本年度は現行の病原体検出マニュアルとは異なる二種の新しい検出条件を

設定し、両者の感度を比較した。その結果、両者とも株により若干差が見られたが、従来よりも感度よくウイルス RNA を検出した。今後、実用に向けて臨床検体を用いてさらに両者を比較検討し、病原体検出マニュアルを改訂する予定である。［岡本貴世子、大槻紀之、阿保均、藤井薫、駒瀬勝啓］

3. 日本における風疹ウイルスの経年的変遷（継続）

昨年度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ている。本年は風疹の発症報告は少なく、ウイルス遺伝子が検出された例は一例であった。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、岡本貴世子、阿保均、藤井薫、駒瀬勝啓］

4. ラオスにおける小学生児童の風疹、麻疹の血清疫学

ラオスは東南アジアの最貧国の一つであり、感染症の流行状況、抗体保有状況、ワクチン接種状況等の情報は少ない。本研究は、ラオス、ビエンチャン市の 4 つの小学校の児童の血中風疹抗体価、麻疹抗体価を測定することで、WHO が排除を目指す風疹、麻疹の流行状況、抗体保有状況を知ることを目的とした。男児 201 名、女児 211 名の計 411 名から承諾を得て採血を実施した。風疹に関しては 43.6%が抗体陽性であり、年齢が上がるにつれて抗体陽性率は上昇する傾向にあった。また、男児の方が女児よりも陽性率が高かった。一方、麻疹では 97.6%が陽性であった。これは本調査の直前に実施された麻疹ワクチン接種キャンペーンの効果であると考えられた。ラオスでは風疹ワクチンは導入されておらず、また血清疫学の情報も本研究が最初である。今回の結果から、ラオスでは風疹の流行が存在し、12 歳までに約半数は自然感染していることが明らかになった。［駒瀬勝啓、ペンサイマニライ*、牛島廣治**、山本久美***、藤井薫：*東京大学医学系研究科、**藍野大学、***感染研感染症情報センター］

III. 麻疹ウイルスに関する研究

1. 亜急性硬化性全脳炎分離株のリバースジェネティクス法の確立

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)は麻疹ウイルスの持続感染により生じる予後不良の疾患である。患者から分離されたウイルス株の解析は本疾患を理解する為に重要である。SSPE 患者分離株解析の為にリバースジェネティクス系の確立を試みた。SSPE 分離株である SI 株をもとに、全ゲノム配列に加えウイルスゲノム上の H-L 遺伝子間に GFP 遺伝子を挿入したプラスミドを作製した。プラスミドを 293T 細胞へ導入後、Vero/SLAM 細胞との共培養により、感染性ウイルスの回収に成功した。［關文緒、染谷健二、駒瀬勝啓、田代眞人］

2. 麻疹診断用レファレンス RNA の作製

麻疹排除を達成するためには精度の高い麻疹の確定診断体制が重要である。現在、従前の IgM 診断よりも感度の高い RT-PCR 法等のゲノム検出技術で診断できるように、地方衛生研究所、保健所等と協力した診断ネットワークを構築している。その際の診断精度を一定のレベルに保つためには、各地衛研の RT-PCR 法の精度管理を並行して行う必要がある。麻疹ワクチン株のウイルスゲノムの cDNA を合成し、T7 のプロモーター配列の下流に連結した。これからゲノムに相当する RNA を合成し、濃度を測定し、 精度管理に使用できるように適切に希釈し、全地方衛生研究所に配布した。本レファレンス RNA を診断実施時にコントロールとしておくことで、各衛生研究所で実施される麻疹遺伝子診断の精度のモニターが可能となった。［駒瀬勝啓、染谷健二、關文緒、藤井薫］

3. 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

乳幼児期において肺炎や細気管支炎などの重篤な症状を引き起こす起因ウイルスとして、RS ウイルス(RSV)、インフルエンザウイルス(Flu)などが挙げられる。すでに安全性が確立されている麻疹ワクチン AIK-C 株をワクチンベクターとして用い、RSV、Flu の感染防御に関わる抗原タンパク質を発現する組換え AIK-C 株を作製し、それぞれの抗原を発現する麻疹ウイルスワクチン株の回収に成功した。［駒瀬勝啓、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 24 日後に髄膜炎を発症したケース。2 例目はワクチン接種 1 月後に、3 例目はワクチン接種 25 日後に髄膜炎を発症したケースである。4 例目は 14 日後に髄膜炎を発症したケースである。5 例目はワクチン接種後 15 日目に不明発熱し、17 日目に中枢性塩類喪失症候群を発祥したケースである。いずれのケースも髄液からムンプスウイルスが分離され、その遺伝子型は接種したおたふくかぜワクチン株と同じであった。そのため、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、、高柳勝*、長谷川道弥**、田部井由紀子**、山下照夫***、田代眞人：*仙台市立病院小児科、**東京都健康安全研究センター、***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を確立した。Y213 株由来のゲノム cDNA、および一部を Y125 株の配列に入れ替えたキメラ cDNA からウイルスが回収された（それぞれ rY213 と rBS5）。これら 2 株の ts を調べたところ、どちらも強い ts を示し、特に rY213 は原株には無い ts を獲得していることが判明した。また、高病原性の株に由来するにもかかわらず rY213 について哺乳ラットに対する中枢神経病原性を測定した結果、病原性が著しく低下しており、病原性についても原株の性状を反映していなかった。rY213 と rBS5 の Vero 細胞におけるプラークサイズは原株の Y125 株、Y213 株のいずれよりも小さかった。その原因については、基のウイルスサンプルが複数の quasispecies の集合体であり、その性状は個々の quasispecies の性状の総和であるため、リバースジェネティクスによる single clone 解析ではそれを反映できない可能性が考えられる。[木所稔、齋加志津子*、加藤篤、田代眞人：*千葉県衛生研究所]

3. 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

マーモセットの脳内接種試験において、ムンプスウイルスの病原性を評価するための指標をより客観性の高いものにするため、各組織におけるインターフェロン(IFN)γ と炎症性サイトカイン（IL-2, TNFα）発現量をリアルタイム PCR にて測定した。その結果、IL-2 と TNFα の発現量のパターンには株の病原性と明確な相関は認められなかったものの、IFNγ の発現量は特に中枢神経系においてウイルスの病原性と逆相関する傾向が認められた。今後、その他のサイトカインの発現量についても測定を進め、より客観性の高い評価方法の構築を目指したい。[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]

4、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のひとつである V 蛋白質の C 末端側にはウイルス間で最も保存された領域がありその機能が注目されている。しかし、その配列は細胞培養レベルで非必須でないなど存在意義の詳細は依然不明な蛋白質である。センダイウイルス(SeV)親株と V 蛋白質を欠損した変異株を比較し、インターフェロン(IFN)βの発現に関わる転写因子 IRF3 が V 蛋白質の標的と推定された。欠損株感染マウスの肺内には IFNβに加え、IFNλの量が多かったが、IRF3 欠損マウスではそのような差は観察されなかった。IFNβあるいはλであらかじめ処理した細胞も、あらかじめ経鼻投与したマウスのどちらも、その後の SeV 感染に対して抵抗性になり、V 蛋白質の機能は IRF3 に作用して IFNβとλの産生を抑制することではないかと推察された。[加藤篤、久保田耐、田代眞人、清谷克寛*、坂口剛政*、吉田哲也*：*広島大学医歯薬大学院]

5. 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*、張賢聡**、尾里啓子**：*細菌第 2 部、**米国 NIH]

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、マウス肺で継代した株（Fr-mo）はその能力を持つ。しかしながら、pp 感染マウスでの Fr-1 株の増殖は、pp 非感染と比べ約 100 倍高いので、pp 感染マウス肺で Fr-1 を３代継代した結果、高病原性株(Fr-pp)が分離された。Fr-pp のスパイク(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。Fr-pp は pp 感染マウス同様 LPS 投与ハムスターでも重症肺炎を引き起こし、微弱肺炎を持つサルでの重症肺炎誘導能についての今後の検討が期待される。サルでの重症肺炎モデルを樹立することにより、これまでマウス等実験小動物で樹立した感染防御法がヒトで有効か否かについて検証できると思われる。[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、まず細胞表面のレセプターにウイルス粒子が接着し、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。エンドソーム内プロテアーゼであるカテプシンはウイルス表面のスパイク（S）蛋白を切断し、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。エンドソーム膜を形成する脂肪酸あるいは膜の裏打ち構造が S 蛋白質の活性化に関与する可能性がある。我々は S 蛋白の膜融合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. RSV 感染 A549 細胞による肥満細胞の脱顆粒の誘導

RSV 感染症では気道過敏症などのアレルギー様症状が見られ、これらの病態悪化には Th2 免疫応答レベルの上昇が関連すると考えられている。肥満細胞は好塩基性顆粒や Th2 サイトカインを分泌し、アレルギー疾患においてエフェクター細胞として作用するため、RSV 感染症の病原性に肥満細胞が関与している可能性が考えられる。一方で、肥満細胞は Fractalkine(CX_3CL1)のレセプター(CX_3CR1)を多量に発現しているが、RSV の G 蛋白は CX_3CL1 を構造が近似し、CX_3CR1 と結合することが報告されている。よって RSV が肥満細胞に直接的に影響を与える可能性が考えられる。そこでヒト肥満細胞株 HMC-1 を用いて RSV が肥満細胞に与える影響について検討した。HMC-1 は CX_3CR1 を発現しているが、ヒト呼吸器細胞株の A549 と比較して RSV の吸着量に違いは見られなかった。さらに、RSV は A549 細胞で効率的に複製するが、HMC-1 ではほとんど複製しないことが明らかとなった。脱顆粒へ与える影響を検討したところ、RSV を直接接種した場合、HMC-1 の脱顆粒は見られなかったが、RSV 感染 A549 細胞と共培養したところ、HMC-1 の有意な脱顆粒が確認され、TNF-a の発現も確認された。しかしながら、RSV 感染 A549 細胞の培養上清で HMC-1 を培養した時は有意な脱顆粒は見られなかった。以上のことから、RSV 感染 A549 細胞に発現するなんらかの分子や cytokine の paracrine signal などの非免疫系シグナルが、肥満細胞の脱顆粒を誘導することが示唆され、RSV は間接的に肥満細胞機能に影響を与えることが示唆された。[白戸憲也、田口文広]

4. マウスコロナウイルスのスパイク（S）蛋白の構造変化の検出

マウスコロナウイルス MHV-2 (マウス肝炎ウイルス-2 株)と SARS コロナウイルス（SARS-CoV）は S 蛋白の構造と細胞侵入メカニズムにおいて類似点が多い。両ウイルスの S 蛋白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。この構造変化は細胞への感染実験から予想された機構であったが、昨年度、我々は MHV-2 を用いて電気泳動法やリポソーム浮遊法を行い、二段階構造変化の検出に成功している。現在、同様の方法を用いて SARS-CoV S 蛋白の構造変化の検出を試みている。[松山州徳、田口文広]

5. Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV)のマウス馴化株の分離と性状解析

ブタ流行性下痢ウイルス(PEDV)はブタの下痢症を引き起こすコロナウイルス (CoV) である。CoV のスパイク(S)蛋白は、細胞表面のレセプターとの結合、細胞侵入に重要な役割を果たし、ウイルスの病原性にも関与している。一般に CoV は種特異性が高く、固有宿主にしか感染しないが、ニワトリやヒトの CoV の乳飲みマウス脳内での継代によりマウス馴化株が得られる。本研究では、PEDV の乳飲みマウス脳内継代でマウス馴化株が作出できるか、マウス馴化と S 蛋白に関連があるのかを知る目的で実験を行った。PEDV は日生研から分与された MK-135 株を用い、複製には Vero 細胞を用いた。PEDV の脳内継代には 0 日齢 ICR マウスを用い、10 代脳内継代を行った。得られた 10 代経代株と親株を 0 日齢の ICR に脳内接種したところ、10 代経代株接種群の方がより早く体重減少が見られ、短時間のうちに死亡した。しかしながら、マウス脳内および Vero 細胞における両ウイルスの増殖には違いが見られなかった。一方、10 代経代株は親株と比較して高い細胞融合能を示した。両株の S 蛋白アミノ酸配列を比較したところ４か所の変異が見られた。S 蛋白アミノ酸配列と細胞融合能の関係を S 蛋白発現系で調べたところ、cytoplasmic tail 領域にある His →Arg のアミノ酸変異が、細胞融合活性の増強に重要であることが明らかとなった。本研究により、乳飲みマウス脳内継代によりマウスに強い病原性を示し、細胞融合活性の高いマウス馴化株が得られた。更に、馴化株 S 蛋白の cytoplasmic tail 領域のアミノ酸変異が S 蛋白の細胞融合活性の増強に携わっていることが示された。今後、S 蛋白の変異が病原性の変化に関係するのかを検討する必要がある［白戸憲也、前嶋円、平井明香*、松山州徳、網康至*、川瀬みゆき、田口文広：*動物管理室］

6. 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 マウスでは R2 蛋白質は B6/R1 マウスの R1 蛋白質と同程度の発現が見られ、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。同様の現象は、夫々のマウス系統由来の腹腔マクロファージでも認められた。［平井明香*、網康至*、山田靖子*、田口文広：*動物管理室］

7. 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

マウス脳神経系初代混合細胞培養系で MHV-JHM cl-2 親株（wt）は MHV 受容体発現細胞ミクログリアに感染し、受容体非発現細へも感染拡大するが、その変異株（srr7）は受容体依存性にミクログリアのみ感染し、他の受容体非発現細胞へ感染拡大しない。然しながら、srr7 の３日以上の長期感染では、受容体発現細胞ミクログリアのみならず、非発現細胞にも感染が認められる。本研究では、srr7 感染混合脳神経系培養細胞において長期感染で出現する細胞融合活性を持つウイルス srr７-astro について解析を行った。srr７-astro は spinoculation 法により受容体非発現 BHK 細胞に感染し，細胞融合を引き起こすがその能力は親株 cl−２と比べると極めて低かった。また、srr７-astroS 蛋白は srr７と１アミノ酸変異を有し、BHK での発現により、細胞融合が観察されたが、cl−２S 蛋白発現に因るもの程強くなかった。何れの場合にも、srr７由来の S 蛋白は BHK 細胞の融合を誘導することはなかった。これらの結果から、srr７は神経系細胞培養で長期感染することにより、変異、選択を伴い、受容体非存在下でも増殖できるウイルスに変異し、受容体の少ない環境ではそのようなウイルスが選択されることが示唆された。このような現象がマウス脳内でも起こりうる可能性について検討したい。

［中垣慶子、野村理沙*、松山州徳、渡辺里仁*、田口文広：*創価大学工学部］

サーベイランス業務

1. 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 13 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、矢野茂生*、持田恵子**、蒲地一成**、小田切孝人、田代眞人：*血液安全性研究部、**細菌第 2 部］

2. 新型インフルエンザワクチン株製造のための GMP 準拠施設の運用開始準備

本年度にワクチン株製造施設の建設が完了することから、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、設備運用等について調査、検討を実施した。それらに基づいて GMP に則した運用を実施するために基準書、標準手順書などの文書整備および設備の運用方法、入退出手順、衛生管理方法について検討を実施した。［板村繁之、佐藤佳代子、信澤枝里、原田勇一、高橋仁、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］

3. 風しんワクチン中間段階 2 ロット、乾燥弱毒生風しん小分け製品ワクチン 2 ロット、麻しんワクチン中間段階 3 ロット、乾燥弱毒生麻しん小分け製品 6 ロット、弱毒乾燥生麻しん・風しん混合ワクチン 61 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 2 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン最終製品 11 ロットの検定を行った［大槻紀之、岡本貴世子、駒瀬勝啓、染谷健二、關文緒、岡田晴恵、久保田耐、木所稔、加藤篤、白戸憲也、野田雅博、荻野利夫、田代眞人］

4. 風しんワクチン中和用山羊血清を作製した。［大槻紀之、岡本貴世子、駒瀬勝啓］

5. 麻しんワクチン中和用ウサギ血清を作製した。［關文緒、染谷健二、駒瀬勝啓］

6. 麻疹、風疹、おたふくかぜ混合生ワクチンの特別審査を行った。［加藤篤、海野幸子、大槻紀之、加藤宏幸、染谷健二、關文緒、岡田晴恵、菅井敏行、木所稔、久保田耐、田代眞人、他］

7. インターフェロン製剤 15 ロット(α-2b 3 ロット、pegα-2β 3 ロット、αLys 3 ロット、recβ-1b 1 ロット、天然型β 4 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］

8. 人免疫グロブリン製剤中の麻疹ウイルスの HI 抗体価測定の検定を 159 ロット行った。［岡田晴恵、荻野利夫］

レファレンス業務

1. 我が国に飛来する野生水禽における A 型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 H5N1 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。そこで、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、地方衛生研究所の協力のもと、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が、いずれの地方衛生研究所からも分離報告はなかった。本年度は、これまでに野生水禽から分離されたウイルスをもとに、不活化抗原および抗血清の作製を行い、亜型の中で多様な抗原性を示すウイルスに対応できるよう、抗原および抗血清のライブラリーの充実をはかった。また、2009 年２月に、愛知県のウズラ農場でウズラから分離された H7N6 亜型の鳥インフルエンザウイルスについても不活化抗原と抗血清を作製し、このライブラリーに加えた。［影山努、白倉雅之、岸田典子、田代眞人、小田切孝人］

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

平成 20 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/Brisbane/59/2007 (IVR-148) (H1N1)、

A/Uruguay/716/2007 (X-175C) (H3N2)、B/Florida/4/2006 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、米国の生物製剤に関する国立試験研究機関である NIBSC、TGA、CBER と共同で実施した。[板村繁之、原田勇一、河野直子、小田切孝人、田代眞人]

3. 行政依頼検査 3 件を含む 9 件の風疹の依頼検査を実施した。[大槻紀之、岡本貴世子、阿保均、藤井薫、駒瀬勝啓]

4. 行政依頼検査 1 件を含む 4 件の麻疹の依頼検査を実施した。[染谷健二、關文緒、藤井薫、駒瀬勝啓]

5. 19 ヵ所の地方衛生研究所に Vero/hSLAM 細胞を配布した。[關文緒、藤井薫、駒瀬勝啓]

6. 77 ヵ所の地方衛生研究所に麻疹遺伝子診断用レファレンス RNA を配布した。[染谷健二、關文緒、藤井薫、駒瀬勝啓]

7. 9 ヵ所の麻疹、風疹レファレンスセンターに麻疹 IgM ELISA kit を配布し、習熟度試験を実施した。[染谷健二、關文緒、藤井薫、駒瀬勝啓]

8. Respiratory Syncitial(RS)ウイルスの主要遺伝子解析

乳幼児気管支炎患者由来の RSV の *G* 遺伝子(Subgroup A; 240bp, Subgroup; 294bp)の分子系統解析を実施した結果, 患者由来 17 株のうち、7 株は Subgroup A、10 株は Subgroup B に分類された。さらに、Subgroup A は GA2 に、Subgroup B は BA に分類された。分離株間での相同性は、Subgroup A では 88%、Subgroup B では 89.5%であった。F 遺伝子(550bp)系統解析でも、固有のクラスターに分類された。分離株間での相同性は、Subgroup A では 85.1%、Subgroup B では 89.3%であった。N 遺伝子(296bp)は、それぞれの株における変異が少なく、解析の結果から Subgroup A の分離株間のホモロジーは 99.5%以上、Subgroup B 分離株間では 99%以上であった。[野田雅博、木村博一*、塚越博之**、水田克巳***、斎藤義弘****、菅井和子*****：*感染症情報センター、**群馬県衛生環境研究所、***山形県衛生研究所、****東京慈恵会医科大学、*****国立病院機構横浜医療センター]

9. 亜熱帯地域における RS ウイルスの流行疫学

2006 年～2008 年の沖縄県における RS ウイルス感染症発生状況は、全国の流行期（冬季）と異なり、いずれの年も夏季に流行がみられた。流行期に検出された RSV は、サブグループＡが主流であったが、サブグループＢも同時期に検出された。分離株の G protein 領域の分子系統樹解析の結果、GA2 型と BA 型に分類され、遺伝学的に近年の諸外国で検出された株に類似していた。[中村正治*、糸数清正*、平良勝也*、木村博一**、野田雅博：沖縄県衛生環境研究所、**感染症情報センター]

10. ヒトボカウイルスの分子疫学

2007 年から 2008 年の間に急性呼吸器感染症(ARIs)患者から採取された臨床検体（鼻・咽頭拭い液）からヒトボカウイルス(Human bocavirus; hBoV)の検出を試みた。その結果、供試した 701 検体のうち 14 検体から hBoV 遺伝子が検出された。検出された hBoV 遺伝子のうちの 7 株について全領域(5299bp)解析し、系統樹解析を行った結果、6 株は group1 に、1 検体 1 株は group2 に分類された。[五十嵐郁美*、水田克巳**、齋藤義弘***、菅井和子****、大内好美*****、田中千香子******、平田明日美******、木村博一*******、野田雅博：*福島県衛生研究所、**山形県衛生研究所、***東京慈恵会医科大学、****国立病院機構横浜医療センター、*****滋賀県衛生科学センター、******栃木県保健環境センター、*******感染症情報センター]

11. 病原体検出マニュアルの作成

病原体検出マニュアル「ライノウイルス編, パラインフルエンザウイルス編およびボカウイルス編」を作成した［野田雅博、木村博一*、水田克巳**、塚越博之***、平田明日美****、五十嵐郁美*****、中村正治******、大内好美*******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、****栃木県保健環境センター、*****五十嵐郁美、******沖縄県衛生環境研究所、*******滋賀県衛生科学センター]

国際協力業務

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

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ている。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。[影山努、白倉雅之、岸田典子、小田切孝人、田代眞人]

2. 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20年6月(板村、影山)、平成20年8月(影山)、平成21年1月(影山、白倉)にのべ三回にわたって参加し、病原体の管理に関する技術指導および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。[影山 努、白倉雅之、板村繁之]

3. 中国広州市院内感染対策プロジェクトにおける研修

中国広州市院内感染対策プロジェクトにおいて1名の研修生に対して高病原性鳥インフルエンザウイルスの臨床検体からの分離・培養・同定法などの実技研修を行った。[影山 努、岸田典子、白倉雅之、島袋 梢、氏家 誠、小渕正次、板村繁之]

4. JICA 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ける研修

中国広州市院内感染対策プロジェクトにおいて1名の研修生に対して高病原性鳥インフルエンザウイルスの臨床検体からの分離・培養・同定法などの実技研修を行った。[影山努、岸田典子、白倉雅之、島袋梢、氏家 誠、小渕正次、板村繁之]

5. WHO 西太平洋地域事務局の要請により、Influenza Virus Isolation and Characterization Workshop (2009年3月30日ー4月3日、Singapore Polytechnic にて開催)に技術講習のテンポラリーアドバイザーとして参加した。[小渕正次]

6. モンゴル国立伝染病センター(NCCD)におけるインフルエンザウイルスサーベイランスの強化のための技術支援

インフルエンザウイルスサーベイランスの強化を目的に、平成20年9月27日から10月9日までモンゴル国立伝染病センターにて、遺伝子解析(シークエンス、Real-time PCR)を中心とした技術支援を行った。また、モンゴルで開催された国際インフルエンザワークショップに参加し東南アジア全域におけるインフルエンザウイルスサーベイランスに関する講演を行った。[氏家誠]

7. インフルエンザワクチン力価測定に使用する標準抗原の HA 含量決定法の標準化共同研究への参加

インフルエンザワクチンの力価試験である一元放射免疫拡散試験には力価の標準品となる標準抗原が必要で、その標準抗原に含有されるワクチンの有効成分である HA 蛋白量を決定するためには、Primary liquid standard (PLS)と呼ばれる精製ウイルスに含まれる HA 蛋白含有率と総蛋白量を正確に測定しておくことが重要である。HA 蛋白含有率は SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (SDS-PAGE) によって各ウイルス蛋白を分離して全ウイルス蛋白に占める HA 蛋白の含量を測定して求める。しかしながら、HA 蛋白は糖蛋白であり SDS-PAGE では均一なバンドを形成しないことや、ウイルス株によっては他のウイルス蛋白との分離ができず、定量が困難な場合もある。そのため、精製ウイルスをエンドグリコシダーゼ(PNGaseF)処理し、HA 蛋白に結合している糖鎖を切断後、SDS-PAGE による解析を行うことで HA 含有率測定法の改良が行われている。WHO ネットワークのインフルエンザ品質管理研究室 (ERL) による本改良法の標準化共同研究が計画されたので、これに参加して参照ウイルス株について測定を行い、他の研究室との比較を進めている。[高橋仁、原田勇一、佐藤佳代子、河野直子、板村繁之、小田切孝人、田代眞人]

8. 17th meeting of the Technical Advisory Group (TAG) on Immunization and Vaccine Preventable Diseases in Western Pacific Region に参加して日本の予防接種状況、検査体制状況等を報告し、今後の麻疹、風疹の排除計画の進行について議論した。[駒瀬勝啓、田代眞人]

9. 6th Global measles and Rubella Laboratory network meeting に参加し、日本の麻疹ウイルス、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、田代眞人]

10. 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、ニュージランド、モンゴルの研究施設に分与した。[關文緒、田代眞人、駒瀬勝啓、]

11. 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た。また、モンゴルの検査精度管理を行った。[染谷健二、關文緒、藤井薫、田代眞人、駒瀬勝啓]

研修業務

1. 検疫所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 RT-PCR 検査を中心にした高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修を行った。また、研修後はそれぞれの検疫所からの検査対応相談にも個別に対応し、研修成果が現場で発揮されるように連携の強化が図られた。[影山努、白倉雅之、岸田典子、小田切孝人、田代眞人]

2. 地方衛生研究所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、地方衛生研究所 74 ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、Real-time RT-PCR 検査を中心にした高病原性鳥インフルエンザ感染診断技術研修を行った。また、研修後はそれぞれの地方衛生研究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、白倉雅之、岸田典子、小田切孝人、田代眞人]

3. 平成 20 年度特別課程ウイルスコースにおいて、インフルエンザウイルス検査診断実習（孵化鶏卵接種によるウイルス分離、HA・HI によるインフルエンザウイルス検出・同定法）を担当した。[小渕正次、氏家誠、伊東玲子]

4. 平成 20 年度特別課程ウイルスコースにおいて、インフルエンザウイルス検査診断実習（高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断検査）を行った。[影山努、白倉雅之、岸田典子]

5. 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラムにおいて、「麻疹・風疹」の講義を行った。[駒瀬勝啓]

6. 平成 20 年ウイルス研修コースにおいて、「呼吸器ウイルス(III), 風疹ウイルス」の講義を行った。[駒瀬勝啓]

7. 「平成20 年度仏語圏アフリカ地域ワクチン予防可能疾患の疫学および対策セミナー」において、7 名の研修生に対して「麻疹・風疹の」講義を行った。[駒瀬勝啓]

8. 中国ワクチン予防可能感染症サーベイランスおよびコントロール(VPD)プロジェクト研修において 3 名の中国人研修生に対して「麻疹。風疹サーベイランスおよび MR ワクチン」の講義を行った。[駒瀬勝啓]

9. 中国病原体検索コースで中国人研修生1名に対して2週間の麻疹・風疹の実習コースを行った。[染谷健二、關文緒、大槻紀之、岡本貴世子、阿保均、駒瀬勝啓]

10. JICA「世界ポリオ根絶のための実験室診断技術」コースにおいて、東南アジア、アフリカ等に研修生 6 名に麻疹抗体測定法の実習を行った。[染谷健二、關文緒、駒瀬勝啓]

11. JICA 「麻疹実験室実技トレーニング」コース(中国、甘粛省欄中)において、中国人研修生２4 名に麻疹抗体測定法の実習を行った。[關文緒、駒瀬勝啓]

12. 平成 20 年度希少感染症診断技術研修会において麻疹・風疹診断法に関する講義を行った。[岡本貴世子、駒瀬勝啓]

13. 平成 20 年度特別課程ウイルスコースにおいて，ウイルス分離培養法（講義および実習），RS ウイルス感染症（講義）を担当した。[野田雅博]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) 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)

2) Kamijuku H, Nagata Y, X Jiang, Ichinohe T, Tashiro T, Mori K, Taniguchi M, Hase K, Ohno H, Shimaoka T, Yonehara S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T,Hasegawa H, and K-iSeino. Mechanism of NKT cell activation by intranasal coadministration of alfa-galactosylceramide, which can induce cross-protection against influenza viruses. Mucosal Immunol. 1, 208–218 (2008)

3) Russell CA, Jones TC, Barr IG, Cox NJ, Garten RJ, Gregory V, Gust ID, Hampson AW, Hay AJ, Hurt AC, de Jong JC, Kelso A, Klimov AI, Kageyama T, Komadina N, Lapedes AS, Lin YP, Mosterin A, Obuchi M, Odagiri T, Osterhaus AD, Rimmelzwaan GF, Shaw MW, Skepner E, Stohr K, Tashiro M, Fouchier RA, Smith DJ. The global circulation of seasonal influenza A (H3N2) viruses. Science,18;320(5874):340-6 (2008)

4) Makizumi K, Kimachi K, Fukada K, Nishimura T, Kudo Y, Goto S, Odagiri T, Tashiro M, Kino Y. Timely production of

A/Fujian-like influenza vaccine matching the 2003–2004 epidemic strain may have been possible using Madin–Darby canine kidney cells. Vaccine, 26, 6852-6858 (2008)

5) Kawakami C, Obuchi M, Saikusa M, Noguchi Y, Ujike M, Odagiri T, Iwata M, Toyozawa T, and Tashiro M. Isolation of oseltamivir-resistant influenza A/H1N1 virus of different origins in Yokohama City, Japan, during the 2007-2008 influenza season. Jpn J Infect Dis. 62:83-86 (2009)

6) Sakata M, Komase K, Nakayama T. Histidine at position 1042 of the p150 region of a KRT live attenuated rubella vaccine strain is responsible for the temperature sensitivity. Vaccine. 27:234-42 (2009)

7) Yoshino N, Kanekiyo M, Hagiwara Y, Okamura T, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Sato S, Yamamoto N, Honda M. Mucosal administration of completely non-replicative vaccinia virus recombinant Dairen I strain elicits effective mucosal and systemic immunity. Scand J Immunol. 68:476-83 (2008)

8) Sakaguchi T, Kato A, Kiyotani K, Yoshida T, Nagai Y. Studies on the paramyxovirus accessory genes by reverse genetics in the Sendai virus-mouse system. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 84:439-451 (2008)

9) Hosoya N, Miura T, Kawana-Tachikawa A, Koibuchi T, Shioda T, Odawara T, Nakamura T, Kitamura Y, Kano M, Kato A, Hasegawa M, Nagai Y, Iwamoto A. Comparison between Sendai virus and adenovirus vectors to transduce HIV-1 genes into human dendritic cells. J Med Virol. 80:373-382 (2008)

10) Kubota T, Matsuoka M, Chang T-H, Tailor P, Sasaki T, Tashiro M, Kato A, Ozato K. Virus infection triggers SUMOylation of IRF3 and IRF7, leading to the negative regulation of type I interferon gene expression. J Biol Chem. 283:25660-25670 (2008)

11) Yasui F, Kai C, Kitabatake M, Inoue S, Yoneda M, Yokochi S, Kase R, Sekiguchi S, Morita K, Hishima T, Suzuki H, Karamatsu K, Yasutomi Y, Shida H, Kidokoro M, Mizuno K, Matsushima K, Kohara M. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. J Immunol. 181:6337-6348 (2008)

12) Shirato K, and Taguchi F. Mast cell degranulation is induced by A549 airway epithelial cell infected with respiratory syncytial virus. Virology. 386:88-93(2009)

13) Terahara K, Yoshida M, Taguchi F, Igarashi O, Nochi T, Gotoh Y. Yamamoto T, Tsunetsugu-Yokota Y, Beauchemin N, and Kiyono H. Expression of newly identified secretory CEACAM1a isoforms in the intestinal epithelium. Biochem. Biophys. Res. Commun. 383: 340-346 (2009)

14) Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Ami Y, Fukushi S, Taguchi F, and Tsunetsugu-Yokota Y. Neutralizing antibody against severe acute respiratory syndrome (SARS)-coronavirus spike is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. Microbiol. Immunol. 53:75-82 (2009)

15) Kawase M, Shirato K, Matsuyama S, and Taguchi F. Protease-mediated entry via endosome of human coronavirus 229E. J. Virol. 83: 712-721 (2009)

16) Watanabe R, Matsyama S, Shirato K, Maejima M, Fukushi S, Morikawa S, and Taguchi F. Entry from cell surface of SARS coronavirus with cleaved S protein as revealed by pseudotype virus bearing cleaved S protein. J. Virol. 82: 11985-11991 (2008)

17) Shirato K, and Mizutani T, Malloy AT, and Carson EC. (ed.). Tumor necrosis factor and carcinoma by hepatitis B and C virus infection. Oncogene Proteins: New Research, Nova Science Publishers, Inc., New York, USA. 273-287 (2008)

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

19) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Suto A, Hoshina H, Itagaki T, Katsushima N, Matsuzaki Y, Hongo S, Noda M, Kimura H, and Ootani K. Analysis of monthly isolation of respiratory viruses from children by cell culture using a microplate method: a two-year study from 2004 to 2005 in Yamagata, Japan. Jpn.J.Infect.Dis. 61:196-201 (2008)

20) Mizuta K, Matsuzaki Y, Hongo S, Ohmi A, Okamoto M, Nishimura H, Itagaki T, Katsushima N, Oshitani H, Suzuki A, Furuse Y, Noda M, Kimura H, and Ahiko T. Stability of the

seven hexon hypervariable region sequences of adenovirus types 1-6 isolated in Yamagata. Japan between 1988 and 2007. Virus Res.140:32-39 (2009)

21) Okazaki K, Kondo M, Kato M, Kakinuma R, Nishida A, Noda M, Taniguchi K, and Kimura H. Serum cytokine and chemokine profiles in neonates with meconium aspiration syndrome. Pediatrics. 121:e748-e753 (2008)

22) 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, and Kimura H, An Imported Dengue Fever Case by Dengue Virus 3 (DENV-3) Infection in Gunma, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 61: 90-92 (2008)

23) Hishinuma-Igarashi I, Mizuta K, Saito Y, Ohuchi Y, Noda M, Akiyama M, Sato H, Tsukagoshi H, Okabe N, Tashiro M, Kimura H. Phylogenetic analysis of human bocavirus (HBoV) detected from children with acute respiratory infection in Japan. J Infect. 58:311-313 (2009)

2. 和文発表

1) 氏家誠、小田切孝人: インフルエンザ A/H1N1 オセルタミビル耐性株(H275Y)の国内発生状況　小児科 50:59-68.2009

2) 小渕正次、田代眞人：インフルエンザにかかる仕組み　からだの科学　259:21-24. 2008

3) 小渕正次：ワクチンの進歩は？　鈴木宏、松本慶蔵編　インフルエンザの最新知識Q&A2009　医薬ジャーナル社 86-87. 2009

4) 駒瀬裕子、駒瀬勝啓：インフルエンザ　Medical Practice 25 (2) 787-793. 2008

5) 駒瀬勝啓:麻疹ウイルス、バイオセーフティの辞典　バイオメディカルサイエンス研究会編集　医学評論社 225-227. 2008

6) 大槻紀之: 風疹ウイルス、バイオセーフティの辞典　バイオメディカルサイエンス研究会編集　医学評論社 260-262. 2008

7) 駒瀬勝啓:麻疹ワクチン 過去、現在、未来　Medical Science Digest 35 (3) 84-85. 2009

8) 加藤 篤：　ムンプスウイルス、バイオセーフティの辞典　バイオメディカルサイエンス研究会編集　医学評論社　280-282. 2008

9) 加藤 篤：継代によるウイルス変異がワクチンの免疫原性におよぼす影響　日本臨牀 66:1908-1914. 2008

10) 田口文広：SARS ウイルスワクチン　日本臨床　特集ワクチン　第66巻　第10号1971-1976.　2008

11) 田口文広：SARS コロナウイルス、バイオセーフティの事典：病原微生物とハザード対策の実際　バイオメディカルサイエンス研究会編集　医学評論社 275-277. 2008

12) 松田俊二，野田雅博：重症心身障害児（者）病棟における感染症流行について　医療 62(12).679- 683.2008

13) 野田雅博，水田克巳，木村博一：ウイルス検査診断の実際　チャイルドヘルス 11(11).761-763. 2008

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Odagiri,T., : Antiviral resistance surveillance of influenza viruses in Japan, Workshop on antiviral resistance monitoring, The 2nd Meeting of National Influenza Centers in the Western Pacific and South East Asia Regions, Tokyo, April 21-24, 2008

2) Odagiri,T., : Influenza surveillance in Japan, The 2nd Meeting of National Influenza Centers in the Western Pacific and South East Asia Regions, Tokyo, Japan, 21-24 April 2008

3) Ujike, M., :Molecular characteristics of influenza viruses isolated in recent years in North and East Asia including Mongolia, The Fourth National Influenza Workshop, Mongolia, October 9-10, 2008

4) Kageyama,T. : Overview of Laboratory Diagnosis Systems for H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza in Japan, GHSI Pandemic Influenza Working Group and Laboratory Network Diagnostics Workshop, Washington, D.C., November 5-6, 2008

5) Kato, A., Kiyotani, K., Kubota , T., Sakaguchi, T. , Yoshida T., Tashiro, M: Sendai virus V protein and host innate immunity, XIV International Congress of Virology, Istanbul, August 10-15, 2008

6) Kubota T, Matsuoka M, Chang T-H, Tashiro M, Kato A, Ozato K: Ebola virus VP35 interacts with host microtubule associated transporter dynein LC8 XIV, International Congress of Virology, Istanbul, August 10-15, 2008

7) Kidokoro, M., Saika, S., Kato, A., Nagata, N., Ami Y.,

Suzaki Y., Kubota T., Okabe, N., Ichinohe, S., Tashiro, M: Novel animal model for mumps virus neurovirulence safety test: Evaluation of the neurovirulence of mumps vaccines in common marmosets, XI World Congress on Vaccines, Immunisation and Immunotherapy, Milan, September 23-25, 2008

8) Matsuyama S, Taguchi F. Conformational Changes Mediated by Receptor Binding and Proteolysis of a Coronaviral Envelope Glycoprotein, The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Japan September 8-11, 2008

2. 国内学会

1) 長谷川秀樹、一戸猛志、相内章、田村慎一、小田切孝人、田代眞人、倉田毅、佐多徹太郎：キノコ類菌糸体抽出物を用いた経鼻粘膜ワクチンによる粘膜免疫増強作用とインフルエンザウイルスの感染防御　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

2) 池野大介、来海和彦、後藤修郎、板村繁之、小田切孝人、田代眞人、城野洋一郎：BALB/cマウスを用いたパンデミックワクチン投与法の検討　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

3) 氏家誠、小渕正次、影山努、白倉雅之、岸田典子、島袋梢、望月菊、堀川博司、加藤裕美子、山田隆一、藤田信之、田代眞人、小田切孝人：2007/08シーズンに分離されたH275Yマーカーをもつインフルエンザウイルス A/H1N1オセルタミビル耐性株の国内発生状況　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

4) 川上千春、小渕正次、氏家誠、七種美和子、野口有三、小田切孝人、田代眞人：横浜市におけるオセルタミビル耐性A/H1N1型インフルエンザウイルスの解析　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

5) 小渕正次、氏家誠、板村繁之、影山努、白倉雅之、原田勇一、岸田典子、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、田代眞人：2007/08シーズンのインフルエンザ流行株と平成20年度のワクチン株　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

6) 牧角啓一、来海和彦、深田勝彦、西村知裕、工藤康宏、後藤修郎、小田切孝人、田代眞人、城野洋一郎：ワクチン製造用無血清培地浮遊培養MDCK細胞におけるインフルエンザウイルスの増殖性および性状解析　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

7) 岸田典子、影山努、白倉雅之、今井正樹、中村雅子、石崎徹、山岡政興、押部智宏、稲元哲朗、島津幸枝、千々和勝巳、小田切孝人：国内に飛来する野生水禽が保有する鳥インフルエンザウイルスの調査　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

8) 高橋宣聖、阿戸学、二宮愛、長谷川秀樹、小田切孝人、佐多徹太郎、田代眞人、小林和夫：H5N1(NIBRG-14)ワクチンの感染防御効果には、抗ヘマグルチニン抗体と抗ノイラミニダーゼ抗体の両者が関与する　第12回日本ワクチン学会、熊本、2008年11月

9) 河野直子、板村繁之、小田切孝人、田代眞人、多田善一、城野洋一郎、池田富夫、五反田亨：新型インフルエンザワクチンの効果判定の指標としての抗体価測定法（HI試験及び中和試験）の再現性と感度の比較　第12回日本ワクチン学会、熊本、2008年11月

10) 長谷川秀樹、一戸猛志、網康至、永田典子、田村慎一、小田切孝人、田代眞人、倉田毅、佐多徹太郎：経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンのカニクイザルを用いた効果検討　第12回日本ワクチン学会、熊本、2008年11月

11) 小田切孝人：新型インフルエンザワクチン　第12回日本ワクチン学会、熊本、2008年11月

12) 小田切孝人：新型インフルエンザ診断検査対応方針案について　平成20年度希少感染症診断技術研修会　東京2009年2月

13) 小渕正次、氏家誠、板村繁之、影山努、白倉雅之、原田勇一、岸田典子、小田切孝人、田代眞人：今シーズンのインフルエンザ流行株の状況と来期のワクチン株について　衛生微生物技術協議会第29回研究会、東京、2008年6月

14) 松嵜葉子、三條加奈子、須藤亜寿佳、青木洋子、水田克巳、氏家誠、小渕正次、小田切孝人、田代眞人：山形県におけるオセルタミビル耐性 H1N1 インフルエンザウイルスの分離と一小学校での流行　第 85 回日本小児科学会山形地方会、山形、2008 年 12 月

15) 田島かおる、松峯祥子、外崎郁美、三條加奈子、青木洋子、須藤亜寿佳、水田克巳、氏家誠、小渕正次、小田切孝人、田代眞人、松嵜葉子：オセルタミビル耐性 A/H1N1 ウイルスによると考えられた一小学校でのインフルエンザの流行　第 35 回山形県公衆衛生学会、山形、2009 年 3 月

16) clade の異なる風疹ウイルスに対する人血清中の中和活性の比較、大槻紀之、田代眞人、駒瀬勝啓、第 49 会日本臨床ウイルス学会、犬山、2008 年 6 月

17) フックス虹彩異色性虹彩毛様体炎における風疹ウイルスの関与、鈴木潤、後藤浩、駒瀬勝啓、第 62 回日本臨床眼科学会、東京、2008 年 10 月

18) わが国における麻疹および風疹に対する抗体保有状況(2007 年度感染症流行予測調査事業から)、佐藤弘、多屋馨子、駒瀬勝啓、田代眞人、岡部信彦、第 12 回日本ワクチン学会学術集会、熊本、2008 年 11 月

19) 風疹、ムンプスウイルスの envelope 蛋白を発現する組換え麻疹ワクチン株の作製、樋口彰、駒瀬勝啓、中山哲夫　第 12 回日本ワクチン学会学術集会、熊本、2008 年 11 月

20) RS ウイルス、インフルエンザウイルスの外殻タンパクを発現するキメラ麻疹ウイルスの作製　澤田成史、駒瀬勝啓、中山哲夫、第 12 回日本ワクチン学会学術集会、熊本、2008 年 11 月

21) 麻疹ウイルスワクチン株 CAM-70H 蛋白の CD46 と SLAM の利用能は低い、加藤誠一、扇本真治、Luna Batta Sharma, 綾田稔、竹田誠、竹内薫、駒瀬勝啓、庵原俊昭、小倉寿、第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

22) 關文緒、山田健太郎、染谷健二、駒瀬勝啓、田代眞人：SSPE ウイルス SI 株のリバースジェネティクス系の構築　第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

23) 神経芽腫細胞(SH-SY5Y)におけるムンプスウイルス増殖に重要な領域の同定、竹内薫、藤枝奈緒、中山哲夫、駒瀬勝啓、永田恭介、第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

24) Amino acid substitutions in matrix(M), fusion (F) and hemagglutinin (H) proteins of wild measles virus for adaptation to Vero cells, Yi Xin Ji, 駒瀬勝啓、庵原俊昭、中山哲夫　第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

25) 加藤篤、清谷克寛、久保田耐、坂口剛政、吉田哲也、田代眞人：インターフェロンλがセンダイウイルスの増殖に及ぼす影響　第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

26) 入江崇、永田奈津子、岡本功、加藤篤、坂口剛政：センダイウイルス C 蛋白質の自然免疫応答に対する機能的多様性　第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

27) 木所稔、齋加志津子、田代眞人、加藤篤：リバースジェネティクスによって作成したムンプスウイルスの病原性は原株の性状を反映しない、第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

28) 木所稔、網康至、須崎百合子、永田典代、長谷川秀樹、久保田耐、田代眞人、岡部信彦、加藤篤：マーモセット感染モデルによるムンプスワクチン株の中枢神経病原性の評価, 第 12 回日本ワクチン学会学術集会、熊本、2008 年 11 月

29) 久保田耐、松岡眞由美、張聡賢、田代眞人、加藤篤、尾里啓子：IRF3/IRF7 のウイルス感染依存的 SUMO 化修飾はインターフェロンの産生を負に制御する　第 31 回日本分子生物学会年会、神戸、2008 年 12 月

30) 田口文広、川瀬みゆき、白戸憲也、松山州徳：ヒトコロナウイルス（HCoV）229E の細胞侵入機構解析、第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

31) 松山州徳、田口文広：マウスコロナウイルス S タンパクの２段階構造変化の解析　第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月

32) 平井明香、大塚伸久、池田敏男、谷口理恵、中垣慶子、鈴木秀佳、網康至、山田靖子、糸原重美、田口文広：マウス系統間におけるマウス肝炎ウイルス感受性差に関する研究 第 56 回日本ウイルス学会総会、岡山、2008

年10月

33) 白戸憲也、前嶋円、平井明日香、松山州徳、網康至、川瀬みゆき、田口文広：Porcine epedemic diarrhea virus (PEDV)のウイルス馴化株の分離と性状解析　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

34) 田口文広、白戸憲也、網康至：パスツレラ感染マウスを用いた病原性SARSコロナウイルスの分離　第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

35) 白戸憲也、田口文広：Respiratory syncytial virus (RSV)感染における肥満細胞の役割 第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008年10月

４．細菌第一部

部長　渡邉治雄

概　要

細菌学会黒屋奨励賞を、昨年度の伊豫田に引き続き、今年は高橋が受賞したことは喜ばしいことである。細菌第一部からだけではなく細菌第二部からも同時に出ていることからも、感染研における細菌関係の若手の研究者が学会に認められるよい仕事をしていることの証でもあり更にうれしいことである。選考委員の個人的意見として、大学は独法化により、資金的および時間的締め付けが厳しくなると同時に、期限付採用が多くなっているので落ち着いて研究できる環境ではなくなっており、若手が学会賞の対象となるようなよい業績を上げにくくなっている。それに比べると研究機関は羨ましいという言葉を耳にする。確かに感染研では今でも終身雇用として採用される人が多いので、腰を据えたテーマで研究しやすい環境にはある。各自がその利点を大いに認識し、さらなる向上を励んでほしいものである。良い実績をあげているさらなる多くの若手がいるので、一つの励みとして黒屋奨励賞を目指してほしい。４０歳未満が対象であるので、年齢的に残念な人も多くいることは確かであり、それらの人は小林六造記念賞を目指してほしいと期待している。研究は何も学会賞を取ることが目的ではないが、励みになることは確かである。

今年度の研究としても、昨年度と同様に細菌第一部の各室が担当する細菌（腸管出血性大腸菌、サルモネラ、赤痢菌、腸チフス菌、ビブリオ等の腸内細菌、レジオネラ、レンサ球菌、肺炎球菌、レプトスピラ、ボレリア、髄膜炎菌、淋菌、セラチア、梅毒スピロヘータ―、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（アジア連携、パルスネット構築、人畜共通感染症，薬剤耐性機序、劇症型レンサ球菌感染症、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、厚生労働省科学研究費健康安全・危機管理対策総合研究事業（レジオネラ感染症)、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。

高橋英之が「髄膜炎菌の病原性に関する研究」の成果により平成 21 年 3 月に細菌学会黒屋奨励賞を受賞した。部の人事としては、中尾龍馬がスウェーデンに留学のため平成 20 年４月から休職し、平成 20 年 5 月 1 日付で、河原井武人が研究職員（任期付き）として採用された。

研究業績

Ⅰ．腸管出血性大腸菌（志賀毒素産生性大腸

菌）に関する研究

(1)血清型に関する研究

平成 20 年度に細菌第一部に送付されたヒト由来の志賀毒素産生性大腸菌は総計 2,866 株で、分離頻度の多い O 血清群の順に O157（約 71%: H7, H-），O26（約 16%: H11, H-），O111（約 4.6%: H-），O145（約 1.9%：H-），O121（約 1.4%: H19, H-)，O103（約 1.3%: H2, H11, H51, HUT, H-），O91（約 1.2%: H14, H21, H51, HUT, H-），O165（約 0.59%: H-）で構成されており、その他（約 2%）は少なくとも 31 の O 血清群、50 の血清型に分類された。1997 年から 2008 年までに HUS 患者から単離された株で最も多い O 血清群は O157 で全体の約 89%を占める。分離総数が少ないものの、HUS 患者からの分離数が比較的多い O 血清群として、O121 と O165 が注目される（伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡邉治雄)。

(2)腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2008 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 1959 株および O26, O111 等を含むその他の血清型 745 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。2008 年分離の O157 については、*Xba*I 消化により 963 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（11～24 ヶ所）から分離されたパターンとして、Type No.(TN) c47, c57, c293, d92, d148 の 5 種類があった。これらの 5 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。分離株の示す PFGE パターンが異なっているものの、例年に引き続いて広域に及ぶ同一 PFGE タイプの O157 による事例が発生していることが明らかになった。広域事例発生を早期に探知してその拡大を阻止し得る監視網の充実とともに原因究明に向けた対策が重要である。(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 c47, c57, c293, d92, d148 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。PFGE で同一パターンを示す株のなかでも、MLVA により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、遺伝学的に異なる株が存在することが示唆された。一方、PFGE に加え MLVA においてもすべての遺伝子座でリピート数が一致する株については、その遺伝子構成が極めて類似していることが示唆された。さらに、24 都府県から 56 株が分離されている TN d148 では、55 株が *Bln*I パターンにおいても同一パターンを示し、44 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 6 株あったことから、TN d148 56 株中 50 株については、やはり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（BioNumerics）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)病原性遺伝子群 LEE の発現制御に関する研究

腸管出血性大腸菌の多くは、LEE と呼ばれる病原性遺伝子領域を保有する。LEE は 3 型蛋白質輸送装置や宿主細胞へ局在する作用因子などをコードしており、これらの機能は宿主細胞への強固な接着に必須である。LEE の発現は LEE にコードされるセントラルレギュレータ Ler によって正に制御される。*ler* の転写は LEE 領域外に散在的にコードされるマスターレギュレータ PchA, PchB, PchC によって正の制御を受ける。昨年度構築した染色体上の *pch* 遺伝子と *lacZ* の融合遺伝子の活性を指標に、環境変化に応答した LEE の発現制御機構について研究を開始した。

ア）*pch* の転写活性とプロモーター構造の解析

pchA-, *pchB-*, *pchC-lacZ* 遺伝子の転写量を解析した結果、いくつかの環境（培養）条件で LEE の発現変化に同調して、*pch* の転写活性が変化することが明らかとなった。すなわち、Pch は様々な環境シグナルを統合し、LEE の発現調節を行う制御因子であると考えられる。*pch* の転写制御機構を解明する目的で、キャピラリー型オートシークエンサーを用いた 5'-RACE 法およびプライマー伸長法から *pchA*, *pchB* および *pchC* の転写開始点とプロモーター構造をそれぞれ明らかにした（本田尚子[東大・院医・博士課程]、伊豫田淳、寺嶋淳、渡邉治雄)。

イ）トランスポゾン挿入変異法による *pchA* の転写制御因子の同定

染色体上に *pchA-lacZ* 遺伝子を保有する腸管出血性大腸菌 O157 株に Tn*5* をランダムに挿入した変異ライブラリーを構築し、*pchA* の転写活性が低下した変異株をスクリーニングした。その結果、グラム陰性細菌に広く存在し、LysR ファミリーに属する転写制御因子をコードする *lrhA* に Tn*5* が挿入されたいくつかの変異株では *pchA* の転写活性が顕著に低下していた。この現象は *lrhA* を運ぶ低コピープラスミドによって相補されたことから、LrhA は *pchA* の転写活性化因子であることが示唆された（伊豫田淳、佐藤人美、本田尚子、寺嶋淳、渡邉治雄)。

ウ）LrhA による LEE 遺伝子の発現制御機構の解析

野生株と比較して *lrhA* の欠損株では *pchA* と *pchB* の転写活性が低下し、LEE にコードされる 3 型分泌蛋白質 EspB, EspD, EspA の発現レベルが顕著に低下することが判明した。

pchA と *pchB* の LrhA 依存性の転写に必要な調節領域をプロモーター上流の欠失解析によって同定した。精製した His-LrhA 蛋白質は、これらの欠失解析で明らかとなった転写調節領域に結合することを non-RI のゲルシフト法および DNaseI フットプリンティング法によって明らかにした（本田尚子、伊豫田淳、寺嶋淳、渡邉治雄)。

(6)腸管出血性大腸菌のエフェクタータンパク質 EspFu の機能解析

EspFu は III 型分泌装置を介して宿主細胞へ局在するエフェクタータンパク質である。宿主細胞内における EspFu の分子機構を解明する目的で、EspFu と相互作用する宿主因子の探索を行った。その結果、EspFu と宿主因子 IRSp53 の結合が認められ、上皮細胞内におけるそれらの相互作用によって細胞膜の再構築が誘導されることが明らかとなった。(石原朋子、泉谷秀昌、寺嶋淳、渡辺治雄)

II. サルモネラに関する研究

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

2008 年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 232 株（うち、2008 年分離株は 155 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 2008 年の集団事例 13 件のファージ型（PT）の内訳としては、PT14b が 6 件（46%)、PT21 が 3 件（23%)、PT4 が 2 件（15%)、PT1 および 47 が各 1 件（8%）であった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、渡辺治雄)

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

2008 年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株 33 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 15 株であった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、渡辺治雄)

(3)鶏肉由来 *S.* Infantis 株の解析

ヒト、鶏肉、トリ由来の *S.* Infantis 株について PFGE による遺伝子型別を行った。これらの株には *bla*CMY-2、*bla*CTX-M-14 などを保有するセフェム系抗菌薬耐性株も含まれていた（但しヒト由来株は除く)。解析の結果、ヒト、食品、トリの株が同じクラスターに含まれうることがわかり、由来に応じたクラスターを形成するわけではないことが明らかとなった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、渡辺治雄、松本裕子（横浜市衛研)、田口真澄（大阪府公衛研)、倉園貴至（埼玉県衛研)、甲斐明美（東京都健安研)、浅井鉄夫（動薬検))

(4)サルモネラ血清型別

2008 年に依頼、送付された 28 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、Newport, Poona, Infantis, Offa などであった。亜種ＩＩＩb、IV の株もあり、血清型はＩＩＩb 61:l,v:1,5、IV 50:z4,z23:-であった。(泉谷秀昌、工藤珠代、高井信子、李志英、渡辺治雄)

(5)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

2008 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 49 株、パラチフス A 菌 21 株であり、例年と比べて大きな増減はなかった。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、E9、M1 型であった。パラチフス A 菌ではファージ型 1、2 型が多かった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、渡邉治雄]

(6)日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性試験

2008 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感受性を検討した。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 16 剤を用いた。感受性試験の結果、チフス菌で約 71.4%、パラチフス A 菌でも約 71.4%がニューキノロン低感受性であった。また、第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示すチフス菌が 1 株検出されたが、ニューキノロン耐性チフス菌・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]

(7)*Salmonella* SPI-2 遺伝子の 1 つ、*ssaB* の *ssrAB* 非依存的発現制御機構の解析

Salmonella の SPI-2 遺伝子群は、宿主細胞内での菌の生存、増殖に必須であり、その発現には master regulator、*ssrAB* が必須であり、「栄養飢餓かつ低 pH」条件で特にその発現が上昇する。SPI-2 中 *ssaB* だけは、*ssrAB* 非存在下でも低 pH に反応して発現上昇する。*ssaB* は SPI-2 の TTSS apparatus であるが、同時に effector でもあり、また Salmonella の鞭毛遺伝子発現を調節する制御因子でもあることなどが近年になって報告され、SPI-2 の中でも特異な存在と目されている。このことから、*ssaB* 特有の *ssrAB* 非依存的制御機構解明は有意義と思われる。解析の端緒として *ssaB* 発現 reporter 用の *ssaB*'-'*lacZ* 転写融合遺伝子を含む plasmid を作製したが、この plasmid からの *ssaB* 発現は既報のような *ssrAB* 非依存的な低 pH 下での上昇を示さなかった。*ssaB*'-'*lacZ* 転写融合遺伝子を染色体上に組み込んだ株では、前述の制御が再現できた。現在この株に Tn*5* での random mutagenesis を行い、*ssaB* 発現が低 pH でも上昇しない mutant、及び、高 pH でも発現が高い mutant をスクリーニングしている。 (中山周一、渡辺治雄)

III. ビブリオに関する研究

(1)平成 20 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 20 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 84 株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus* および *Aeromonas* spp.が含まれ、66.7%(56)は国外(バングラデシュ-29、イタリア-14、米国-13)から依頼された。国内株 28 株は 12 株が *V. cholerae* non-01, non-0139 で、01 コレラ菌が 7 株、*Aeromonas* spp.が 9 株であった。国内株のうち 9 株の *Aeromonas* spp.は河川から分離されたものであり、6 株の *V. cholerae* non-01, non-0139 は海水から分離されたものであった。また、別の国内株 6 株の *V. cholerae* non-01, non-0139 については、下痢症患者から分離されたものであり、渡航者の検疫所での検出であった。これまで検疫所においては

年間 100 例前後の検出例があり、海外ではコレラ菌のみならず *V. cholerae* non-01, non-0139 による下痢症に対しても注意すべきである。この菌については病原因子が不明なため血清型別や遺伝子型別等の疫学情報の解析、蓄積が重要であると考えられる。(荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌)

(2)変異エルトール型コレラ菌の遺伝的多様性

現在のコレラ流行株である古典型コレラ毒素を産生するエルトール型コレラ菌（変異エルトール型コレラ菌）の分離株間の遺伝的多様性を、*Not*I 消化による PFGE 及び 7 遺伝子座を用いた MLVA により解析した。いずれの分子疫学解析を用いても、変異エルトール型コレラ菌はサブタイプに分類されたことから、変異エルトール型コレラ菌株間には遺伝的多様性が存在していることが明らかとなった。［森田昌知、泉谷秀昌、荒川英二、山本章治、大西 真、渡邉治雄］

(3)*Vibrio cholerae* における III 型分泌装置遺伝子群の分布

環境由来 110 株、患者由来 14 株の *V. cholerae* について、III 型分泌装置遺伝子群の有無を PCR により判別し、陽性菌株については O 血清型別を行った。その結果、環境由来 110 株中 10 株が陽性であった。それらの血清群の内訳は、O6 が 3 株、O12 が 2 株、O39、O54、O84、O103 がそれぞれ 1 株ずつであり、1 株はラフ型菌であった。患者由来株はラフ型菌 2 株が陽性を示した。全ての陽性菌株は、コレラ毒素遺伝子を保有していなかった。[森田昌知、大倉正稔（農研機構・動衛研)、泉谷秀昌、荒川英二、山本章治、大西 真、渡邉治雄]

(4)*V. parahaemolyticus* の食品からの迅速検査法に関する研究

平成 18 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「食品における微生物迅速検査法の開発及びその精度評価システムに関する研究」(主任:小崎俊司)において、腸炎ビブリオの食品からの検査法について、標準試験法を基準としてそれよりも迅速な検査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。PCR 法は酵素反応による DNA 増幅であるため、食品由来成分による酵素反応の阻害での偽陰性も問題となる。すでに *toxR* 遺伝子を標的とした *V. parahaemolyticus* に特異的な PCR 法を新たに開発したが、そこに pBR322 由来の DNA 断片に *toxR* 遺伝子増幅用 primer 配列を持たせた内部陽性コントロール DNA(positive control template; PCT)を PCR 反応液に添加する事を試みた。標的遺伝子の検出において、PCT 添加による感度の変化や非特異反応等は認められず、魚介類を材料とした場合においても良好な成績が得られた。(荒川英二；磯部順子(富山県衛生研究所)、緒方喜久代(大分県衛生環境研究センター)、宮原美知子(国立衛研))

(5)コレラ菌の遺伝子を迅速に改変する手法

の確立

λ Red recombinase を利用した遺伝子組換え法（λ Red recombineering）は，遺伝子を迅速に改変する上で有用な技術であるが，その適用範囲は大腸菌やサルモネラなどごく一部の細菌に限られている。本研究は，この技術をコレラ菌（*Vibrio cholerae*）の遺伝子操作に応用し，その遺伝子機能解析を容易にする目的で行われた。λ Red recombineering に用いられる組換えの供与 DNA は，改変部位の上流と下流それぞれに相同な配列（相同拡張配列）に両端を挟まれた薬剤耐性カセットである。相同拡張配列の長さは組換え効率の決定因子の一つであり，大腸菌においては 50bp 程の配列が必要とされる。まず，コレラ菌の *ctxB* を欠失させるために，相同拡張配列を様々な長さで含む供与 DNA を PCR 増幅し，これらをλ Red recombinase を発現させた菌細胞に導入した。その結果，相同拡張配列を 100bp 以上含む供与 DNA を用いた場合のみ，*ctxB* を欠失させることができた。さらに，他の遺伝子(*toxT* など)を欠失させる場合でも，供与 DNA の相同拡張配列は 100bp 以上必要であった。以上の結果より，コレラ菌においてλ Red recombineering を行う場合には，少なくとも 100bp の相同拡張配列を含む供与 DNA が必要であると結論された。(山本章治、泉谷秀昌、森田昌知、荒川英二、渡辺治雄)

IV. 赤痢菌

(1)赤痢菌の遺伝子型別

2008 年に依頼、送付された赤痢菌 87 株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。2008 年夏に輸入イカが原因と疑われた事例について、複数の県からの菌株について PFGE クラスターの集積が観察された。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、石原朋子、渡辺治雄)

(2)*Shigella sonnei* の MLVA による遺伝子型別法の検討

1998 年から 2005 年までの海外渡航歴のある患者から分離された *S. sonnei* 株について 8 遺伝子座による multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA)の検討をおこなった。195 株について検討した結果、分解能（Simpson’s index of diversity）は 0.993 と高い値を示し、その有用性が示唆された。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、石原朋子、渡辺治雄)

(3)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。一連の研究はアクチベーターである InvE 蛋白が、細菌の主要な RNA 結合蛋白である Hfq 蛋白を介して発現調節される機構を初めて明らかにした。また、遺伝的に同定された機能未知の蛋白 YfgA の欠損株を作製したところ、Hfq 欠損株と同様に、翻訳レベルで InvE 発現が増加し、温度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、*yfgA* 変異体では invE-mRNA が安定化していることが示された。(三戸部治郎、渡辺治雄)

(4)赤痢菌感染による細胞破壊抑制機構の機能解析

これまでの研究から、赤痢菌野生株は感染細

胞の生存を維持する機構（破壊抑制機構）を持つことが示唆されている。赤痢菌による感染細胞の破壊抑制機構においてどのような分子メカニズムが関与しているのかを明らかにするために、抗リン酸化特異抗体を含む抗体マイクロアレイ解析によって感染細胞の細胞内シグナル分子の挙動をモニタリングした。本実験には野生株および細胞侵入に必要とされる最小限の病原因子のみを保有する変異株の感染細胞を用い、それらの比較解析を行った。その結果、いくつかの細胞内シグナル分子（DNA の損傷、細胞周期に関与するシグナル分子など）において発現量およびリン酸化/脱リン酸化の相違、ならびにその経時的変化が認められた。(石原朋子、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡辺治雄)

V. レンサ球菌に関する研究

(1)日本における 2007 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2007 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、1682 株であり、1663 株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、T12（389/1663, 23.4%)、T1（278/1663, 16.7%)、T4（225/1663, 13.5%)、T6（189/1663, 11.4%)であった。T12、T1、T4 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。T6 型の分離比率は、2006 年と比較して急激に上昇した。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研)、大屋日登美（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)、勝川千尋（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

2007 年、38 症例報告があり、そのうち 36 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 14 例の *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 3 例の *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。T12 分離株 3 例は、2 例が *emm12*（M12）型、1 例が *emm22*（M22）型であった。T28 分離株 3 例は、すべて *emm28* 型（M28 型 1 例、型別不能 2 例）であった。T4 分離株 2 例は、すべて *emm4*（M4）型であった。2 例で分離された T14/49 型の *emm* 遺伝子は、それぞれ *emm49, emm113* と相同性を示し、M 血清型別は型別不能であった。1 例ずつ分離された T22, TB3264, T5/27/44 型株の *emm* 型は、それぞれ *emm22*（M22)，*emm89*（M 型別不能)，*emm91*（M 型別不能）であった。T 型別不能株 6 株の *emm* 型は、*stg485*（M 型別不能）が 2 株、*emm9*（M 型別不能)、*emm12*（M12)、*emm53*（M 型別不能)、*stg245*（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)、大屋日登美（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)、勝川千尋（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

2007 年、3 症例報告があり、そのうち 2 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。これら劇症型感染症患者分離株の *emm* 遺伝子型を行った結果、*stg652, stg2078* 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）、大屋日登美（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）、勝川千尋（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

2007 年、劇症型 C 群レンサ球菌感染症は 1 例の報告があった。この株の *emm* 型は、*st11929*(NIH438)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）、大屋日登美（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）、勝川千尋（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)日本における非 A, B, C, G 群溶血性レンサ球菌による劇症型/重症レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株

2007 年、重症レンサ球菌感染症の報告があり、生化学的性状および 16S rDNA の配列から *S. intermedius*（NIH407）によることが明らかとなった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄；岡崎則男、大屋日登美（神奈川衛研）、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

(6)日本における劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症の薬剤感受性試験

2007 年に発症した劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした 53 株について薬剤感受性試験を行った。エリスロマイシンに対し、24.5%の株が、耐性を示した。また、クリンダマイシン、テリスロマイシンに対し、5.7%の株が、耐性を示した。シプロフロキサシンに対し、9.4%が低感受性、1.9%が耐性を示した。一方、ペニシリン G、アンピシリン、セファゾリン、セフォタキシム、イミペネム、パニペネムに対して感受性を示した。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、大屋日登美（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）、勝川千尋（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)劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の菌の遺伝的特徴と免疫回避機構

劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした *emm49* 型株について調べたところ、共通してセンサー蛋白質をコードする *csrS* 遺伝子に変異が起きていることが判明した。この変異により、様々な病原遺伝子の発現が上昇していることが判明した。この変異により発現が上昇したストレプトリジン O と IL-8 プロテアーゼの作用によりにより、好中球による貪食から回避していることが判明した。[池辺忠義、川端寛樹、渡邉治雄；阿戸学、小林和夫（免疫部）、竹森利忠（理研）]

VI. レジオネラに関する研究

(1)Ethidium monoazide (EMA) 処理と Real-time PCR のコンビネーションによって環境水からレジオネラ生菌のみを定量解析できる検査法の開発

レジオネラ属菌は人工的水利用設備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、これらの水利用設備は定期的に清掃、消毒、レジオネラの培養検査が行われている。しかし、レジオネラの培養には時間 (4-7 日) がかかり、環境や患者由来検体よりレジオネラを迅速に検出できる方法の開発が求められている。Ethidium monoazide (EMA) は特異的に死菌の損傷した細胞膜を透過し、その菌の染色体 DNA に結合し、可視光の照射により DNA を切断することができ、PCR 増幅を抑制できる。我々は EMA のこの特性を利用し、PCR/real-time PCR によって生菌のレジオネラ DNA のみを検出する方法を試した。昨年度は実験室内で調製した菌液を用い、EMA 処理したレジオネラ死菌の 16S rRNA 遺伝子をターゲットとする Real-time PCR により推測された菌数は EMA 処理しない場合の菌数の 10^{-4}-10^{-5} となったことを報告した。本年度、環境水サンプルを用いて、レジオネラ生菌のみの定量解析を行った。その結果、この方法で環境水からレジオネラの生菌のみを迅速に検出できることを明らかにした。(常彬、前川純子、倉文明、渡辺治雄)

(2)Ethidium monoazide (EMA) 処理および 5S rRNA 遺伝子をターゲットする 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

EMA 処理およびレジオネラ 16S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR のコンビネーションは環境中のレジオネラ生菌のみを迅速に検出できるが、PCR 増幅するフラグメントの長さは約 460 bp で、検出感度 (≧ 100 CFU/100 ml) が低かった。一方、レジオネラの 5S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR の増幅するフラグメントの長さは 108 bp で、検出感度 (1 CFU/100 ml) が高かった。検出感度を上げるために、我々は EMA 処理および 5S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR のコンビネーションによる定量解析を試した。その結果、Real-time PCR により推定された環境水中のレジオネラの菌数は培養で得られた実際な生菌数より多かった。EMA 処理および 5S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR のコンビネーションでは環境水の中に含まれているレジオネラ死菌の PCR 増幅を完全に抑制することができなかった。その理由として: 1)16S rRNA および 5S rRNA 遺伝子のフラグメントの長さの差による PCR の増幅効率の違い ; 2) EMA の 16S rRNA と 5S rRNA 遺伝子 DNA への結合率の差による PCR 増幅阻害率の違いが考えられた。(常彬、前川純子、倉文明、渡辺治雄)

(3)掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染

ア)レジオネラ汚染の実態

2005 年 6 月～2006 年 12 月の期間、全国の循環系を持たない掛け流し式温泉 182 施設を対象に、レジオネラ属菌等の病原微生物汚染調査を行い、29.5% (119/403) の試料からレジオネラ属菌を検出した。採取地点別の検出率は浴槽が 39.4%と最も高く、貯湯槽 23.8%、湯口 22.3%、源泉 8.3%と続いた。陽性試料の平均菌数(幾何平均値)は 66 CFU/100mL で、

菌数の最高値は源泉、貯湯槽、湯口でそれぞれ 180、670、4,000 CFU/100mL と増加し、浴槽では 6,800 CFU/100mL に達した。陽性試料の 84.7%から *Legionella pneumophila* が分離され、血清群（SG）別では SG 1、5、6 がそれぞれ 22、21、22%と同程度の検出率であった。

イ）レジオネラ汚染とそのリスク因子

レジオネラ属菌の汚染に関与する構造設備及び保守管理の特徴を明らかにするため、浴槽と湯口上流側とに分けて、多重ロジスティック回帰分析を行った。浴槽での汚染リスクは、湯口水がレジオネラに汚染されている場合（OR＝6.98, 95%CI＝2.14～22.8）及び浴槽容量が 5m^3 以上の場合（OR＝2.74, 95%CI＝1.28～5.89)に高く、pH 6.0 未満(OR＝0.12, 95%CI＝0.02～0.63)では低下した。同様に, 湯口上流では pH 6.0 未満（OR＝0.06, 95%CI＝0.01～0.48)及び 55℃以上(OR＝0.10, 95%CI＝0.01～0.77）でレジオネラ汚染を抑制した。レジオネラ属菌以外の病原微生物として抗酸菌、大腸菌、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌を検査し、汚染の実態を明らかにした。〔烏谷竜哉、井上博雄(愛媛県立衛生環境研究所)；黒木俊郎(神奈川県衛生研究所）、大谷勝実(山形県衛生研究所）、山口誠一(元山形県村山保健所)、佐々木美江(宮城県保健環境研究所)、 齊藤志保子(秋田県衛生科学研究所)、藤田雅弘(群馬県衛生環境研究所)、杉山寛治(静岡県環境衛生科学研究所)、中嶋　洋(岡山県環境保健センター)、村上光一(福岡県保健環境研究所)、田栗利紹(長崎県環境保健研究センター)、 藏元　強(鹿児島県伊集院保健所)；倉　文明、前川純子；八木田健司、 泉山信司（寄生動物部)；山崎利雄（バイオセーフティ管理室)； 縣邦雄（アクアス（株）つくば総合研究所)〕

(4)クロラミンによるレジオネラに対する不活化作用

結合塩素として作用する消毒薬であるモノクロラミンについて、pH 7.5 および pH 8.8 の緩衝液に *Legionella pneumophila* 血清群 1（Nagasaki 80-045 株）を浮遊させ、40℃で静置し、一定時間後に採取して、その中の生菌数を BCYEα培地でコロニー数として求めた。10 分あるいは 30 分間の実験期間中、全残留塩素の減少は 9.3%未満であった。pH 7.5 では、1.0 mg/L の残留塩素濃度で、10 分以内に生菌は非検出（対数で<- 4.31）となった。3.0 mg/L では 5 分以内で非検出、5.6 mg/L では、2 分以内で非検出となった。一方、pH 8.8 では pH 7.5 に比べ不活化効果が緩やかになり、非検出となるまでの時間は約 2 倍に延びた。1.1 mg/L の残留塩素濃度で 20 分以内に生菌は非検出､3.1　mg/L では 9 分以内で非検出、6.1　mg/L では 5 分以内で非検出となった。不活化効果は 2 相性で、緩やかな殺菌とその後の急速な殺菌が見られた。急速な不活化に至るまでの時間はモノクロラミンの濃度に依存した。さらに種々の血清群の *L. pneumophila* 浴槽水由来 9 株も 1.1 mg、30 分処理で非検出となった。これらのことから、*L. pneumophila* の消毒には 1 mg/L で十分に有効であった。〔倉　文明、遠藤卓郎、渡辺治雄；泉山信司（寄生動物部)〕

(5)DNA-DNA ハイブリダイゼーション（DDH）による新菌種の同定

日本の環境水から分離されるが市販の DDH キットで同定できないレジオネラ属菌種を

DDH 法により同定するため、*L. busanensis*、*L. greisilensis*、*L. londiniensis*、*L. nautarum*、*L. quinlivanii* の 5 菌種について基準株間の相対類似度の測定・検査精度の検討を行った。その結果、これまで *mip*、16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定で同定されていた *L. londiniensis*、*L. nautarum*、*L. quinlivanii* が DDH でも同定され、塩基配列決定では同定不能であったレジオネラ属菌株が *L. busanensis* と新たに同定された。〔山崎利雄（バイオセーフティ管理室）；前川純子、倉　文明、渡辺治雄〕

(6)レジオネラの迅速検査

ア）qRT-PCR を用いたレジオネラ属菌迅速検査法の検討

簡便、迅速で定量性に優れたレジオネラ属菌の核酸検出法を開発する目的で、レジオネラのリボソーム RNA を鋳型として検出する qRT-PCR 法（逆転写産物を鋳型とした定量 PCR）を検討した。培養法と同様に濃縮した試料をさらに遠心濃縮し、Proteinase K を用いた酵素溶解反応後、カラム精製のステップを省略して希釈するだけの簡便な方法によって逆転写反応用の鋳型 RNA を調製した。これを鋳型として逆転写反応を行った後、市販の DNA 検査試薬を用いて qPCR を実施した。本法は、培養標準株を用いた検量線の検討から高感度検出（qPCR と比較して 1000 倍程度高感度）が可能であること、ならびに、実試料を用いて阻害を受けないことを確認した。実試料の検討結果は、通常のリアルタイム PCR 法と高い相関（R^2=0.771）を示し、これまでの DNA 検査と同様の結果が簡便かつ高感度に得られた。一般に RNA は不安定で速やかに分解されると考えられているが、当該研究においては、rRNA は DNA とほぼ同じ挙動を示し、環境中においても比較的長く保存されていることが示唆された。死菌の rRNA が安定であることは、試験管内試験においても確認した。培養法で 10 CFU/100mL 以上の検体は、qRT-PCR 法の定量値でも 10 CFU/100mL 以上の値を示し、実施した範囲では培養陽性の検体から確実に qRT-PCR 陽性が得られた。本方法を、DNA 検査法にかわる、次世代の検査法として提案したい。〔烏谷竜哉（愛媛県立衛生環境研究所）、青木紀子（愛媛県立衛生環境研究所）、山本純子（タカラバイオ（株）製品開発センター）、泉山信司（寄生動物部）；倉　文明、遠藤卓郎〕

イ）専用試薬による *Legionella londiniensis* の迅速検査

レジオネラ属菌の迅速検査法は培養試験法に比べて短時間に結果が得られることから期待が寄せられているが、迅速検査法と従来の培養試験法の結果に不一致が生じて判断に苦慮する場面がある。特に培養陽性、迅速検査法陰性になった場合が問題となり、理由として阻害による偽陰性、あるいは迅速法で検出できない菌種の培養検出がある。後者で特に問題とされているのは *L. londiniensis* の不検出で、培養で検出されることはしばしばあるが、市販の検査試薬 2 種のいずれも検出しないことが反応特異性の検討結果からすでに明らかとなっている。この *L. londiniensis* を検出するためのプライマーセットを開発し、培養陽性、迅速検査法陰性となった試料のコロニーから PCR および LAMP を行って実際に *L. londiniensis* であることが確認できた〔烏谷竜哉（愛媛県立衛生環境研究所）、佐々木美江（宮城県保健環境センター）、山本純子（タカラバイオ（株）製品開発センター）、安中敏

光（栄研化学（株）生物化学研究所)、泉山信司（寄生動物部)；前川純子、倉　文明、遠藤卓郎〕

ウ）DNA 抽出法の改良

H19 年度提案した DNA 抽出法（酵素溶菌法）の簡便性や精度などに対する改良の必要性から、リゾチーム処理の削除と繰り返し溶出(50 μL で 2 回、計 100 μL）を追加した新プロトコルを作成したことにより、簡便性と精度の改善を実現できた。2log 菌液を用いた 3 連の繰り返し回収実験における回収率の平均±標準偏差は 113.63±9.07%となり、高濃度菌液における回収率も向上した（30～70%から全て 100%超に向上)。改良酵素溶菌法はフミン酸の影響をほとんど受けなかったのに対し、キレックス樹脂法とアルカリ抽出法は、共に 1.6 mg/L 水溶性フミン酸および 0.1mg/L 不溶性フミン酸で阻害されることが明らかとなり、前者のフミン質含有温泉試料適用における優位性が示された。後二者はフミン酸含有試料への適用は制限されるが、簡便性は十分確認されたため白湯などへの応用は可能であると考えられた。さらに、改良酵素溶菌法を基盤とした試作キットが有効であることを実証した。〔田栗利紹（長崎県環境保健研究センター)、泉山信司（寄生動物部)；倉　文明、遠藤卓郎〕

エ）阻害回避試薬を用いた迅速検査

レジオネラ属菌の迅速検査法は培養試験法に比べて短時間に結果が得られることから期待が寄せられているが、迅速検査法は阻害物質による偽陰性が問題となる場合がある。アルカリ熱抽出法は簡便な鋳型調製法として好まれているが、フミン酸等の影響を受ける場合があることから温泉試料等への適用には注意が必要で、利用は白湯など阻害物質が含まれないと考えられる試料に限定されていた。当該研究では反応阻害回避試薬に着目し、アルカリ熱抽出法との併用を検討した。依頼検体として持ち込まれた不特定多数の浴槽水 126 件からアルカリ熱抽出法で鋳型を調製し LAMP 反応を実施した。反応阻害回避試薬の使用の有無で反応性を比較した結果、反応の陽転が 10 件、反応時間（Tt 値）の短縮が 22 件あり、明らかな改善が認められた。環境試料における迅速検査においては、反応阻害回避試薬の利用が推奨された。〔泉山信司（寄生動物部)、安中敏光（栄研化学（株）生物化学研究所）；倉　文明、遠藤卓郎〕

(7) *Legionella pneumophila* の遺伝子型およびモノクローナル抗体型の解析

ア)環境分離株の解析

日本各地から分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1 の環境分離株（浴槽水分離株 30 株、冷却塔水分離株 34 株）について遺伝子型別（SBT）を行った。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、以前に型別を行った浴槽水分離株 10 株、冷却塔水分離株 14 株について *neuA* 遺伝子の型別を追加した。浴槽水分離株 40 株は 29 種類に型別され、多様であった。冷却塔水分離株 48 株は 6 種類に型別され、多様性に乏しく、37 株（77%）が ST1 であった。モノクローナル抗体（MAb）型別の結果は、浴槽水分離株 40 株は 9 種類、冷却塔水分離株 48 株は、4 種類に型別された。

イ)臨床分離株の解析

昨年度より、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行っており、収集した 20 株を含む 61 株の臨床分離株について SBT を行ったが、今年度は新たに収集された 15 株および従前に収集された 10 株について SBT を行った。昨年度解析を行なった菌株を含め、臨床分離株 86 株は 53 種類に型別された。また、昨年度及び今年度に収集された菌株のうち血清群 1 の菌株についてはモノクローナル抗体（MAb）型別を行った。血清群 1 の臨床分離株 69 株は 7 種類に型別された。SBT と MAb 型別を組み合わせると、86 株は 58 種類に型別され、その疫学的有用性が確認できた。

ウ)分離株の由来による違いについて

臨床分離株、浴槽水分離株、冷却塔水分離株あわせて 174 株が、82 種類に型別され、それぞれ、遺伝子型やモノクローナル抗体型の分布や頻度が異なっていた。さらに得られた遺伝子型について minimum spanning tree 法による解析を行った。冷却塔水分離株は、ST1 以外の株も 1 株を除いて、ST1 にやや近縁で、また互いに似ており、1 つの complex を形成していた。それ以外の大きな complex はすべて浴槽水分離株と臨床分離株を両方含んでいた。[前川純子、倉　文明、常　彬、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)、多田有希（感染症情報センター)、Jürgen H. Helbig（ドレスデン工科大学）]

(8) 土壌から分離された *Legionella pneumophila* の鞭毛遺伝子型別について −浴槽・給湯水、冷却塔水および臨床分離株との比較−

昨年度は日本各地の土壌から分離された *Legionella 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。今年度は、土壌分離株 48 株の結果を追加した。冷却塔水分離株は *flaA1* と *flaA11* の２つの遺伝子型が 88%を占める一方、浴槽水・給湯水分離株は *flaA2*、*flaA3*、*flaA6*、*flaA7* の 4 つで 85%となり、*flaA* 遺伝子型の分布に違いが見られる。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(*flaA2* と *flaA6* で 40%、*flaA3* と *flaA7* は合わせて 2%と少ない)、また浴槽水および冷却塔水分離株ではほとんど見られない遺伝子型（*flaA5* と *flaA12* で 48%）も存在した。冷却塔水分離株に多い、*flaA1* と *flaA11* は見られなかった。したがって、土壌分離株、浴槽水・給湯水分離株、冷却塔水分離株のそれぞれで、*flaA* 遺伝子型の頻度が異なることが明らかとなった。[前川純子、倉文明、常　彬、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) *Legionella rubrilucens* の最初の臨床分離事例

肺炎患者の喀痰と患者が入浴した温泉水から *L. rubrilucens* を分離した。温泉水と患者からの *L. rubrilucens* 株の PFGE パターンが一致したので温泉水からの感染であると示唆された。レジオネラ尿中抗原（Biotest EIA）も陽性であったので、*L. rubrilucens* と *Legionella pneumophila* の複合感染であると示唆された。温泉水から *L. pneumophila* 血清

群 1 は分離されなかったが、温泉水から分離された *L. pneumophila* Untypable の可溶性抗原に、この尿中抗原測定キットは反応した。温泉水中のレジオネラ属菌量は 100 CFU/100mL であった。患者血清抗体価も測定したが力価は低かった。*L. rubrilucens* のヒトからの分離例は国内外で初めてである。〔藤井伸一郎（岩手県環境保健研究センター)、松井美紀夫（松井内科医院)、白岩利惠子（二戸保健所)；前川純子、倉　文明〕

VII. 髄膜炎菌に関する研究

(1)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。そのうち、機能が未同定だと推定される遺伝子が破壊された変異株は約 56 株で破壊株が重複するものが 4 種類得られた。またさらに 4 種類の変異を加えた、計 8 種類の変異株に関して野生株へのもどし交配と野生型遺伝子の導入による機能相補試験を行った結果、5 種類に関してはトランスポゾンによる遺伝子挿入破壊によって細胞侵入性が低下していることが明らかとなった。今後はそれらの遺伝子に関して個々に解析を行い、宿主細胞感染における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]

(2)グルタミン酸トランスポーターオペロン中の遺伝子 NMB1964 による宿主細胞侵入誘導機構の解析

前項の遺伝子の中で NMB1965-NMB1964 の遺伝子群（オペロン）にトランスポゾンが挿入された変異株が同定された。NMB1965 は低 Na+ 濃度下で駆動される Na+/glutamate symporter として細胞内生育に必要な因子として 2005 年に同定されており、当初は我々の NMB1965-NMB1964 トランスポゾン挿入変異株も細胞内生育の低下による顕著な細胞内侵入低下として観察されていると考えられた。しかし、得られた NMB1965-NMB1964 トランスポゾン挿入変異株及びその欠失変異株は細胞内の生育は我々のアッセイ条件では顕著な細胞内生育の低下は認められず Na+/glutamate symporter の欠損による細胞内生育低下だけでは細胞内侵入の低下は説明できないと推測された。今後は NMB1964 遺伝子の宿主細胞感染における機能についてさらに分子遺伝学的及び細胞生物学的に解析を進める予定である。[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 2 株の髄膜炎菌の疫学的解析を行なった。それらの髄膜炎菌株の血清型は共に Y 群であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 が 1 株、ST-3015 が 1 株であった。帆年度は例年になく感染研への株の回収が少なかった

が、近年日本で検出され始めて今回で 4 例目となる ST-3015 が検出されたことが注目される。髄膜炎菌性髄膜炎は全数把握にもかかわらず菌株の回収が困難なために日本の髄膜炎菌株の分類の全容把握はかなり難しいが、今回のように珍しい ST 株が検出・分類されるということは日本で最も検出される 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まだまだ未知の遺伝子型の髄膜炎菌が潜在している可能性が示唆され、引き続きサーベイランスをしていく必要性があろう。[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、シークエンスタイピングを行った。(和田昭仁、神谷斉[国立病院機構三重病院]、宮村達男[所長])

IX. ボレリアに関する研究

(1)国内産爬虫類寄生性マダニから見いだされたボレリアとそのマダニ体内での動態に関する研究

輸入爬虫類とそれらに寄生しているマダニの一部が、複数のボレリア種から構成される一群のボレリア（以下 REP *Borrelia*）に感染していることを明らかにしてきた。一方で、国内に生息する爬虫類および爬虫類寄生性マダニのボレリア感染の有無については全く調べられていない。そこで本研究では、国内に分布する爬虫類寄生性マダニであるカメキララマダニ（*Amblyomma geoemydae*）のボレリア保有調査を行った。沖縄県にてセマルハコガメ、ヤエヤマイシガメ等の体表から *A. geoemydae* 221 個体を採取し、個体別にボレリアの DNA 検出・分離を実施した。また経ステージ感染の有無を明らかにするために、一部の飽血マダニについては脱皮後解剖し、中腸でのボレリア感染の有無を調べた。試験に供した *A. geoemydae* 221 個体中 93 個体（42.08%）から、ボレリアが分離または DNA 陽性となった。見いだされたボレリアは鞭毛抗原遺伝子の塩基配列に基づく系統解析から、REP *Borrelia* の類縁種（27.15%, 60/221）、および回帰熱群ボレリアの一種と推定される未知のボレリア（15.84%, 35/221）と同定された。このうち２個体のマダニは両ボレリアに重複感染していることが示された。また、脱皮マダニ個体の中腸から REP *Borrelia* の類縁種が見いだされたことから、本ボレリアが *A. geoemydae* 体内で経ステージ感染していることが確認された。以上の結果から、*A. geoemydae* が本ボレリアの媒介動物である可能性が考えられた。[川端寛樹、高野愛（岐阜大）、武藤麻紀、小笠原由美子、渡邉治雄、岡村麻生（西表野生生物保護センター）、藤田博己（大原研究所）、角坂照貴（愛知医科大学）、今内覚（北海道大）、田島朋子（大阪府大）]

(2)野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討

感染症法規定疾患には動物由来感染症約 50 疾患が含まれているが、この内の約半数は節足動物媒介性感染であり、公衆衛生上、重要な位置づけがなされている。そこで本研究では、マダニが媒介する動物由来感染症に関し

て、国内における生態系内でのボレリアの病原体拡散に関するリスク因子を明らかにすることを主目的とした。病原体拡散に関するリスク因子として、野生鳥類の移動に焦点を当て研究を行った。野生鳥類の捕獲は31都道府県で行い、鳥類60種よりマダニ1463個体を得た。シュルツェマダニ(29.0%)、アカコッコマダニ(16.4％)、およびキチマダニ(28.8%)が主な鳥類寄生マダニとして同定された。また、病原体検索を行ったマダニ1337個体中、106 個体 (7.9%) でボレリア DNA が検出された。この内、ライム病病原体 *Borrelia garinii* が65.1%であったことから、鳥類（野鳥）の移動に付随してマダニ種とこれを媒介種とする病原体種が高い確率で拡散している可能性が示唆された。さらに、ボレリアを保有している確率が高い鳥種についても検討を行った。この他、アメリカで報告のある、Southern tick associated rash illness (STARI)の病原体である *B. lonestari* に類似の病原体 DNA を見出したほか、回帰熱群ボレリア DNA をサワイカズキダニより見出した。今後、鳥類の移動（渡り）経路と、鳥種、寄生マダニ種、および病原体種との関連をさらに検討するとともに、公衆衛生に対する情報還元を計りたい。[川端寛樹、武藤麻紀、高野愛（岐阜大)、渡邉治雄、藤田博己（大原研究所)、坂田明子（ウイルス１部)、安藤秀二（ウイルス１部)、鶴見みや古（山階鳥類研究所）]

X. レプトスピラに関する研究

(1)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，昨年度に引き続き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 1 例のレプトスピラ症が確定診断された．またイヌは 25 例中 16 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 *Leptospira interrogans* と推定され，また血清群は Australis，Autumnalis，Hebdomadis であった．[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）]

(2)国内のイヌのレプトスピラ症発生調査

全国でのイヌのレプトスピラ症の発生状況を明らかにするための初動調査として，千葉，三重，福岡，佐賀，熊本および沖縄県で，宮崎県と同様に検査定点サーベイランスを行った．その結果，千葉，三重(奈良)，福岡，佐賀，熊本の各県で陽性イヌを検出した．また三重県のイヌ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* と推定された．[小泉信夫，武藤麻紀，渡辺治雄，横山栄二（千葉県衛生研究所)，赤地重宏（三重県保健環境研究所)，濱崎光宏，堀川和美（福岡県保健環境研究所)，坂本晃子，舩津丸貞幸（佐賀県衛生薬業センター)，松本一俊，八尋俊輔，原田誠也（熊本県保健環境科学研究所)，岡野祥，平良勝也，中村正治（沖縄県衛生環境研究所）]

(3)フィリピンにおける野鼠からのレプトスピラの分離・性状解析

フィリピンで捕獲した野鼠からレプトスピラを分離し，性状解析により *L. interrogans*

serovar Manilae, serovar Losbanos, serogroup Grippotyphosa および *L. borgpetersenii* serogroup Javanica と同定した．これらの株は患者分離株と免疫学的・遺伝学的に同一であることから，フィリピンのレプトスピラ症は野鼠が原因となり洪水を介しておきていることが明らかとなった．また，野鼠およびスイギュウ由来 *L. borgpetersenii* の偽遺伝子および IS1533 のコピー数の解析結果から，IS を介した *L. borgpetersenii* ゲノムの再構成が示唆された．[小泉信夫,武藤麻紀,渡辺治雄,吉田真一（九大)]

(4)各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

全国 33 か所の検疫港および検疫飛行場の政令区域で 270 匹のネズミを捕獲し，レプトスピラの分離を試みた結果，那覇空港で捕獲されたハツカネズミ 2 匹からレプトスピラが分離された．*flaB* 遺伝子の部分塩基配列から，分離株は *L. borgpetersenii* であると推定された．また長崎県（五島）のアカネズミ 2 匹および千葉県のドブネズミ 1 匹からレプトスピラが分離された．その他，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ネコの腎臓，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，山本正悟（宮崎県衛生環境研究所)，谷川力（イカリ消毒技術研究所)，宗村佳子（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）]

XI. 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好中球食菌抵抗性

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が、その病原性に関しては未解明な部分が多い。そこで、腸管外病原性大腸菌 CK17 好中球食菌抵抗性に関して解析を行った。非オプソナイズ化大腸菌 K-12 は、好中球に食菌され生存率(加えた大腸菌数に対する比率)は 0.6 であったことと対照的に、CK17 はヒト好中球存在下において、オプソナイズ化した場合でも生存率は 3.54 と高値を示した。本条件で，CK17 による好中球の著しい細胞死は認められず、細胞致死活性による抵抗性でないと考えられた。また、好中球が CK17 にアソシエイトする像が顕微鏡観察で認められたが、貪食像の観察は稀であった。これらのことから、CK17 が食菌作用抑制機構を持つことを示唆した。(大西　真、志牟田健、渡辺治雄、阿戸学（免疫部))

(2)淋菌の薬剤感受性の動向

淋菌の各種薬剤に対する感受性の低下や、多剤耐性化が問題となっている。そこで神奈川県とその周辺地域医療機関で分離された淋菌(672 株)を対象に、主な治療薬剤に対する薬剤感受性の推移を検討した。さらに。セフィキシム低感受性株の遺伝子変異について詳細な検討を行った。今回の調査では ３～４剤耐性株の占める割合は、1990 年代に比べ 2000 年代では約１０倍の６０％となっていた。CFIX 耐性遺伝子(*pneA*)について検討したところ、MICCFIX 0.25≤の菌株の 81.3% (26/32)は X 型の *penA* 遺伝子を保持していた。また、X 型のバリアントである新規配列型 XXXII、XXXIII、 XXXIV が見いだされ、これらが CFIX

耐性に寄与することが新規バリアントを用いた形質転換実験で認められた。(渡辺祐子、高橋智恵子、大屋日登美、黒木俊郎、岡崎則男（神奈川衛生研究所）大西　真)

(3)淋菌の MLST 型別を用いた系統解析

淋菌の遺伝的多様性を検討するために分離菌株の系統解析を行い、薬剤耐性／低感受性株の増加傾向および多剤耐性化と系統との関連を検討した。神奈川県とその周辺地域医療機関で 1995、2000-2005 年に分離された淋菌からランダムに選択した 86 株に関して、Multi-locus sequence typing (MLST)を用いて系統解析を行った。86 株より、１５種の新規配列型(ST)を含む２７種の ST を見いだした。さらに、同一地域分離株でありながら、分離時期(1995 および 2000-2005)によって分離頻度の高い ST が異なっていることが見出された。セフェキシム耐性株は異なる３つの ST 型に存在し、耐性遺伝子獲得が Multi-clonal に起きたことと、それらのクローナルエクスパンジョンが 2000 年以降起きた可能性が示唆された。(大西　真, 志牟田健, 渡辺祐子（神奈川衛研))

(4)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 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。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積極的な制御が関与するという仮説を立て、そのメカニズムを探ることを試みた。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た。結果、ssDNA 及び RNA 結合 domain の１つである KH domain を有する ORF、TP1018 を同定した。(中山周一、松岡ひろこ、大西　真、渡辺治雄)

(5)セラチアの溶血因子の研究

昨年までに、本菌培養時にヒト血液寒天培地上で観察される溶血環の原因遺伝子が phlA(ホスホリパーゼ A)である可能性を示した。本年度は組換え体 His-PhlA を用いて、以下の事を明らかにした。1) His-PhlA はホス

ホリパーゼ活性を保持し、血液寒天培地上で溶血環形成を示した。蛍光基質を用いた解析で、PhlA は PLA1 であることが示唆された。2) His-PhlA による溶血活性はリン脂質濃度依存的であった。更に、培養細胞でもリン脂質濃度依存的な His-PhlA による細胞崩壊活性が認められた。以上より本菌による血液寒天培地上での溶血環は、培地中の赤血球より遊離したリン脂質が PhlA によって加水分解された結果生じたリゾリン脂質(界面活性作用を持つ)に依存した現象であると推察された。(志牟田　健、伊豫田　淳、大西　真、渡辺　治雄)

XII. 口腔内細菌に関する研究

(1) *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成を抑制する *S. salivarius* 分子の精製

Streptococcus salivarius は、う蝕原因菌である *S. mutans* のバイオフィルムを阻害する分子を産生することが明らかとなった。この抑制分子を精製するために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行った。抑制活性のあるフラクションに SDS-PAGE 後のシルバー染色にて６つのバンドが認められた。それぞれのバンドを切り出し、処理後、TOF Mass 解析を行うため理化学研究所の小園先生へサンプルを送り解析した。また、*S. salivarius* のゲノム解析が行われていなかったため、使用した *S. salivarius* HT9R 株を用いてゲノム解析を行った。ゲノム解析は、国立感染症研究所の黒田病原体ゲノムセンター室長にお願いした。そのデータをもとに、TOF Mass 解析の結果を分析すると５つの候補タンパク質が認められた。Replicative DNA hericase、Gram-positive signal peptide YSIRK family protein、Glutamine-5-semialdehyde dehydrogenese、Homoserine dehydrogenase、Glucosyltransferase-S1 などが明らかとなった。[泉福英信、小川綾子、三戸部治郎、古園さおり (理化学研究所)、黒田　誠 (病原体ゲノムセンター)、渡辺治雄]

(2)う蝕原性菌 *Streptococcus mutans* 多様性出現機構の解明

バクテリアは均一な系で培養しても非均一で多様な細胞集団を形成する。多様性出現によりバクテリアは抗生物質耐性の上昇など優れた環境適応性を示すことから、本現象を理解することは病原菌の制御にとって重要である。う蝕原性菌 *Streptococcus mutans* の 3 株は、寒天培地上で表面が粗な Rough(R)型コロニーを形成したが、いずれの株においても表面が平滑な Smooth(S)型が 10^{-3} 程度出現した。バイオフィルム形成量を比較した結果、S 型は R 型と比較して形成量が著しく低下し、これに関連して S 型は非水溶性グルカン生産性が減少していた。一方、S 型は R 型より生育速度の上昇が確認された。これら S 型の特徴は、20 回以上の継代培養後も維持されたことから、S 型の出現は不可逆的な遺伝的変異が影響しているものと推察された。[泉福英信、成澤直規、河原井武人、米田早織、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-T400K-402)ペプチドは、唾液成分がコートされたハイドロキシアパタイトに対する *S. mutans* の結合を阻害する。そのペプチ

ドは、*S. mutans* の歯表面に付着する際、唾液由来獲得ペリクルに存在するアグルチニン（gp-340/DMBT1）ペプチド（SRCRP2）と強く結合して、*S. mutans* の結合を阻害する。この結合阻害には、リジン置換による陽電荷表出が影響していると考えられている。このペプチドの部分ペプチドや置換ペプチドを合成して、どの領域が *S. mutans* の結合を阻害するために重要か検討を行った。アミノ酸残基390 番目のアスパラギン酸(D)をヒスチジン(H)や(K)に置換したペプチドは抑制できなくなった。402 番目のロイシン(L)のみを削除しても抑制したが、401 と 402 番目のグルタミン酸(E)と L を削除すると抑制できなくなった。その結果、390-T400K-402 のアミノ酸残基 12 個中の D, K や E の陽電荷と負電荷が *S. mutans* の結合抑制に重要であることが明らかとなった。［泉福英信、奥田健太郎、木庭秀彦、渡辺治雄］

(4) *Streptococcus mutans* による非水溶性グルカン非依存的なバイオフィルム形成

S. mutans は、ショ糖からの非水溶性グルカン産生を介して強固なバイオフィルムを形成する。一方、細菌によるバイオフィルム形成は環境ストレスに応答して増大することが知られている。口腔において迅速、かつ大きく変動する pH は口腔細菌が最も頻繁に受ける環境ストレスである。我々は、初期培地 pH の酸性化によって生じる *S. mutans* の非水溶性グルカン非依存的なバイオフィルム形成現象を見出した。*S. mutans* を中性培地で培養した時と比較し酸性培地において明らかな生育の低下を示したが、酸性培地においても中性培地と同等の顕著なバイオフィルムを形成した。また、非水溶性グルカン産生は、酸性培地において著しく低下した。以上の結果から、酸性培地におけるバイオフィルムの一部は、非水溶性グルカン非依存的経路を介して形成されたものと推察された。[河原井武人、泉福英信、成澤直規、渡辺治雄]

(5) アッサム茶葉抽出成分による *Streptococcus mutans* バイオフィルム形成阻害に関する研究

う蝕予防剤開発のため、近年注目されているアッサム茶成分のう触原性細菌 *S. mutans* バイオフィルム形成に対する阻害効果について検討を行った。中国産緑茶及び紅茶葉抽出物に比較し、アッサム茶葉抽出物は非常に強いバイオフィルム形成阻害効果を示した。そこで、アッサム茶葉抽出物中に含まれる活性物質の精製を行った。熱水抽出→分子量分画→逆相シリカゲルクロマトグラフィーにより活性物質の精製を行い、HPLC によりほぼ単一な精製品を得た。得られた精製品はカテキン類似物であると推察されたが、既存のカテキン標準品に比較して強いバイオフィルム形成阻害活性を示した。現在、NMR による活性物質の構造解析を行っている。[河原井武人、米田早織、成澤直規、泉福英信、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 0.25mM を

*C. albicans*に30分間作用すると、静菌活性は示さずに有意な*C. albicans*の上皮細胞への付着抑制活性が観察された。また、この条件では、上皮細胞を傷害することも、口腔常在菌である連鎖球菌に対する静菌活性も示さなかった。それ以上の濃度および作用時間では、*C. albicans*の上皮細胞への付着抑制活性が観察されるものの*C. albicans*および口腔連鎖球菌への静菌活性および上皮細胞の傷害が観察された。使用濃度と時間を考慮すれば、ヒノキチオールは口腔ケア剤として有用であることが示唆された。[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、２ｍｇ/mlのIgYは有意に各*Candida*の上皮細胞への付着を抑制した。また、Germ tubeを形成する培養条件に関係なく、２ｍｇ/mlのIgYは有意に*C. albicans*のバイオフィルム形成を抑制した。しかし、その抑制量は、Germ tubeを形成しない培養条件の方が、Germ tubeを形成する培養条件よりも高かった。[泉福英信、藤林泰介、渡辺治雄]

(8)酪酸による*Actinomyces naeslundii*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て、口腔常在菌である*Actinomyces naeslundii*が形成するバイオフィルムに対するSCFAの効果を検討した。その結果、SCFAの一つである酪酸は6.25mM、吉草酸は3.125mM、プロピオン酸は3.125mMにおいて、*A. naeslundii* X600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、この濃度では*A. naeslundii*の生育に影響しなかった。一方、培養してから0, 6, 10時間後に加えても16時間後にバイオフィルム形成の上昇が認められた。しかし、14時間後に加えてもバイオフィルム形成の上昇は認められなかった。さらに、RT-PCRによる解析により、SCFAを加えてから8時間後の細胞においてheat shock proteinの中のGrpEやPeptidyl-prolyl cis-trans isomerase Bの発現が上昇していた。これらのheat shock proteinとバイオフィルム形成の上昇になんらかの関係があることが推察された。[泉福英信、米田早織、河原井武人、落合邦康（日本大学歯学部)、渡辺治雄]

(9)カテキン含有ジェルを用いた口腔ケアの口腔微生物に対する抗菌効果

要介護高齢者は、自立高齢者に比べ口腔内に*Candida*などの日和見菌が多く検出され、誤嚥により肺に侵入する機会が増えている。その結果、肺炎を発症する可能性が高まっている。緑茶に含まれるカテキンは、抗菌的に働くことが知られ、安全に使用できる薬剤として注目されている。そこで、カテキンが留ま

りやすいジェルを利用し、それを口腔ケアに応用し *Candida* などの病原菌を除菌できるか検討を行った。その結果、カテキンジェルは口腔ケアを夕食後に行った施設において *Candida* と *S. mutans* 菌数の減少効果が認められた。しかし、昼食後に行った施設において有意な減少効果が認められなかった。カテキンジェルの使用時期の違いが、効果の違いに表れた可能性が高い。つまり、夕食後では、その後飲食する機会がないことから、カテキンジェルが希釈されず効果が表れたと考えられた。一方、昼食後では、その後の飲食によりカテキンジェルが希釈され、カテキン効果が減弱したものと考えられた。[泉福英信、河原井武人、田村宗明（日本大学歯学部)、落合邦康（日本大学歯学部）]

(10) *Porphyromonas gingivalis* 表層タンパクパラログヘマグルチニン HagB/C とアルカリフォスファターゼの結合

Porphyromonas gingivalis は、アルカリフォスファターゼ産生することが報告されている。このアルカリフォスファターゼが *P. gingivalis* の菌体表層に結合することが明らかになり、どの部位であるか検討することを計画した。*P. gingivalis* 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。また、*P. gingivalis* は付着性の高い繊毛を有しており、生体表層への付着 Biofilm 形成に大きく関わっている。そこで、HagB, C や繊毛の mutant 株を作成し、アルカリフォスファターゼとの結合性を検討した。その結果、HagB, C, B/C mutant はアルカリフォスファターゼと結合できなくなることが明らかとなった。これは、HagB, C とアルカリフォスファターゼが結合することを示している。このアルカリフォスファターゼが HagB, C に結合することと *P. gingivalis* の病原性発現との関係について今後研究していく予定である。[泉福英信、伊藤龍朗、中尾龍馬、河原井武人、渡邉治雄]

(11) 口腔感染症のモデル動物の作成- 唾液分泌低下における *e2f-1* の役割

ヒトにおいてう蝕が多発するシェーグレン症候群のモデルマウスである Non-obese diabetic (NOD)マウスは、*e2f-1* をノックアウトすると症状が悪化する。この症状の悪化が、自己反応性成熟リンパ球によるものか明らかにするため NOD/SCID.*e2f-1*$^{-/-}$マウスを作製した。このマウスを用い、*e2f-1* のシェーグレン症候群発症への関わりについて検討した。その結果 NOD/SCID.*e2f-1*$^{-/-}$マウスは、唾液腺における HE 染色においてリンパ球の組織浸潤は見られず、しかし唾液分泌低下が有意に認められた。E2f-１は、シェーグレン症候群と異なったメカニズムで唾液分泌低下に関与していることが明らかとなった。[泉福英信、猪原光、河原井武人、米田早織、米沢英雄、渡辺治雄]

(12)口腔における疫学的な調査―歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発と有効性の検証

歯科医療において、SARS, 新型インフルエンザ、AIDS、結核などの新興再興感染症の患者が来院した時に対応ができるような院内感染対策を導入するための新たな評価指標を確立することを目的とし検討を行った。平成 19～20 年度の研究において、HIV 感染者や AIDS 患

者数の地域差や都市と地方の違いに院内感染対策への影響がある可能性を踏まえ、HIV 感染者やAIDS患者数が多い都市1県および少ない地方都市 1 県の歯科医師を対象にアンケート調査を行った。その結果、感染者数や地域差に関係なく、年齢の若さおよび経済的な余裕に左右される傾向が見られた。また、平成19 年度に挙げた院内感染対策の評価基準 11 項目についてその有効性を検証した。その結果、1 年以内にその対策を講じることが可能という回答が 75%以上を占めた院内感染対策の講習会への参加、院内感染対策のスタッフへの教育、防護用メガネ、グローブの使用、問診票の作成が他の院内感染対策に大きく影響を与えることが明らかになった。これらの 4 項目が有効な院内感染対策の評価指標の基本になりうると考えられた。この 4 つの質問項目を軸にして有効な院内感染対策の指標を確立していくことが重要である。[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）]

XIII.ペスト菌の研究

(1)ペスト菌 F1 antigen 及び V antigen に対するモノクローナル抗体を用いた間接抗体法によるペスト菌の迅速検出法の開発

昨年に引き続きペスト菌の主要抗原である F1 antigen さらに V antigen に対するモノクローナル抗体を用いた間接抗体法（Indirect Fluorescent Antibody)を用いてペスト菌を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、アセトンもしくはメタノールで死滅・固定処理したサンプルに F1 antigen のモノクローナル抗体 3YP8 は良好に反応した。一方、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なかった。一方、V antigen のモノクローナル抗体 Va22 はすべてのペスト菌に対して反応性を示さず、ペスト菌に体するモノクローナル抗体 6033 は 3YP8 と比較するとペスト菌に対する反応性が非常に弱く、共にペスト菌検出用抗体としては適さないことが明らかとなった。以上の結果から市販品であるペスト菌に対するモノクローナル抗体もその反応性には大きな差が認められ、検出系に適用するにはその性能を十分に検証する必要性が明らかになった。また、ペスト菌 F1 antigen に対するモノクローナル抗体 3YP8 を用いることにより検体の処理方法に依存しないでペスト菌を検出できる間接抗体法を確立した。[高橋英之]

XIV. 結核菌に関する研究

(1)結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

二次抗結核薬である Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)に対する ATP 測定による薬剤感受性試験法（ATP 法）の参照法との一致率が、他の薬剤に比べ TH 81.7%、PAS 86.2%と低かったので、ATP 法で耐性、参照法感性と判定された 10 菌株を用いて、ATP 法使用濃度を、TH は 5ー15μg/ml、PAS は 4ー12μg/ml で検討したがいずれも耐性と判定された。これらの株の最低阻止濃度 (MIC) を測定したところ TH では、64ー2μg/ml、PAS では 64ー0.13μg/ml と幅があった。TH と PAS は、静菌的薬剤のため、ATP 法の 5 日判定では、対照との差が出難いので更なる検討が必要である。［ 山崎利雄；山本三郎（日本ＢＣＧ研究所)、岡沢　豊（極東製薬工業） ］

(2)ストレプトマイシン依存性結核菌(18b 株)の確保

ストレプトマイシン(ＳＭ)依存性結核菌は、1955 年に橋本らにより確立された株であるが、凍結保存していたため、生死と SM 依存性を再確認するために、SM100,200μg/ml 入り Middlebrook 7H9 液体培地と Middlebrook 7H10 寒天培地に接種した。3 週間後に SM の入っていない培地には増殖が見られなかったが、SM100,200μg/ml 培地には旺盛な増殖が見られた。抗結核剤である SM 存在下でのみ増殖できる特殊な菌である事を確認し、18b 株を用いた今後の研究のための供試菌株の確保ができた。［ 山崎利雄；大原直也（免疫部）］

XV.その他

(1)梅毒血清検査標準化委員会

2008 年５月２８日より、日本性感染症学会梅毒血清検査標準化委員会（委員長。慈恵医大　本田まりこ、敬称略）の委員に就任し、検討作業、雑務、討議等に参加している。重要な議題として、自動化試薬による表示値と従来の倍数希釈法での表示値との対応関係の検査現場での周知徹底と、ガイドラインでの自動化試薬表示値での基準の明文化等である。ガイドラインとしては 2008 年 12 月に暫定的部分改訂がなり、一応の結実を見た。(中山周一)

(2)平成 20 年度短期研修　新興再興感染症技術研修（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、地衛研及び保健所の担当職員 20 名に対して 2 時間の講義を行った。11 月 11 日、武蔵村山市。〔倉　文明、前川純子〕

(3)平成 20 年度生活衛生関係技術担当者研修会（厚生労働省健康局生活衛生課）

レジオネラ症の感染対策について、都道府県、政令市及び特別区の公衆浴場等生活衛生関係技術担当職員約 200 名に講義を行った。3 月 9 日、東京。〔倉文明、遠藤卓郎；泉山信司（寄生動物部)〕

(5)国際協力・研修生受け入れ

ア）ベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology の Phan Le Thanh Huong 準教授、細菌部副部長に対して 4 日間レジオネラに関する研修を行った。研修内容は、日本の菌の検出状況及び発生動向調査講義、検査法全般講義、浴槽水からの分離講義とデモ、尿中抗原検査デモ、PCR 及び PFGE の講義とデモ、コロニー観察・血清群同定実習、DDH キットの紹介であった。3 月 23 日ー26 日。〔前川純子、常　彬、倉　文明〕

イ)WPRO からの経済支援を得､NIHE から 4 名、ベトナム各地の地方衛生研究所、病院から 7 名が参加し、ブタレンサ球菌の疫学、病原性に関する発表、討論、ならびに基礎的細菌検査技術、分子生物学的検査方法、分子疫学手法に関する講習を NIHE にて 10 月 6 日－10 月 10 日にわたり開催した。(常 彬、和田昭仁)

ウ）ラオス国立検査疫学センターの機能強化；ラオス国立検査疫学センター細菌検査業務部門の機能強化の一環として、WHO フェロー　(Dr. Noikaseumsy, および Ms. Vongdouangchanh)の２名に対する病原細菌の分子タイピング法の研修を行った(９月２９日ー１１月７日).(泉谷秀昌、大西　真)

エ）中南米血液スクリーニング研修会：JICE主催の頭書研修会で梅毒を担当し、中南米からの医療、検査現場担当者等に講義を行った。（中山周一）

(7)検定検査業務

製剤担当室として、沈降7価肺炎球菌結合型ワクチンの承認前検査の結果報告を行った。（和田昭仁、前川純子）

(8)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、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、地衛研 The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan)

発表業績

誌上発表

欧文論文

1) Kam KM, Luey CK, Parsons MB, Cooper KL, Nair GB, Alam M, Islam MA, Cheung DT, Chu YW, Ramamurthy T, Pazhzni GP, Bhattacharya SK, Watanabe H, Terajima J, Arakawa E, Ratchtrachenchai OA, Huttayananont S, Ribot EM, Gerner-Smidt P, Swaminathan B; for the *Vibrio parahaemolyticus* PulseNet PFGE protocol work group. Evaluation and validation of a PulseNet standardized Pulsed-Field Gel Electrophoresis protocol for subtyping *Vibrio parahaemolyticus*: an international multicenter collaborative study. J Clin Microbiol. 46 (8):2766-2773.2008

2) Saitoh T, Iyoda S, Yamamoto S, Lu Y, Shimuta K, Ohnishi M, Terajima J, Watanabe H. Transcription of the ehx enterohemolysin gene is positively regulated by GrlA, a global regulator encoded within the locus of enterocyte effacement in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J Bacteriol. 190:4822-4830, 2008.

3) Oshima K, Toh H, Ogura Y, Sasamoto H, Morita H, Park SH, Ooka T, Iyoda S, Taylor TD, Hayashi T, Itoh K, Hattori M. Complete genome sequence and comparative analysis of the wild-type commensal *Escherichia coli* strain SE11 isolated from a healthy adult. DNA Res. 15: 375-386, 2008.

4) Une, Y., Sanbe, A., Suzuki, S., Niwa, T., Kawakami, K., Kurosawa, R., Izumiya, H., Watanabe, H., and Kato, Y.: *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection causing mortality in Eurasian tree saparrows (Passer montanus) in Hokkaido. Jpn. J. Infect. Dis. 61: 166-167, 2008.

5) Tobin-D'Angelo, M., Smith, A.R., Bulens, S.N., Thomas, S., Hodel, M., Izumiya, H., Arakawa, E., Morita, M., Watanabe, H., Marin, C., Parsons, M.B., Greene, K., Cooperz, K., Haydel, D.,

Bopp, C., Yu, P., and Mintz, E.: Severe diarrhea caused by cholera toxin-producing *Vibrio cholerae* serogroup O75 infections acquired in the Southeastern United States. Clin. Infect. Dis. 47: 1035-40, 2008.

6) Tsuji, A., Hirasawa, K., Arakuma, T., Izumi, K., Kobori, K., Sunohara, K., Yoshizawa, N., Watanabe, H., and Izumiya, H.: A 12-year-old boy with acute gastroenteritis caused by *Edwardsiella tarda* O4:H4. J. Infect. Chemother. 14: 433-435, 2008.

7) Asai, T., Harada, K., Kojima, A., Sameshima, T., Takahashi, T., Akiba, M., Nakazawa, M., Izumiya, H., Terajima, J., and Watanabe, H.: Phage type and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from food-producing animals in Japan between 1976-2004. New Microbiol. 31: 555-559, 2008.

8) Morita, M., Ohnishi, M., Arakawa, E., Bhuiyan, N.A., Nusrin, S., Alam, M., Siddique, A.K., Qadri, F., Izumiya, H., Nair, G.B., Watanabe, H. Development and validation of a mismatch amplification mutation PCR assay to monitor the dissemination of an emerging variant of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor. Microbiol. Immunol. 52: 314-317. 2008.

9) Okura, M., Osawa, R., Tokunaga, A., Morita, M., Arakawa, E., Watanabe, H. Genetic analyses of the putative O and K antigen gene clusters of pandemic *Vibrio parahaemolyticus*. Microbiol. Immunol. 52: 251-264. 2008.

10) Zo YG, Chokesajjawatee N, Grim C, Arakawa E, Watanabe H, Colwell RR. Diversity and seasonality of bioluminescent *Vibrio cholerae* populations in Chesapeake Bay. Appl Environ Microbiol. 75(1):135-46 .2008

11) Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Ando S, Takano A, Watanabe H, Kawabata H. Isolation of *Rickettsia* sp. from Ixodes granulatus, Japan. Emerging Infectious Diseases 14: 1963-1965, 2008.

12) Ato M, Ikebe T, Kawabata H, Takemori T, Watanabe H. Incompetence of neutrophils to invasive group A streptococcus is attributed to induction of plural virulence factors by dysfunction of a regulator. PLoS ONE. 3: e3455. 2008.

13) Tanaka, D., Isobe, J., Watahiki, M., Nagai, Y., Katsukawa, C., Kawahara, R., Endoh, M., Okuno, R., Kumagai, N., Matsumoto, M., Morikawa, Y., Ikebe, T., Watanabe, H., and the Working Group for Group A Streptococci in Japan. Genetic features of clinical isolates of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. equisimilis possessing Lancefield's group A antigen. J. Clin. Microbiol. 46: 1526-1529, 2008.

14) Inoue K, Maruyama S, Kabeya H, Yamada N, Ohashi N, Sato Y, Yukawa M, Masuzawa T, Kawamori F, Kadosaka T, Takada N, Fujita H, Kawabata H. Prevalence and

genetic diversity of *Bartonella* species isolated from wild rodents in Japan. Applied Environmental Microbiology. 74: 5086-5092, 2008.

15) Amemura-Maekawa J, Kura F, Chang B, Suzuki-Hashimoto A, Ichinose M, Endo T, Watanabe H. Distinct difference of *flaA* genotypes of *Legionella pneumophila* between isolates from bath water and cooling tower water. Microbiol. Immunol. 52: 460-464, 2008.

16) Koizumi N, Muto M, Yamamoto S, Baba Y, Kudo M, Tamae Y, Shimomura K, Takatori I, Iwakiri A, Ishikawa K, Soma H, Watanabe H. Investigation of reservoir animals of *Leptospira* in the northern part of Miyazaki Prefecture. Jpn J Infect Dis. 61(6):465-468, 2008

17) Kawaguchi L, Sengkeopraseuth B, Tsuyuoka R, Koizumi N, Akashi H, Vongphrachanh P, Watanabe H, Aoyama A. Seroprevalence of leptospirosis and risk factor analysis in flood-prone rural areas in Lao PDR. Am J Trop Med Hyg. 78(6):957-61, 2008

18) Nakayama,K., Yamashita, A., Kurokawa,K., Morimoto1, T., Ogawa, M., Fukuhara, M., Urakami, H., , Ohnishi, M., Uchiyama, I., Ogura, Y., Ooka, T., Oshima, K., Tamura, A., Hattori, M. and Hayashi, T. The whole-genome sequencing of the obligate intracellular bacterium *Orientia tsutsugamushi* revealed massive gene amplification during reductive genome evolution. DNA Research. 15:185-199. 2008

19) Yonezawa H, Kuramitsu HK, Nakayama S, Mitobe J, Motegi M, Nakao R, Watanabe H and Senpuku H. Differential expression of the Smb bacteriocin in *Streptococcus mutans* isolates. Antimicrob Agents Chemother. 52: 2742-2749, 2008.

20) Kokubu K, Senpuku H, Tada A, Saotome Y and Uematsu H. Impact of routine oral care to on opportunistic pathogens in institutionalized elderly. J Med Dent Sci. 55:7-13, 2008.

21) Kamoda Y, Uematsu H, Yoshihara A, Miyazaki H and Senpuku H. Role of activated natural killer cells in oral diseases. Jpn J Infect Dis, 61:469-474, 2008.

22) Inaba E, Uematsu H, Nishiyama Y, Watanabe H, and Senpuku H. The role of anti-PAc (361-386) peptide sIgA antibody in professional oral hygiene of the elderly. Gerodontology, Feb 13.2008. on line.

23) Nakao R: Polysaccharides of gram-negative periodontopathic bacteria, p. 130- p. 142, Chapter 7, Bacterial Polysaccharides, Edited by Matthias Ullrich, Caister Academic Press.

24) Senpuku H, Effects of professional oral care on oral infection in elderly, Dental Tribune Asia Pacific. 6: 21-24, 2008.

25) Narisawa, N., Furukawa, S., Kawarai, T., Oishi, K., Kanda, S., Kimijima, K.,

Negishi, S., Ogihara, H., Yamasaki, M.: Solid portions of skim milk decrease the inactivation ratio of *Escherichia coli* K-12 by high hydrostatic pressure treatment. Int. J. Food Microbiol. 10: 103-107, 2008.

26) Arai, S., Kawarai, T., Arai, R., Yoshida, M., Furukawa, S., Ogihara, H., Yamasaki, M.: Cessation of cytokinesis in *Schizosaccharomyces* pombe during growth after release from high hydrostatic pressure treatment. Biosci. Biotechnol. Biochem. 72: 88-93, 2008.

27) 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.

28) Takahashi, H., R.W. Carlson, A. Muszynski, B. Choudhury, D.S. Stephens, K.S. Kim and H. Watanabe: Modification of lipooligosaccharide (LOS) with phosphoethanolamine by LptA in *Neisseria meningitidis* enhances meningococcal adhesion to human endothelial and epithelial cells. Infect. Immun. 76(12):5777-5789. 2008

29) Nakao,R.,Tashiro Y, Nomura N, Kosono S, Ochiai K,Yonezawa H, Watanabe H and Senpuku H. Glycosylation of the OMP85 homolog of *Porphyromonas gingivalis* and its involvement in biofilm formation. BBRC.365: 784-789. 2008

30) Pei,Y., Terajima,J., Saito,Y., Suzuki,R., Takai,N., Izumiya,H., Ishihara,T., Ohnishi,M., Miura,M., Iyoda,S., Mitobe,J., Binyou,W., and H.Watanabe. 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. 61: 58-64. 2008

31) Tashiro,Y., Nomura,N., Nakao,R., Senpuku,H., Kariyama,R., Kumon,H., Kosono.S, Watanabe,H., Nakajima,T., and Uchiyama,H. Opr86 is essential for viability and is a potential candidate for a protective antigen against biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. 190:3969-3978. 2008.

32) Kawaguchi,L., Bounthanom Sengkeopraseuth, Reiko Tsuyuoka, Nobuo Koizumi,Hidechika Akashi, Phengta Vongphrachanh, Haruo Watanabe, and Atsuko Aoyama. Seroprevalence of leptospirosis and risk factor analysisi in flood-prone rural areas in Lao PDR.Am. J. Trop, Med. Hyg. 78: 957-961.2008

33) Horino,T., Kato,T., Sata,F., Sakamoto,M., Nakazawa,Y., Ysoshida,M., Onodera,S., Kohda,M., Ishiji,T.,

Takahashi,H., and Watanabe,H. Meningococcemia without meningitis in Japan. Intern Medicine.47:1543-1547.2008.

34) Kobayashi,S., Wada,A., Shibasaki,S., Annaka,M., Higuchi,H., Adachi,K., Mori,N., Ishikawa,T., Masuda,Y., Watanabe,H., Yamamoto,N., Yamaoka,S., ansd Inamatsu,T. Spread of a large plasmid carrying the *cpe* gene and the *tra* locus in *Clostridium perfringens* isolates from nosocomial outbreaks and sporadic cases of gastroenteritis in a geriatric hospital.Epidemiol. Infect. 137: 108-113. 2008

35) Mitobe.J, Tomoko Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe.Involvement of RNA binding protein Hfq in the post-transcriptional regulation of *invE* gene expression of *Shigella sonnei.* J. Biol. Chem. 283:5738-5747.2008.

36) Koizumi N, Watanabe H. Leptospirosis. In: Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases (2009)

37) Kobayashi H, Kanazaki M, Ogawa T, Iyoda S, Hara-Kudo Y. Changing prevalence of O-serogroups and antimicrobial susceptibility among STEC strains isolated from healthy dairy cows over a decade in Japan between 1998 and 2007. J Vet Med Sci. 71: 363-366, 2009.

38) Yamamoto S., Izumiya H., Morita M., Arakawa E., Watanabe H. Application of λ Red recombination system to *Vibrio cholerae* genetics: Simple methods for inactivation and modification of chromosomal genes. Gene 438:57-64, 2009.

39) Chang B, Sugiyama K, Taguri T, Amemura-Maekawa J, Kura F, and Watanabe H. Specific detection of viable *Legionella* cells by combined use of photoactivated ethidium monoazide and PCR/real-time PCR. Appl. Environ. Microbiol. 75:147-153, 2009.

40) Chang B, Amemura-Maekawa J, and Watanabe, H. An improved protocol for the preparation and restriction enzyme digestion of PFGE agarose plugs for the analysis of *Legionella* isolates. JJID. 62:54-56, 2009.

41) Jiro Mitobe, Tomoko Morita-Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe.Involvement of RNA binding protein Hfq in the osmotic-response regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. BMC microbiol.vol.9 110.2009

42) Chiou,C-S., Watanabe,H., Wang,Y-W., Wang,W-L., Terajima,J., Thong,K-L., Cam,P-D, and Tung,S-K. Utility of multilocus variable-number repeat analysis as a molecular tool for phylogenetic study of *Shigella sonnei*.J. Clinic. Microbiol. 47: 1149-1154. 2009.

和文発表

1) 荒川英二、甲斐明美.腸炎ビブリオの標準検査法作成へ向けての検討.p.69-75 月

刊フードケミカル　24巻7号. 2008

2) 伊豫田淳:平成20年黒屋奨学賞受賞論文「腸管出血性大腸菌における病原性遺伝子の協調的発現制御機構」、日本細菌学雑誌、63, 407-415, 2008.

3) 伊豫田淳、寺嶋淳、渡邊治雄：腸管出血性大腸菌感染症の現状と細菌学的特徴、化学療法の領域、24: 736-741, 2008.

4) 石原（森田）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. 日本乳酸菌学会誌 19: 37-45, 2008.

5) 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.

6) 常彬、前川純子、渡辺治雄。レジオネラを解析するパルスフィールド・ゲル電気泳動（PFGE）法の改良。病原微生物情報、29,333-334, 2008.

7) 木股裕子、南出正之、貫名正文、常彬、前川純子。2008 年 1 月、神戸市における公衆浴場でのレジオネラ症集団発生事例。病原微生物情報、29,329-330,2008.

8) 烏谷竜哉, 黒木俊郎, 大谷勝実, 山口誠一, 佐々木美江, 齊藤志保子, 舩渡川圭次, 藤田雅弘, 杉山寛治, 中嶋洋, 村上光一, 田栗利紹, 藏元強, 倉　文明, 八木田健司, 泉山信司, 前川純子, 山崎利雄, 縣邦雄, 井上博雄：掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染とリスク因子、感染症学雑誌,83(1):36-43,2009.

9) 遠藤卓郎、縣　邦雄、倉　文明、古畑勝則、泉山信司：第 5 章レジオネラ属菌の検査法、レジオネラ症防止指針第 3 版, 財団法人ビル管理教育センター、28-36、東京、2009 年 3 月.

10) 遠藤卓郎、縣　邦雄、倉　文明、古畑勝則、泉山信司：第 6 章レジオネラ属菌消毒の原則、レジオネラ症防止指針第 3 版, 財団法人ビル管理教育センター、37-40、東京、2009 年 3 月.

11) 遠藤卓郎、縣　邦雄、倉　文明、古畑勝則、泉山信司：付録 1 レジオネラ属菌の汚染量と感染事例について、レジオネラ症防止指針第 3 版、財団法人ビル管理教育センター、105-106、　東京、2009 年 3 月.

12) 遠藤卓郎、縣　邦雄、倉　文明、古畑勝則、泉山信司：付録 2 レジオネラ属菌検査法について、レジオネラ症防止指針第 3 版, 財団法人ビル管理教育センター、107-115、東京、2009 年 3 月.

13) 遠藤卓郎、縣　邦雄、倉　文明、古畑勝則、泉山信司：付録 6 掛け流し式温泉の衛生管理について、レジオネラ症防止指針第 3 版, 財団法人ビル管理教育センター、126-128、東京、2009 年 3 月.

14) 藤丸武、荒川正嘉、石崎勉、泉福英信、ハイドロキシアパタイトの口腔疾患関連微生物に対する吸着能、Fragrance Journal、6: 19-25, 2008.

15) 泉福英信、熊田昌幸、田上順次、細菌間相互作用における乳酸菌の口腔バイオフィルム形成抑制効果、日本歯科評論. 789: 39-40.2008

16) 河原井武人、米田早織、佐伯洋二、落合邦康、泉福英信. *Actinomyces naeslundii* のバイオフィルム形成に及ぼす短鎖脂肪酸の影響. Bacterial Adherence and Biofilm, 22: 87-93, 2008.

17) 寺嶋　淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原明子、渡辺治雄；分子疫学的手法に基づいた食中毒の監視体制：パルスネットについて。第 26 回獣医疫学会学

術集会教育講演。89-92, 2008
18) 寺嶋　淳。検査質問箱 QA　無症状の病原性大腸菌が検出された場合。検査と技術、36, 862-864, 2008
19) 寺嶋　淳。腸管出血性大腸菌による食中毒。化学療法の領域、24, 1017-1024, 2008
20) 泉谷秀昌：サルモネラ食中毒。化学療法の領域、第 24 巻第 7 号、1009-1015、2008 年 7 月.
21) 泉谷秀昌：チフス菌・パラチフス A 菌。バイオセーフティの事典。バイオメディカルサイエンス研究会、2008 年 12 月.
22) 川端寛樹. 野兎病菌. バイオセーフティの辞典-病原微生物とハザード対策の実際-. NPO 法人バイオメディカルサイエンス研究会編集. みみずく舎/医学評論社. pp181-182, 2008.
23) 川端寛樹. ボレリア・ブルクドルフェリ抗体. Medical Technology 別冊「新・臨床検査項辞典」医歯薬出版. pp664-665, 2008.
24) 川端寛樹, 高野愛, 渡邉治雄. ライム病. 「ズーノーシスハンドブック」. メディカルサイエンス社. 2008.
25) 川端寛樹, 高野愛, 渡邉治雄. 回帰熱. 「ズーノーシスハンドブック」. メディカルサイエンス社. 2008.
26) 高橋英之・渡辺治雄、新領域別症候群シリーズ No.8、呼吸器症候群（第２版)、エルシニア肺炎-肺ペストとペスト肺炎、258-260、2008.
27) 高橋英之・今岡浩一、ズーノーシスハンドブック、ペスト、159-161、2008
28) 池辺忠義、阿戸学、小林和夫、渡辺治雄. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序－菌の特徴と免疫回避機構－. BIO Clinica 北隆館 23 (14): 1321-1326, 2008.
29) 村上光一, 長野英俊, 野田多美枝, 濱崎光宏, 堀川和美, 石黒靖尚, 乙藤武志, 迎田惠之, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎: 浴場施設でのレジオネラ属菌と宿主アメーバの関連, およびレジオネラ属菌を塩素消毒により制御する場合の問題点、防菌防黴, 36(11): 749-756, 2008.
30) 前川純子, 倉　文明, 金子紀子, 渡辺祐子, 磯部順子, 貫名正文, 中嶋　洋, 河野喜美子, 多田有希:レジオネラ臨床分離株の収集と型別から得られた知見、病原微生物検出情報 29(12):332-333, 2008.

学会発表

欧文発表

1) Jiro Mitobe, Tomoko Morita-Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein *hfq* in the osmotic response regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. The 38th US-Japan Medical conference Cholera board. Fukuoka, Japan. 2008 Dec. 16-19,
2) Jun Terajima: Molecular epidemiological analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 isolates in Japan. National Agriculture and Food Resarch Organization International Symposium on Food Safety 2008, Tsukuba, Ibaragi. Oct. 2008,
3) H. Izumiya, J. Terajima, and Haruo Watanabe: Fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica* serovar

Typhimurium in Japan. 48th Annual ICAAC/ISDA 46th Annual Meeting, Washington, DC, USA. Oct. 2008,

4) Kura F, Amemura-Maekawa J, Yamazaki T, Endo T, Watanabe H, Morimoto Y, Iwabuchi K, Kumada H, Fujita M, Kuroki T, Sugiyama K, Niikawa A, Hara N, Saishu N, Ogata K, Agata K: Surveillance of *Legionella* in hot springs with physicochemical and microbiological water quality parameters. 23rd Annual Meeting of the European Working Group for Legionella infections. Madrid. May 2008.

5) Senpuku H, Yoneda S and Watanabe H, A quick diagnosis system for salivary antibody to *S. mutans* and potential caries risk, 108th ASM General meeting, Boston, Jun, 2008.

6) Nakamura M, Fujibayashi T, Tominaga A, Kawarai T, Satoh N, Yamazaki T, and Senpuku H, Preventive effects of hinokitiol against *C.albicans* adherence to epithelial Cells, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.

7) Takeuchi H, Kawauchi T, Okuda K, Tanaka K, Kawamura K, Nomura Y, Senpuku H, and Hanada N, Physicochemical treatment against periodontopathic bacteria using 3DS and azithromycin, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.

8) Motegi M, Yonezawa H, Nakao R, Yoneda S, Takagi Y, and Senpuku H. 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research., Toronto, Canada. July. 2008.

9) Senpuku H, Koba H, and Okuda K, Characterizations of peptide binding to SRCRP2 and inhibiting streptococcal adherence, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.

10) Kawabata H, Takano A, Watanabe H. Lyme disease and other tick-borne infectious diseases. 4th International Infection Control Conference of Theodore Bilharz Research Institute (TBRI). Egypt, Nov. 2008.

11) Takano A, Kawabata H, Watanabe H, Shino T, Goka K, Une Y, Fujita H. The reptile associated ticks and *Borrelia* from imported Reptiles. International Symposium on Mite & Whitefly. Korea, Oct. 2008.

12) Tabara K, Fujita H, Yano Y, Arai S, Kawabata H, Takada N: Survey of acari-borne emerging/reemerging rickettsiae in Shimane Prefecture facing the Asian continent, with reference to the geopathological significance in countries around East China Sea. International Conference on Rickettsiae and Rickettsial diseases. France, May, 2008.

13) Morita, M., Izumiya, H., Ohnishi, M.,

Arakawa, E., Yamamoto, S., Nair, G.B., Alam, M., Matsushita, S., Yokoyama, K., Kai, A., Seto, K., Nishimura, K., Watanabe, H.: Easy method for detection of the biotype specific cholera toxin B subunit of *Vibrio cholerae* O1 and dissemination of the altered El Tor strains. 43rd US-Japan Cholera and Other Bacterial Infections Joint Panel Meeting, Fukuoka. Nov. 2008.

14) Tokunaga, A., Yamaguchi, H., Osawa, R., Morita, M., Arakawa, E., Izumiya, H., Watanabe, H., Novel PCR-based DNA fingerprinting, using genomic variability between repetitive sequences of *Vibrio cholerae* O1 El Tor and O139 isolates. 43rd US-Japan Cholera and Other Bacterial Infections Joint Panel Meeting, Fukuoka. Nov. 2008.

15) Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, Bin Chang, and Haruo Watanabe, Jürgen H. Helbig. Sequence based typing and monoclonal antibody typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1 clinical and environmental isolates in Japan. 23rd Annual Meeting of the European Working Group for Legionella infections. Madrid, Spain. May 2008.

16) Miyo Murai, Hideaki Moriyama, Junko Amemura-Maekawa and Haruo Watanabe. The sequence divergence of the A region of fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* among isolated strains from patients and healthy nasal carriers. The 13th International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections (ISSSI), Cairns, Australia. September 2008.

17) Ikebe, T., Ato, M., Kobayashi, K., Watanabe, H. Impairment of global regulatory network of Streptococcus pyogenes virulence genes provokes neutrophil incompetence and subsequent streptococcal toxic shock-like syndrome. Forum of the network of research centers on infectious diseases. Hanoi, 2008.

18) Morita M and Yamamoto S. Research activities of *Vibrio cholerae* at NIID. 1st Training Mission in Cholera: Collaborative Research and Case Management, Kolkata, India. Sep 2008.

19) Tomoko Ishihara, Jun Terajima, Hidemasa Izumiya, Haruo Watanabe. Analysis on the inhibition mechanism of cell destruction by *Shigella* infection. Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases. Hanoi, Vietnam. October 2008.

20) Chang B, Honda N, Yoshida S, Amemura-Maekawa J, Kura F, and Watanabe H. Discrimination of viable and dead *Legionella* cells by a combined use of photoactivated ethidium monoazide and PCR/real-time PCR. XII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Istanbul, Turkey, 2008.

和文学会

1) 本田尚子、伊豫田淳、山本 章治、渡邉治雄：EHEC における 3 型蛋白質分泌システムのマスター制御遺伝子 pch の LysR 型転写制御因子 LrhA による発現制御機構。第 91 回日本細菌学会関東支部総会、2008 年 10 月、千葉
2) 本田尚子、伊豫田淳、山本 章治、寺嶋 淳、渡邉治雄：腸管出血性大腸菌における LEE 遺伝子群のマスターレギュレーター Pch の LrhA による発現制御。第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋
3) 伊豫田淳、本田尚子、山本 章治、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多重発現制御機構、第 82 回日本細菌学会総会・ワークショップ・「大腸菌の病原性」、2009 年 3 月、名古屋
4) 中山周一. 日本性感染症学会　第 21 回学術大会　シンポジウム２「梅毒血清反応の問題点」;「自動測定法の検査方法について」(2008 年 12 月、東京)
5) 荒川英二、宮原美知子　PCR による食品からの腸炎ビブリオ迅速検査法の検討、第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム、2008 年、富山
6) 荒川英二、森田昌知、山本章治、泉谷秀昌、渡辺治雄　コレラ様下痢症から分離される *Vibrio cholerae* non-01/non-0139 の血清学的、遺伝学的解析、第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム、2008 年、富山
7) 山本章治、泉谷秀昌、森田昌知、荒川英二、渡辺治雄：コレラ菌の遺伝子を迅速に改変する手法の確立、第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋
8) 徳永暁彦，大澤朗，森田昌知，荒川英二，渡辺治雄　*Vibrio cholerae* の可変 DNA 領域を標的とした新規 DNA フィンガープリンティング法の開発、第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム、2008 年、富山
9) 山崎貢、青木日出美、松本昌門、平松礼司、遠山明人、池川敬、森下高行、長谷川敏博、八柳潤、加藤美和子、尾畑浩魅、本庄峰夫、岩出義人、福島博、緒方喜久代、犬塚和久、熊谷則道、一戸邦彦、荒川英二、伊藤健一郎、皆川洋子　*Vibrio parahaemolyticus* 耐熱性溶血毒類似毒素(*trh*)遺伝子の亜型分布について、第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム、2008 年、富山
10) 志牟田　健、伊豫田　淳、後藤　直正、渡辺　治雄、大西　真．*Serratia marcescens* ホスホリパーゼ A PhlA の解析. 第 82 会日本細菌学会総会、名古屋、2009、3 月
11) 石原朋子、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡辺治雄：赤痢菌による感染上皮細胞の破壊抑制機構についての解析、第 82 回日本細菌学会総会、2008 年 3 月、名古屋
12) 近藤　誠、伊藤　芳幸、磯田　憲一、山中　恵一、黒川　一郎、水谷　仁、山崎利雄、クラリスロマイシンが奏功した非定型抗酸菌症の一例、第 107 回日本皮膚科学会総会、2008、4 月、京都
13) 山崎利雄、山本三郎、結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法　二次抗結核薬についての検討、第 83 回日本結核病学会総会、2008、4 月、東京
14) 山崎利雄、山本三郎、ATP 法による二次抗結核薬を用いた迅速薬剤感受性試験法の検討、第 78 回実験結核研究会、2008、

4月、東京
15) 山崎利雄、生物発光法を用いた結核菌の二次抗結核薬にたいする迅速薬剤感受性試験法の検討、第55回日本臨床検査医学会総会、2008、11月、名古屋
16) 小泉信夫, Sharon Y.A.M. Villanueva, 大西真, 柳原保武, 吉田真一, 渡辺治雄. フィリピンの動物から分離・検出されたレプトスピラの解析. 第82回日本細菌学会総会, 2009年3月.
17) Sharon Y.A.M. Villanueva, 江副浩和, 柳原保武, 小泉信夫, 増澤俊幸, 吉田真一. Human and Animal Studies on Leptospirosis in the Philippines. 第82回日本細菌学会総会, 2009年3月.
18) 増澤俊幸, 岡本能弘, 福井貴史, 小泉信夫, Sharon Y.A.M. Villanueva, 柳原保武, 吉田真一. DNAジャイレースBサブユニット遺伝子 gyrB によるレプトスピラ分類とその応用. 第82回日本細菌学会総会, 2009年3月.
19) 小泉信夫, 武藤麻紀, Sharon Y.A.M. Villanueva, 大西真, 柳原保武, 吉田真一, 渡辺治雄. フィリピンの動物から分離・検出されたレプトスピラの解析. 第46回レプトスピラシンポジウム, 2009年3月.
20) Sharon Y.A.M. Villanueva, Chakraborty A, Ezoe H, Koizumi N, Yanagihara Y, Yoshida Y. ligA DNA vaccine trial on Golden Syrian hamsters. 第46回レプトスピラシンポジウム, 2009年3月.
21) 増澤俊幸, 川谷慶太, 川島遥, 岡本能弘, 福井貴史, 小泉信夫, Sharon Y.A.M. Villanueva, 柳原保武, 吉田真一. DNAジャイレースBシークエンス解析による血清型の推定　フィリピン分離株への応用. 第46回レプトスピラシンポジウム, 2009年3月.
22) 小泉信夫, 武藤麻紀, 山本正悟, 下村高司, 相馬宏敏, 渡辺治雄. 宮崎県におけるイヌのレプトスピラ症の発生状況及び分離株の性状解析. 人と動物の共通感染症感染症研究会, 2008年11月
23) 鈴木智之, 高橋亮太, 塩山陽子, 山本正悟, 岩切章, 三浦美穂, 石川幸治, 相馬宏敏, 小泉信夫, 武藤麻紀, 中島一敏, 岡部信彦. 宮崎県におけるレプトスピラ症の実地疫学調査. 人と動物の共通感染症感染症研究会, 東京, 2008年11月.
24) 塩山陽子, 山本正悟, 岩切章, 三浦美穂, 佐藤弘, 中島一敏, 大山卓昭, 谷口清洲, 岡部信彦, 鈴木智之, 高橋亮太, 小泉信夫, 武藤麻紀, 渡辺治雄. 宮崎県におけるレプトスピラ症の発生とその対応. 衛生微生物技術協議会第29回研究会, 2008年6月.
25) 塩山陽子, 山本正悟, 岩切章, 佐藤弘, 中島一敏, 大山卓昭, 谷口清洲, 岡部信彦, 鈴木智之, 高橋亮太, 小泉信夫. 宮崎県におけるレプトスピラ症の発生とその対応. 第82回日本感染症学会総会, 2008年4月.
26) 坂本光男, 加藤哲朗, 佐藤文哉, 堀野哲也, 中澤靖, 吉田正樹, 小野寺昭一, 河野緑, 保科定頼, 小泉信夫, 渡辺治雄. 当院で経験したレプトスピラ症の3例. 第82回日本感染症学会総会, 2008年4月.
27) 服部耕己, 磯崎泰介, 櫻井隆之, 大曲貴夫, 小泉信夫. 急激な経過をたどったレプトスピラ症の一例. 第82回日本感染症

学会総会，2008 年 4 月.

28) 常彬、前川純子、渡辺治雄。レジオネラ解析用パルスフィールド電気泳動(PFGE)法の改良。第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2009 年 3 月。

29) 三戸部治郎、石浜明、渡辺治雄. 赤痢菌の Type III secretion system の post-transcriptional な発現制御に関わる新規 RNA 結合蛋白。平成 21 年 3 月第 82 回日本細菌学会総会、名古屋国際会議場. 2009

30) 大西 真，志牟田健，渡辺治雄. 腸管外病原性大腸菌の系統および性状解析。第８１回日本細菌学会.2008

31) 渡辺祐子、高橋智恵子、大屋日登美、黒木俊郎、岡崎則男、大西 真. 淋菌の薬剤感受性の動向とセフィキシム耐性について.第２１回性感染症学会. 2009

32) 大西 真，志牟田健，渡辺祐子. 淋菌の MLST 型別を用いた系統解析。 第２１回性感染症学会.2009

33) 倉 文明、前川純子、鈴木敦子、市瀬正之、遠藤卓郎、渡辺治雄：*Legionella anisa* の同定法の比較検討. 第 82 回日本感染症学会総会、2008 年 4 月、松江.

34) 黒木俊郎、伊東久美子、石原ともえ、倉文明：入浴施設に関連したレジオネラ症発生時の浴槽水の菌濃度調査. 第 82 回日本感染症学会総会、2008 年 4 月、松江.

35) 神田 隆、高橋奈緒美、杉山寛治、泉山信司、倉 文明、遠藤卓郎：浴槽水を用いた核酸検出法と培養法の比較検討. 防菌防黴学会第 35 回年次大会、2008 年 9 月、浜松.

36) 倉 文明、泉山信司、縣 邦雄、遠藤卓郎:クロラミン B によるレジオネラ属菌の消毒. 防菌防黴学会第 35 回年次大会、2008 年 9 月、浜松.

37) 遠藤卓郎、泉山信司、倉 文明：クロラミン B によるレジオネラ属菌と *Naegleria* 属アメーバの消毒.環境技術学会第 8 回研究発表大会、2008 年 9 月、堺.

38) 泉山信司、倉 文明、縣 邦雄、八木田健司、遠藤卓郎、クロラミン B による *Naegleria* アメーバの消毒、第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会、2008 年 10 月、浜松.

39) 倉 文明：レジオネラの検査法、国立保健医療科学院平成 20 年度短期研修新興再興感染症技術研修、2008 年 11 月、武蔵村山.

40) 倉 文明：レジオネラの管理基準、分子疫学、検査法および感染事例.神奈川県衛生研究所平成20年度第3回公衆衛生専門技術研修、2008 年 12 月、茅ヶ崎.

41) 倉 文明:最近のレジオネラ属菌検査法と分子疫学への応用（前半)、平成 20 年度地域保健総合推進事業、「科学的根拠に基づく政策決定を支援するための地方衛生研究所の試験研究機能の強化及び情報ネットワークの構築」に関する地方衛生研究所間等甲信静ブロック専門家会議、2009 年 1 月、静岡.

42) 倉 文明：入浴施設の迅速・簡便な衛生管理のための検査法の最前線、厚生労働省健康局生活衛生課平成 20 年度生活衛生関係技術担当者研修会、第 2 部レジオネラ症対策等について、2009 年 3 月、東京.

43) 倉 文明：浴槽水環境におけるレジオネラの増殖リスクおよび必要とされる迅速

検査、ワークショップ環境改変と感染症、第 82 回日本細菌学会総会、招請講演、2009 年 3 月、名古屋.

44) 泉福英信、奥田健太郎、S. mutans の歯表面付着阻害ペプチドの特徴、第 50 回歯科基礎医学会、東京、2008 年 9 月 24 日

45) 猪原光、河原井武人、米田早織、植松宏、泉福英信、1 型糖尿病およびシェーグレン症候群発症における e2f-1 の役割、第 50 回歯科基礎医学会、東京、2008 年 9 月 24 日

46) 米田早織、河原井武人、佐伯洋二、津金貴則、泉福英信、落合邦康、歯周病原菌代謝産物・短鎖脂肪酸の *Actinomyces naeslundii* バイオフィルム形成におよぼす影響、第 50 回歯科基礎医学会サテライトシンポジウム、東京、2008 年 9 月 23 日

47) 泉福英信、歯科診療における院内感染対策の導入に関するアンケート調査の分析、第 57 回日本口腔衛生学会・総会、大宮、2008 年 10 月 4 日

48) 泉福英信、池辺忠義、河原井武人、渡辺治雄、におけるバイオフィルム形成遺伝子の検討、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2008 年 3 月 12 日～3 月 14 日

49) 成澤直規、河原井武人、米田早織、渡辺治雄、泉福英信、う蝕原性 *Streptococcus mutans* 多様性出現機構の解明、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2008 年 3 月 12 日～3 月 14 日

50) 河原井武人、成澤直規、米田早織、津金貴則、佐伯洋二、落合邦康、渡辺治雄、泉福英信、*Streptococcus mutans* による非水溶性グルカン非依存的なバイオフィルム形成、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2008 年 3 月 12 日～3 月 14 日

51) 寺嶋　淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、渡邉治雄；最近の腸管出血性大腸菌感染症の動向について。第 82 回日本細菌学会総、2009 年 3 月、名古屋

52) 大岡唯祐、小椋義俊、井口　純、Md Asadulghani、中山恵介、小林秀樹、寺嶋淳、渡辺治雄、林　哲也；腸管出血性大腸菌(EHEC)及び腸管病原性大腸菌(EPEC)における LEE 領域の多様性解析。第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋

53) 寺嶋　淳；近年の腸管出血性大腸菌感染症の発生状況。日本獣医公衆衛生学会シンポジウム「腸管出血性大腸菌による感染症の実態と対策」 平成 20 年度日本獣医師会学会年次大会　2009 年 1 月、盛岡

54) 寺嶋　淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原明子、渡辺治雄；分子疫学的手法に基づいた食中毒の監視体制：パルスネットについて　第 26 回獣医疫学会学術集会、2008 年 11 月、東京

55) 泉谷秀昌、多田有希、伊藤健一郎、寺嶋淳、渡辺治雄：渡航者由来赤痢菌の遺伝子型別。第 82 回日本感染症学会総会、松江市、2008 年 4 月。

56) 泉谷秀昌：サルモネラ。薬剤耐性菌解析機能強化研修会、東京都、2008 年 6 月。

57) 木股裕子、郡司明博、森田友美、加藤愛、若山裕晃、吉田信一郎、藤村彩子、古賀寛二、財前孝亮、泉谷秀昌、仲西寿男：*Salmonella* Enteritidis の過去と現在(2)。第 29 回日本食品微生物学会学術総会、広島市、2008 年 11 月。

58) 深澤鈴子、田嶋智美、泉谷秀昌：血液培

養から*Helicobacter trogontum*を検出した1症例。第20回日本臨床微生物学会総会、仙台市、2009年1月。

59) 泉谷秀昌：国内発生の赤痢事例から分離された赤痢菌の解析。平成20年度希少感染症診断技術研修会、東京都、2009年2月。

60) 泉谷秀昌：細菌検査の現状と問題点について。精度管理：外国の現状。第48回感染性腸炎研究会総会、東京都、2009年3月。

61) 泉谷秀昌：我が国におけるサルモネラ感染症の動向。第82回日本細菌学会総会、名古屋市、2009年3月。

62) 高野 愛，川端寛樹，渡邉治雄，藤田博己，椎野貞一郎，五箇公一，宇根有美：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 coevolution に関する新見解．第 53 回日本応用動物昆虫学会大会，2009年3月．北海道．

63) 高野　愛，藤田博己，安藤秀二，川端寛樹，渡邉治雄．野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討．第 82 回日本細菌学会総会．2009年3月．愛知．

64) 大橋典男，鳥日図，高娃，川森文彦，高野愛，川端寛樹，安藤秀二，岸本壽男．国内初の新興感染症「アナプラズマ症」について．第82回日本細菌学会総会．2009年3月．愛知．

65) 井上　快，壁谷英則，川端寛樹，宇根有美，吉川泰弘，丸山総一．小型哺乳類を自然宿主とする病原性 *Bartonella* 属菌の生態に関する研究．第147回日本獣医学会学術集会．2009年3月．栃木．

66) 岡田玲奈，木花いづみ，武藤麻紀，高野愛，川端寛樹，渡邉治雄．ライム病の一例．第823回日本皮膚科学会東京地方会．2009年1月．神奈川．

67) 川端寛樹，高野　愛，渡邉治雄．実験室内に病原体の姿を探る．第63回日本衛生動物学会西日本支部大会（教育講演）．2008年11月．神戸．

68) 大橋典男，高蛙，鳥日図，川森文彦，千屋誠造，安藤秀二，川端寛樹，岸本寿男．新興感染症「アナプラズマ症」患者の発見．第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会．2008年11月．岐阜．

69) 安藤秀二，坂田明子，宇根有美，五箇公一，藤田博己，花岡 希，高野 愛，川端寛樹，岸本寿男．輸入爬虫類が病原体を持ち込むリスクに関する考察．第26回日本クラミジア研究会・第15回リケッチア研究会合同学術集会．2008 年 11 月．岐阜．

70) 岸本寿男，安藤秀二，猪熊壽，岩崎博道，大橋典男，岡部信彦，川端寛樹，倉田毅，高田伸弘，堤寛，田原研司，藤田博己，古屋由美子，山本正吾．リケッチア感染症の早期警鐘システム構築-国内実態調査及び早期診断体制の確立に向けた現状と課題．第26回日本クラミジア研究会・第15回リケッチア研究会合同学術集会．2008年11月．岐阜．

71) 安藤秀二，坂田明子，鶴見みや古，尾崎清明，藤田博己，花岡希，高野 愛，川端寛樹，渡邉治雄，岸本寿男．鳥類に関連するマダニ類からのリケッチアの検出．第146回日本獣医学会学術集会．2008年9月．宮崎．

72) 高野 愛，鶴見みや古，尾崎清明，藤田博

己，安藤秀二，川端寛樹，渡邉治雄．野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討．第 146 回日本獣医学会学術集会.2008 年 9 月．宮崎.

73) 森 亜紀奈，今内 覚，山田慎二，今村彩貴，伊東拓也，川端寛樹，小沼 操，大橋和彦．シュルツェマダニ（*Ixodes persulcatus*）唾液腺由来免疫抑制因子の同定および発現解析．第 146 回日本獣医学会学術集会.2008 年 9 月．宮崎.

74) 下長根藍,井上 快,壁谷英則,川端寛樹，高田伸弘，林谷秀樹，丸山総一．わが国の野鼠における *Yersinia enterocolitica* の保有状況と分離株の *gyrB* 遺伝子系統解析．第 146 回日本獣医学会学術集会.2008 年 9 月．宮崎.

75) 鶴見みや古，尾崎清明，藤田博己，坂田明子，武藤麻紀，高野愛，山内健生，川端寛樹，安藤秀二，岸本壽男．鳥類外部寄生虫からの病原体の検出―鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採集―．日本鳥学会 2008 年度大会.2008 年 9 月．東京.

76) 藤田博己，安藤秀二，川端寛樹，坂田明子，高野　愛．福島県のハシブトマダニとタネガタマダニからのリケッチア分離例．第 60 回日本衛生動物学会大会．2008 年 4 月．栃木.

77) 本田俊郎，藤田博己，藏元強，御供田睦代，角坂照貴，高田伸弘，矢野泰弘，川端寛樹,高野　愛,山本正悟,田原研司,及川陽三郎．鹿児島県トカラ列島のマダニ相とマダニ保有病原体の調査．第 60 回日本衛生動物学会大会．2008 年 4 月．栃木

78) 本田俊郎,角坂照貴,川端寛樹,高野　愛,藤田博己，藏元強，御供田睦代，高田伸弘，矢野泰弘，山本正悟，田原研司，及川陽三郎．鹿児島県トカラ列島の野鼠類と野鼠保有病原体の調査.第 60 回日本衛生動物学会大会．2008 年 4 月．栃木

79) 川端寛樹,坂田明子,安藤秀二,高野　愛,渡辺治雄，鶴見みや古，尾崎清明，藤田博己.国内生態系における *Borrelia* 属細菌の拡散に関与する宿主鳥類と媒介マダニ．第 60 回日本衛生動物学会大会．2008 年 4 月．栃木.

80) 川端寛樹，高野　愛，安藤秀二，花岡希,坂田明子，藤田博己，河村好章，清島真理子，角坂照貴，渡辺治雄．マダニ刺咬例調査によって見いだされた新しいボレリア感染症．第 82 回日本感染症学会総会 2008 年 4 月.島根

81) 田原研司,藤田博己,新井 智,矢野泰弘,高田伸弘，片山 丘，川端寛樹．島根県におけるダニ媒介性感染症の実態と病原体の浸淫状況.第 82 回日本感染症学会総会 2008 年 4 月.島根

82) 高橋英之：病原性ナイセリア属菌に関して、平成 20 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。

83) 高橋英之、渡邉治雄：Signature tag mutagenesis による髄膜炎菌の新規病原性因子の網羅的探索、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2008 年 3 月。

84) 森田昌知、泉谷秀昌、渡辺治雄、相楽裕子、大西健児：2008 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 48 回感染性腸炎研究会総会、2009 年 3 月、東京

85) 森田昌知、大倉正稔、泉谷秀昌、荒川英

二、山本章治、大西　真、渡辺治雄：*Vibrio cholerae* における III 型分泌装置遺伝子群の分布、第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋

86) 徳永暁彦、山口博史、大澤　朗、森田昌知、荒川英二、渡辺治雄、*Vibrio cholerae* の可変 DNA 領域を標的とした新規 DNA フィンガープリンティング法の開発：第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋

87) 前川純子．レジオネラの検査法の進歩．ワークショップ　レジオネラの細菌学，第 82 回日本細菌学会総会，　名古屋，2009 年 3 月．

88) 村井美代、前川純子、渡辺治雄．黄色ブドウ球菌ファイブロネクチン結合タンパク A 領域の変異が立体構造へ及ぼす影響．第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2009 年 3 月．

89) 前川純子，　倉　文明，　常　彬，　市瀬正之，　渡辺治雄．　*Legionella pneumophila* 血清群 1 分離株の遺伝子型別およびモノクローナル抗体型別．　第 82 回日本細菌学会総会，　名古屋，2009 年 3 月．

90) 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における *csrS* 変異の解析．第 82 回日本細菌学会総会、愛知、2009.

91) 阿戸学、池辺忠義、渡辺治雄、小林和夫．劇症型感染分離溶血性レンサ球菌株はストレプトリジン O および接触依存的にヒト好中球を傷害する．第 82 回日本細菌学会総会、愛知、2009.

92) 泉福英信、池辺忠義、河原井武人、渡辺治雄．*Streptococcus pyogenes* におけるバイオフィルム形成遺伝子の検討．第 82 回日本細菌学会総会、愛知、2009.

93) 池辺忠義．劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序．第 82 回日本感染症学会総会、島根、2008.

94) 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、京都、2008.

95) 阿戸学、池辺忠義、竹森利忠、渡辺治雄．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、2008

96) 阿戸学、池辺忠義、渡辺治雄、小林和夫．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．第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008

5．細 菌 第 二 部

部 長　荒 川 宜 親

概　要

細菌第二部は、主に呼吸器系感染症を引き起こす各種の病原細菌に関する研究や調査を担当するとともに、院内感染症の原因となる各種の薬剤耐性菌や毒素産生性の嫌気性菌の調査や解析、細菌感染症と特定疾患などの原因不明の疾患との関連性の研究、抗酸菌やヘリコバクターなどの慢性持続性感染症起因菌に関する研究などを担当している。これらの研究は、複数の厚生労働科学研究費補助金や文部科学研究費補助金などを獲得して実施され、地方衛生研究所や国内外の大学等研究機関、医療機関等との連携や共同研究により、後述するような様々な成果を上げた。また、所管する病原菌に関し、地方衛生研究所などと協力しつつ行政検査等のレファレンス業務を担当している。一方、DPT ワクチンや Hib ワクチン、BCG 製剤、抗生物質製剤、各種抗毒素製剤（抗血清）の国家検定や収去検査、承認前検査などを担当している。

これらの多様な業務は第一室から第五室の５つの研究室の分担と連携で実施されている。具体的には、第一室では、薬剤耐性菌やそれによる感染症の調査や研究、厚生労働省の院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業の事務局機能とともに、国内で製造・販売されている抗生物質製剤の収去検査、日本薬局方に収載されている抗生物質標準品の製造と管理などを担当している。第二室では、マイコプラズマやインフルエンザ菌に関する研究や検査を担当し、その他、*Clostridium difficile*、*Bartonella quintana*、ペニシリン低感受性 *Streptococcus agalactiae*（PRGBS）などの解析や研究を担当している。同時に、ワクチンなどの生物学的製剤の無菌試験や無菌性保証に関する対応、ヘモフィルス b 型ワクチン（Hib ワクチン）の国家検定を担当している。第三室は、ジフテリアの原因菌である *Corynebacterium diphtheriae* やそれに関連する *Corynebacterium* 属菌の検査や研究、破傷風菌やボツリヌス菌等の毒素産生性の偏性嫌気性菌の解析や研究、レファレンスを担当し、これらによる感染症の予防や治療に用いる、ワクチンや抗毒素製剤の国家検定等の品質管理を担当している。第四室では、持続性感染症の原因となる抗酸菌やヘリコバクターに関する研究とともに、BCG 製剤や精製ツベルクリンの国家検定などを担当している。第五室では、最近、成人で問題となっている百日咳菌に関する解析や研究を担当し、同時に、百日咳ワクチンの力価試験や特殊毒性試験、幾つかの生物学的製剤におけるエンドトキシン試験、更にインフルエンザ HA ワクチンなどの特殊毒性試験などを担当している。また、生物学的製剤の品質管理に必要な生物統計に関する照会対応なども担当している。

その他、部長や室長は、所管する病原体や感染症、生物学的製剤、抗生物質製剤に関連して、WHO や厚生労働省、農林水産省、内閣府食品安全委員会などの各種専門委員会等の委員、医薬品医療機器総合機構（PMDA）の専門委員などとして行政機関の機能や業務を専門的な観点から支援している。

国際的には、WHO の“Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products”としての活動し、様々な国際会議等に参加した。

常勤職員の異動としては、平成 20 年 5 月 1 日付で落合雅樹主任研究官が検定検査品質保証室（細菌第二部併任）に配置換された。平成 20 年 8 月 31 日付で薬剤耐性菌の研究や抗生物質の品質管理を担当した柴田尚宏主任研究官が出身医局の関連病院に転出された。平成 20 年 9 月 1 日付で韓 賢子が任期付研究員（第五室）として採用され、平成 21 年 3 月 1 日付で韓国の国立 Chonnam 大学に転出された。平成 20 年 10 月 1 日付で和知野純一が研究員（第四室）として採用され、平成 21 年 2 月 1 日付で木村幸司が主任研究官として採用された。また、平成 21 年 3 月 31 日付で、長年、無菌試験やインフルエンザ菌の解析や研究等に貢献のあった新谷三春主任研究官が定年退官された。臨時職員として瀬川晶子、甲斐久美子、瀧 世志江、宮永由弥子、筒井敦子、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、鰺坂裕美、片岡紀代（業務管理課所属）が在籍し、研究補助及び事務補助等に従事した。また、客員研究員として佐々木次雄、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、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、森本泰隆、山下美穂子、山田幸司、三浦英靖、山田耕二、本間 操、畑中公基、流動研究員として木村幸司、和知野純一、朴 貞玉、韓 賢子、石和玲子、研究生として長野由起子、吉田理紗、中村幸嗣、実習生として Lisa K.Wong が在籍し、病原細菌等に関する様々な研究を行った。

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

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、毒素遺伝子検査、菌株タイピング解析、菌種同定、*Clostridium difficile* 分離同定、*C. difficile* 毒素検出等の解析を実施し、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.（77 株）、*Staphylococcus* spp.（35 株）、*Streptococcus* spp.（228 株）、*Clostridium* spp.（329 株）、*Pseudomonas* spp.（192 株）、*Escherichia coli*（687 株）、*Enterobacter* spp.（9 株）、*Serratia marcescens*（6 株）、*Citrobacter* spp.（11 株）、*Proteus mirabilis*（7 株）、*Providencia* spp.（5 株）、*Klebsiella* spp.（11 株）、*Acinetobacter* spp.（14 株）、*Alcaligenes xylosoxidans*（1 株）、*Morganella morganii*（1 株）、*Neisseria gonorrhoeae*（1 株）、*Helicobacter cinaedi*（3 株）、*Bacillus cereus*（14 株）、*Corynebacterium* sp.（1 株）、*Streptomyces menjimariensis*（1 株）、その他（1 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、加藤はる、柴田尚宏、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、木村幸司、和知野純一、近田俊文、荒川宜親］

２．VIM-1 型メタロ-β-ラクタマーゼを産生する多剤耐性緑膿菌の院内感染事例の解析

兵庫県の医療機関から送付された多剤耐性緑膿菌のカルバペネム耐性に関連する耐性因子の検索を行ったところ、日本で報告のない VIM-1 型メタロ-β-ラクタマーゼを産生していることが明らかとなった。また、複数の患者から同様の感受性を示す株が分離されたことからパルスフィールドゲル電気泳動法によるタイピングを行ったところ同一のクローンであることが明らかになった。［山根一和、鈴木里和、甲斐久美子、荒川宜親］

３．*Bacillus cereus* の院内感染事例の解析

千葉県の同一医療機関に入院中の複数の患者から分離された *B. cereus* をパルスフィールドゲル電気泳動法によるタイピングによって同一のクローンであることを明らかにした。［山根一和、鈴木里和、甲斐久美子、荒川宜親］

４．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多剤耐性緑膿菌、多剤耐性アシネトバクター、ESBL 産生大腸菌による各院内感染事例について、耐性遺伝子の解析、及び 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。更に、ESBL 産生大腸菌に関しては同一クローン株の広域伝播が大腸菌の薬剤耐性率に及ぼす影響についての検討を実施した。［鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、筒井敦子］

５．バンコマイシン耐性腸球菌によるアウトブレイク時の有用なスクリーニング法の検討

バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）による院内感染が発生した際の実用的かつ効率的なスクリーニング方法について、検体の採取方法、採取回数、培養方法などを検討した。直腸スワブを 3 回採取し、VRE 選択平板培地に直接塗布する方法が推奨された。［鈴木里和、山根一和、筒井敦子］

６．バンコマイシン耐性腸球菌の保菌に関連する危険因子

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）の保菌調査を行い、VRE 保菌が明らかになった 14 名と VRE 陰性であった 26 名について保菌に関する調査を症例対照研究によって明らかにした。単変量解析の結果、制酸剤の使用、抗菌薬の事前使用、VRE 保菌者と同じ病棟に入院中の患者などが危険因子となった。［山根一和、鈴木里和、荒川宜親］

７．基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ遺伝子の２種類同時保有 *Enterobacter cloacae* のβ-ラクタマーゼ解析とプラスミド解析

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* が分離されたが、この分離菌は extended-spectrum β-lactamases（ESBLs）産生が疑われた。耐性遺伝子解析により 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明らかとなった。アジア地域でも同様の ESBL 産生菌が報告されており、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に注意を喚起した。［柴田尚宏、本間 操、荒川宜親］

８．ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の出現時期の推定

1977 年から 2005 年に国内で分離された B 群連鎖球菌

について、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の有無を検討した結果、最も古いペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌は 1995 年に分離されたものである事が明らかになり、日本では 1990 年代中期にペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌は出現したと推定された。［木村幸司、荒川宜親］

Ⅱ．抗菌薬関連下痢症／*Clostridium difficile* 等に関する研究

１．*Clostridium difficile* BI/NAP1/027 株の PCR による検出

C. difficile の BI/NAP1/027 株に特異的な *slpA* 遺伝子配列からプライマーを設計し、BI/NAP1/027 株の PCR による迅速・簡便な同定法を開発した。［加藤はる］

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施設において分離された合計 104 菌株の解析を行った。病院 A では、複数症例への伝播を示唆するクラスターは認められるものの、同一クローンが施設内にひろがっている所見はなかった。病院 B 及び病院 C では、それぞれ異なるタイプの菌株が優勢であり、遺伝子背景が同一の菌株が施設内で伝播していることが示唆された。［加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江（感染研）、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 difficile* 以外の *Clostridium* spp.の依頼解析

腹膜炎症例の腹水から分離された *Clostridium perfringens* の解析を依頼され、major toxin 及び enterotoxin 遺伝子の検出解析を行った。また、ショック状態で入院し死亡した症例から、及びガス壊疽症例から分離された *Clostridium* spp.の同定が依頼され、*Clostridium septicum*、及び、*Clostridium sporogenes, Clostridium sordellii* と同定した。［加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江］

Ⅲ．マイコプラズマに関する研究

１．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

マイコプラズマが関与する可能性がある肺外病変として、リウマチ性関節炎について多数の疫学報告がなされている。関節腔からの *Mycoplasma fermentans* 遺伝子検出は、疫学報告の中でも有意差があることから、我々は、マイコプラズマ感染関節炎動物モデルを作成し、病態解析を行なっている。平成 20 年度は、新規診断、予防法の開発の評価の基礎となる関節病変のスコア化を試みた。関節腔への *M. fermentans* 生菌投与群においては、リンパ濾胞形成、滑膜増生などヒトのリウマチ性関節炎類似所見が観察され、そのスコアは、培地投与群の 3 倍の高値を示した。本モデルを用いた新規診断、予防法評価系作成の可能性が示唆された。［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）、永田典代・原嶋綾子（感染病理部）、網 康至・須崎百合子（動物管理室）、荒川宜親、佐々木次雄］

２．*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に、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。［堀野敦子、見理 剛］

３．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に、問題点の解決にむけて検討を行ってきた。その結果、採取した咽頭スワブ検体を常温で輸送するには、これまで病原体検出マニュアルに記載されていた輸送培地よりも、研究室で通常使用している PPLO 液体培地（10%ウマ血清、2.5%グルコース、AP200）が菌体分離に適当であることが明らかになった。この検討結果に基づき、病原体検出マニュアルに記載されている輸送培地を変更する予定である。［堀野敦子、見理 剛、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

昨年度に引き続き 2008 年 3 月ー2009 年 3 月に 8 県で小児侵襲性感染症から分離された *H. influenzae* 58 株について、生物型別、血清型別、薬剤感受性試験等により解析を行った。昨年度報告分の 34 株を合わせた計 92 株中、血清型については 90 株が b 型で、生物型については 1 型が最も多く（57 株、62%）、次いで 2 型（24 株、26%）、4 型（9 株、10%）であった。β-ラクタマーゼ産生株は 92 株中 13 株（14%）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、木村幸司、久保田（松岡）眞由美、荒川宜親、宮村達男（所長）］

２．小児細菌性髄膜炎培養陰性症例の起因菌推定

細菌性髄膜炎が疑われる小児症例から採取された培養陰性の髄液検体を用いて、遺伝子解析による起因菌推定を行った。繁用されている検出系である *Haemophilus influenzae* の 16S rRNA 遺伝子、*Streptococcus pneumoniae* の *lytA* 遺伝子（自己溶菌酵素）、*Neisseria meningitidis* の *crgA* 遺伝子（contact-regulated gene A）検出の PCR を行った。2007 年 8 月より、５県から細菌第二部に送付された 13 検体において、*S. pneumoniae lytA* 遺伝子陽性検体及び *N. meningitidis crgA* 遺伝子陽性検体が各 1 検体ずつ認められた。現在は、PCR 検出の対象起因菌を増やすとともに更に検出感度を上げた系での検出を試みている。［久保田（松岡）眞由美、佐々木裕子、新谷三春、加藤はる、荒川宜親］

Ⅴ．ジフテリアに関する研究

１．犬猫及び畜産動物における *Corynebacterium ulcerans* の分布調査並びに細菌学的及び遺伝子学的な解析

昨年 7 月に国内で初めてジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* を大阪府の犬管理指導所の調査で分離し、同所の継続調査と国内数カ所での調査を実施した。本年度は大阪府の犬の調査では 399 頭のうち 40 頭で菌分離が陽性であった。菌の解析結果と収容所の管理状況調査により、犬から犬への伝播は容易であることが明らかとなった。犬から分離した菌株は過去にジフテリア様症状の人から分離された株との遺伝子学的解析では、相同性において類似性が確認された。宮城県、群馬県、岡山県で実施した犬猫（84 頭）及び畜産動物（牛：700 頭、豚：100 頭）の調査では、本菌は検出されなかった。［高橋元秀、小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、見理 剛（国立感染症研究所）、勝川千尋、河原隆二、井上 清（大阪府立公衆衛生研究所）、山岸寛明、太田 優、西野俊冶（大阪府犬管理指導所）、中嶋 洋、狩屋英明（岡山県環境保健センター）、安井正広、難波泰治、片山真琴、井戸 司（岡山県食肉衛生検査所）、小林知也、東 正秋、橋本英典、藤原慎一（岡山県動物愛護センター）、畠山 敬、渡邉 節（宮城県保健環境センター）、吉岡幸信（宮城県食肉衛生検査所）、森田幸雄、小澤邦寿（群馬県衛生環境研究所）、松本寿男（群馬県中央食肉衛生検査所）：厚生労働科学研究費補助金、新興・再興感染症研究事業］

２．*Corynebacterium ulcerans* のリボタイピングによる解析研究

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。昨年度の解析では 2 菌株は同一のパターンを示したように見えたが、より高精度になるように改良された解析法を用いたところ、2 菌株のリボタイプが互いに異なることが判明した。現在、英国 Health Protection Agency と共同で、これらのリボタイプと海外分離菌のリボタイプの比較を行なっている。［岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

３．ジフテリア菌 C7(-)株及び PW8 株に関する研究

ジフテリア菌（*Corynebacterium diphtheriae*）C7(-)株が PAI（pathogenicity islands）のほとんどを欠きながら、細胞接着性など病原性の兆候を残していることを昨年報告した。今回、ジフテリア菌ワクチン株 PW8 株について、C7(-) 株同様のゲノム解析（Comparative Genomic Hybridization 法による）を行なった。PW8 株は、極めて病原性が低いと考えられているが、PAI のほとんどを持っていることが判明した。しかし、ゲノム株と比較すると小規模な塩基配列の相違が全ゲノムにわたって散在しており、このことが病原性の低さと関連している可能性が考えられた。［岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀］

４．LAMP 法によるジフテリア毒素遺伝子検出系の開発

LAMP 法は日本で開発された遺伝子増幅法で、操作の簡便性と高感度のため広く普及しつつある。我々は 2005 年度年報で、LAMP 法によるジフテリア毒素遺伝子検出系の開発について報告した。本年度は、咽頭スワブからの検出系の確立をめざして、まず模擬咽頭スワブ（咽頭

洗浄液に既知量のジフテリア菌を添加し綿棒に染み込ませたもの）を作成し、模擬スワブを蒸留水中で加熱した上清を LAMP 法の試料とすることで、検出できる最小の菌量を見積もった。その結果、スワブあたり 30 cfu の菌でジフテリア毒素遺伝子が検出可能であった。[岩城正昭、小宮貴子、山本明彦、高橋元秀]

Ⅵ．破傷風及びボツリヌス等に関する研究

１．日本国内の土壌での破傷風菌の分離

破傷風は、*Clostridium 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 26 都道府県から 320 検体の土壌を採取し、その三分の二について菌の分布状況を調べた。土壌 220 検体について、26 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]

２．ボツリヌス毒素高感度迅速検出系のサンドイッチイムノ PCR 法及びイムノクロマトキットの開発

マウス接種法に代わるボツリヌス毒素の高感度迅速検出系としてサンドイッチイムノ PCR 法及びイムノクロマトキットの開発を検討した。サンドイッチイムノ PCR の予備検討としてサンドイッチ ELISA において A 型神経毒素約 300 pg/mL の検出系を確立し、この反応条件を基に市販キットを使用してサンドイッチイムノ PCR では 100 pg/mL の毒素を検出した。また、イムノクロマトキットについては、金コロイドの検出系で約 10 ng/mL（1000 マウス ipLD50/mL）の毒素を検出する試作品が完成した。今後、国内ボツリヌスレファレンスセンター等に配布して有用性の検証・確認を行う。[高橋元秀、見理剛、向本雅郁・小崎俊司（大阪府立大）、東 成見・黒澤良和（藤田保健衛生大学）、高山勝好・小林行治（㈱アドテック）: 厚生労働科学研究費補助金、新興・再興感染症研究事業]

３．糖鎖を用いたボツリヌス毒素除去法及び検出法の開発研究

糖鎖を用いたボツリヌス毒素除去法及び検出法を開発するため、B 型ボツリヌス 16S 毒素の精製を行なった。7 種の B 型ボツリヌス菌について、Westernblotting により毒素産生能の比較を行ない、産生能が高いと判断された "111"株及び"Okra" 株について、それぞれ毒素の精製を行った。"111"株の 1 L 培養からは、硫安沈澱とイオン交換カラムクロマトグラフィーにより約 3.2 mg の毒素を精製した。一方、"Okra" 株の 10L 培養から、硫安沈殿法により、約 29.7 mg の毒素を抽出し、更にこれの一部をイオン交換カラムクロマトグラフィーにより精製し、約 1.7 mg の精製毒素を得た。精製した毒素はラクトースアフィニティーカラムに結合することが確認されており、糖鎖を用いた毒素除去法、検出法の開発に有用と期待された。[石和玲子（化学技術戦略推進機構）、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親]

Ⅶ．結核等抗酸菌に関する研究

１．結核菌のピラジナミド作用メカニズムの解析

結核の治療薬であるピラジナミドの作用機構の解析をおこなった。ピラジナミドの代謝に関わると予想される酵素の精製を行った。[朴 貞玉、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

２．抗酸菌の迅速な新規鑑別法の開発

昨年度までに開発した抗酸菌の鑑別 PCR 法を改良し、臨床的に重要な *Mycobacterium kansasii* を鑑別出来る方法を開発した。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、和知野純一、荒川宜親、松本智成、阿野裕美（大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター)]

３．結核菌由来の新規加リン酸分解酵素に関する研究

機能未知タンパク質である結核菌由来 Rv2613c の詳細な機能解析を行い、本タンパク質が diadenosine tetraphosphate 加リン酸分解酵素であることを初めて明らかにした。本酵素は既知の diadenosine tetraphosphate 加リン酸分解酵素と比較して、一次構造の特徴と基質特異性が大きく異なっていた。[森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親]

４．結核菌由来タンパク質の高次構造解析に関する研究

複数の結核菌由来タンパク質について、高次構造を決定して詳細な構造機能相関解析を行うため、スクリーニングキットを用いた結晶化条件の探索を行った。その結果、結核菌由来 diadenosine tetraphosphate 加リン酸分解酵素について高次構造解析に適した結晶が得られた。得られた結晶を用いて放射光科学研究施設で回折データの収集を行い、その結晶学的諸性質を明らかにした。[森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親]

５．非結核性抗酸菌の薬剤耐性メカニズムの解析

トランスポゾン（Tn5）による*Mycobacterium avium*の

遺伝子破壊系を構築した。ランダム変異体を作製後、薬剤感受性を測定した。薬剤感受性が変化した変異体についてTn*5*の挿入位置を決定したところ、薬剤排出ポンプやミコール酸合成に関連する遺伝子への挿入が確認された。［和知野純一、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親］

６．*Mycobacterium avium* 感染マウスの造血機能に関する研究

M. avium 感染のマウス造血幹細胞機能に対する影響を調べるプロジェクトをスタートさせた。病原性 *M. avium* ATCC25291 株を C57BL/6 マウス静脈内に投与し、経時的に肺、脾臓及び骨髄内生菌数を還元培養により求めた。感染後 12 週まで各臓器内菌数は増加し続け、12 週目には顕著な体重減少と死亡する個体も出現した。8 週目の造血機能は著明に低下し、*M. avium* 感染が造血機能低下により全身の免疫低下にも寄与する可能性が示唆された。［持田恵子、柴山恵吾、森茂太郎、益見厚子、滝澤和也、濱口 功］

Ⅷ．百日咳に関する研究

１．百日咳菌タイプ III エフェクターBopC の IS*481* による発現制御

百日咳流行株は病原因子の allele タイプからワクチン型と欧米型に分けられ、欧米型にはタイプ III エフェクターBopC の高発現が認められる。そこで、百日咳流行株における BopC 発現制御機構を明らかにすることを目的に、*bopC* の転写開始点ならびに転写量について検討を行った。その結果、ワクチン型における BopC の負の発現制御は IS*481* 挿入による転写量の低下ではなく、転写後の調節によることが判明した。［韓 賢子、蒲地一成、桑江朝臣・阿部章夫（北里生命研）、荒川宜親］

２．百日咳体外診断薬における凝集反応用抗原の再評価

百日咳の血清診断である菌凝集素価法について、凝集反応用抗原の再評価を行った。凝集用抗原株（山口株、東浜株）と臨床分離株（26 株、2005ー2008 年分離）との遺伝的相同性を比較したところ、東浜株（凝集因子 2，4）は臨床分離株と異なる遺伝子型（clade C）、山口株（凝集因子 3，6）は臨床分離株と等しい遺伝子型（clade B）を持つことが示された。また、すべての臨床分離株が凝集因子 3，6 を保有し、その凝集素価は山口株と同等であることが判明した。［蒲地一成、福田 靖、鯵坂裕美、韓 賢子、岡田賢司（福岡病院）、荒川宜親］

３．咳嗽成人患者を対象とした百日咳保菌率調査

わが国のワクチン接種プログラムの再評価を目的に、咳嗽を主訴とする成人患者に対し百日咳菌の保菌率を調査した。4 医療機関の協力を得て LAMP 法による遺伝子検査を実施したところ、咳嗽成人患者の 28.8％（77 名/267 名）に百日咳菌 DNA が検出された。また、成人と小児の流行時期が一致したことから、「大人から子供」または「子供から大人」への感染が高頻度に起きている可能性が指摘された。乳幼児への百日咳感染を防止するためには、他の先進国と同様にワクチン接種プログラムの見直しが必要と考えられた。［蒲地一成、鯵坂裕美、中村 敦（名古屋市大・医）、中島夏樹（聖マリアンナ医大）、石川 隆（東大・保健センター）、多屋馨子、荒川宜親、岡部信彦、岡田賢司（福岡病院）］

４．臨床検体を用いた百日咳菌タイピング法の迅速化に関する検討

臨床検体からの百日咳菌タイピング法（multilocus sequence typing, MLST）には操作性ならびに迅速性が劣るという欠点があり、本法の迅速化を目的に改良を行った。従来法の nested-PCR について PCR プライマーと酵素を検討したところ、異なる 3 種類の PCR を同一条件で行うことが可能となり、改良法では操作性と迅速性が向上した（全工程 2 日間）。また、改良法は高い検出感度（2.4 genomic DNA copies）を有し、更に臨床検体に対する解析率（84.6%）は従来法よりも優れていることが示された。［蒲地一成、韓 賢子、鯵坂裕美、荒川宜親］

Ⅸ．その他の病原細菌に関する研究

１．*Helicobacter pylori*のasparaginaseの解析

*H. pylori*のasparaginaseを精製して、病原性への関与を調べた。U937細胞に対して顕著な細胞毒性を示すことが分かった。［柴山恵吾、森茂太郎、和知野純一、荒川宜親］

２．*Burkholderia pseudomallei* 同定法の検討

平成 20 年度よりタイ・コンケーン大学と感染研（細菌第二部、免疫部）との間で類鼻疽についての共同研究が開始された。初年度はタイ東北部の類鼻疽の流行地域に位置するコンケーン大学において、類鼻疽の診断法と流行地域での分離同定法について現地の専門家と意見交換を行った。現在、細菌第二部で保有している株について、同定法を試みている。［堀野敦子、山根一和、荒川宜親］

３．HCV 感染者における B 細胞リンパ腫発症に関する研究

HCV 感染が B 細胞リンパ腫発症に及ぼす影響を明らかにするため、HCV 感染者末梢血の免疫染色により感染細胞を特定した。HCV コア蛋白または NS5A に対する免疫染色と B 細胞マーカーである CD19 に対する免疫染色を同時に行い、それぞれの抗原の局在を検出した。その結果、HCV 抗原と CD19 は同一細胞に見出され、B 細胞が HCV 感染の標的になっていることが明らかにされた。［持田恵子、益見厚子、伊藤昌彦、水落利明、山口一成］

Ⅹ．生物学的製剤に関する研究

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）に対するラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす DTaP の影響

平成 19 年度までの研究において、乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）（以下 PRP-TT と略）と一部 DTaP 製剤との混合接種群が、抗 PRP 抗体応答低下傾向を示した。そこで PRP-TT と国内 5 社製の DTaP を用いて確認実験を行った。SD ラット（雌 4 週齢）各群 5 匹に、各ワクチンを 0.04 SHD ずつ 0, 4 週に混合接種,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。上記一部 DTaP 製剤混合接種群の抗 PRP 抗体応答低下傾向は再現せず、本条件下では抗 PRP 抗体応答に DTaP の影響は認められないことが確認された。［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、荒川宜親］

２．ウマ抗毒素製剤の製造効率化のための免疫方法の検討

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、ガスえそ抗毒素の BSE 対策として抗原調整に関し、米国産から豪州産への変更が可能となった。A型ボツリヌス毒素中和マウスーヒトキメラ抗体の H 鎖、L 鎖遺伝子をシャッフルして得たキメラ抗体は、1μg/ml の抗体濃度で A 型神経毒素を完全中和した。また、E 型毒素中和キメラ抗体を産生する 1 クローンは、抗体濃度 5μg/ml で完全中和した。［高橋元秀、大隈邦夫（化血研）、黒澤良和（藤田保健衛生大）、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］

３．ワクチン製造用百日咳菌東浜株の菌株保証に関する検討

精製百日せきワクチンの製造には百日咳菌東浜株が用いられるが、現在まで細菌学的・遺伝子学的な菌株保証はなされていない。そこで、ワクチン製造所（5 施設）からワクチン製造用株を入手し、その細菌学的・遺伝子学的性状を参照東浜株（感染研保存株 L-7、ATCC BAA-589）と比較した。その結果、ワクチン製造用株と参照株に細菌学的な差異は認められず、更に allele タイプ、PFGE タイプ、RD 欠失といった遺伝子学的性状は一致した。［蒲地一成、福田 靖、韓 賢子、鰺坂裕美、持田恵子、近田俊文、堀内善信、荒川宜親、細菌製剤協会 DPT 技術委員会］

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。それらの成果の一部は、出版物「新 GMP 微生物試験法：13.1 抗生物質医薬品の力価試験」において、データを含め解説を行った。［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．日本薬局方抗生物質標準品と海外抗生物質標準品の表示力価の比較検討に関する研究

抗生物質標準品の表示力価について、日本（JP）、米国（USP）、ヨーロッパ（EDQM）の３局の標準品ロットを用いて日本薬局方「抗生物質の微生物学的力価試験法」で比較検討を行っている。現在までに、アミノグリコシド系抗生物質を中心に実施し、データを解析中である。［近田俊文、南條友子、鈴木里和、山根一和、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、山根一和、加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、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、メタロ-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、山根一和、鈴木里和、柴田尚宏、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、荒川宜親]

Ⅱ．ジフテリア・百日咳関係

１．ジフテリア百日せきレファレンスセンター業務

第 29 回衛生微生物技術協議会研究会において、ジフテリア百日せきレファレンスセンター会議に出席し、20 年度の活動内容の報告をした（2008 年 6 月）。[高橋元秀、岩城正昭、山本明彦、蒲地一成、荒川宜親]

２．百日咳 LAMP 診断キットの供与

百日咳実験室診断の強化・拡充を目的に、地方衛生研究所 13 施設に百日咳 LAMP 診断キット（20 キット）の供与を行った。また PCR 用陽性コントロール DNA を 1 施設に供与した。[蒲地一成、鰺坂裕美]

Ⅲ．その他

１．海外旅行者のヒストプラズマ症の診断

マレーシアへ旅行して帰国した３名の若い女性が、発熱や胸部 X 線写真上、肺病変などを呈した。流行地域への渡航歴があり、３名とも肺病変であることから類鼻疽が疑われた。検体組織送付を依頼し、細菌第二部で核酸試験法、培養法で類鼻疽菌の検出を試みたが陰性であった。このため病理組織診断を感染病理部で試みたところ、ヒストプラズマ感染症が疑われた。そこで、病原性真菌症の担当の生物活性物質部と連携し、ヒストプラズマ症の診断確定に協力した。[山根一和、堀野敦子、荒川宜親、感染病理部、生物活性物質部]

サーベイランス業務

Ⅰ．院内感染対策関係

１．厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）の運営

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）は検査部門、全入院患者部門、手術部位感染（SSI）部門、集中治療室（ICU）部門、新生児集中治療室（NICU）部門の 5 部門より構成されており、平成 21 年 2 月現在、全国の 865 医療機関が参加している。院内感染の発生状況、薬剤耐性菌の分離状況、薬剤耐性菌による感染症の発生状況などに関する情報を参加医療機関に還元するほか、一般への情報公開も行っている。事務局機能を整備した結果、問い合わせ（平成 20 年度：555 件）への速やかな対応や、ホームページ・資料などの改訂が可能となった。[筒井敦子、鈴木里和、山根一和、宮永由弥子、瀧世志江、荒川宜親]

２．厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）・全入院患者部門サーベイランス体制・還元情報の利用に関するアンケート調査

サーベイランスデータの精度管理及び還元情報の有効活用法を検討する目的で、全入院患者部門におけるサーベイランス実施状況の実態調査を行った。サーベイランス体制は院内感染対策サーベイランス実施マニュアルの規定に則っている参加医療機関が大半を占めたが、感染症の判定基準の用い方にはばらつきがみられたため、統一した判定が可能となるような基準を定める必要がある。還元情報の感染対策への利用は半数程度にとどまったため、現場にフィードバックするように促していく必要があると考えられた。[筒井敦子、鈴木里和、山根一和、荒川宜親]

３．院内感染対策サーベイランス事業の改善に関する検討

厚生労働省事業・院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）において収集されたサーベイランスデータの精度管理に関する検討を行い、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌やバンコマイシン耐性腸球菌といった院内感染対策上重要な耐性菌に関する報告がしばしば誤報告である事が明らかとなった。また、これらの誤報告が医療機関のサーベイランス担当者に認識されていない、認識された後も修正報告がなされない、といった問題点が明らかとなった。今後、参加医療機関とのより積極的な情報共有が可能なシステムの構築を進めることとした。[鈴木里和、山根一和、筒井敦子]

Ⅱ．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 3 件実施した。[蒲地一成、鰺坂裕美]

２．百日咳の病原体診断

医療機関（23 施設）からの依頼を受けて、百日咳患者の病原体診断を 77 件実施した。[鰺坂裕美、持田恵子、福田 靖、蒲地一成]

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）の免疫原性に関するトレンド管理

平成 20 年度より乾燥ヘモフィルスｂ型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)（以下ワクチンと略）の国家検定が開始され、次いで国内販売が開始された。国家検定試験項目に力価試験はなく、抗原（ハプテン）定量試験としての多糖含量試験が規定されている。そこで今後有効性管理のために市販ワクチンを購入してラットに免疫後、血中抗 PRP 抗体価を測定し、ロット毎の傾向を持続的に把握する。最初の連続 3 ロットについて SD ラット（雌 4 週齢）5 匹ずつに、0.04 SHD ずつ 2 回（0，4 週）皮下接種し、接種前及び 6 週後に採血した。[佐々木裕子、新谷三春、加藤はる、久保田(松岡)眞由美、木村幸司、長岡芳昭、増田まり子、荒川宜親]

２．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について、昨年度に引き続き検討をおこなった。小川培地を用いる方法との相関を調べた。今後、更にデータを蓄積し、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、和知野純一]

３．BCG力価試験、有毒結核菌否定試験、菌量測定試験、及びツベルクリン力価試験の結果について

BCGワクチン16ロット、膀胱用BCG（日本株）3ロット、膀胱用BCG（イムシスト株）7ロットについて力価試験を行い、全て合格だった。[森茂太郎、堀野敦子、和知野純一、持田恵子、本郷有美子、柴山恵吾]

膀胱用BCG（イムシスト株）7ロットについて菌量測定試験を行い、全て合格だった。[和知野純一、堀野敦子、森茂太郎、持田恵子、本郷有美子、柴山恵吾]

BCG ワクチン 17 ロット、膀胱用 BCG（日本株）5 ロット、膀胱用 BCG（イムシスト株）7 ロットについて有毒結核菌否定試験を行い、すべて合格だった。[堀野敦子、森茂太郎、本郷有美子、柴山恵吾]

ツベルクリン力価試験について、13 ロットについて試験を行い、全て合格だった。[持田恵子、和知野純一、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子、柴山恵吾]

なお膀胱用 BCG（イムシスト株）7 ロット中 1 ロットは、含湿度試験で不合格となったので、試験担当室、検定係、本省、及びメーカーとの対応を行った。[柴山恵吾、荒川宜親]

４．生物学的製剤の国家管理制度の調査

生物学的製剤の国家管理制度について現地調査を行い、米国 FDA/CBER の国への影響がある米国と EU の管理体制を比較検証した。EU、米国ともに国家検定はプロトコール（SLP）審査、検定試験及び GMP 査察を総合的に実施している。米国のプロトコール審査は試験結果に重点を置いているのに対し、EU は自家試験結果と同時に製造の情報も求めている点で異なった。自家試験結果と製造における GMP 査察の実施状況、検定試験の実施対象品目や実施頻度と検定費用及び相互承認制度に関しては、多くの項目で異なる点が確認された。[高橋元秀、佐々木次雄・堀内善信（医薬品医療機器総合機構）、布施晃（感染症情報センター）、渡辺治雄（副所長）：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（注射用セフピロム硫酸塩：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（セフテラムピボキシル錠：2 ロット／細粒：6 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。収去製剤の全ての試験で「適合」と判定された。なお、今年度から検体は卸売一般業者が保管する流通の製剤から収去されることとなった。また、HPLC 力価試験は SOP 等を整備して、生物活性物質部（戸山庁舎）で実施された。[近田俊文、山根一和、鈴木里和、柴田尚宏、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．BCG国際標準品候補品の試験

BCGの国際標準品の選定にあたって、国際共同研究を行うこととなり、３つの候補品Tokyo株、Moscow株、Danish株について力価、及びmPCRを行った。力価は従来のコロニー数測定による方法と、代替法のATP定量による方法により測定した。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、和知野純一]

２．日本薬局方エンドトキシン標準品 Lot 8 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 8）候補品が作成され、標準プロトコールに従って、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。３種のライセート試薬を用いて WHO エンドトキシン国際標準品に対する相対力価を算出し、エンドトキシン標準品 Lot 8 候補品の単位は 20,000 EU／バイアルと評価された。［落合雅樹、蒲地一成、中川ゆかり・村井敏美（日本公定書協会）］

３．抗生物質医薬品標準品の日本薬局方微生物学的力価試験法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）収載の円筒平板法による微生物学的力価試験法（Bioassay）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。サブロット更新を含め 6 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。［鈴木里和、山根一和、南條友子、柴田尚宏、粕谷裕子、近田俊文］

４．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 9 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。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。更に、2002 年度に品質評価した新規日局標準品（5 品目）について、HPLC 法で再評価試験を行い、品質上に問題ないことを確認した。［柴田尚宏、山根一和、粕谷裕子、鈴木里和、南條友子、近田俊文］

Ⅳ．国家検定、国家検査、収去検査、承認前検査、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）：24 ロット

沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド：9 ロット

沈降破傷風トキソイド：8 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：4 ロット

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用する破傷風トキソイド原液：5 ロット

乾燥まむしウマ抗毒素：1 ロット

乾燥はぶウマ抗毒素：1 ロット

乾燥ボツリヌス抗毒素：1 ロット

抗破傷風人免疫グロブリン：5 ロット

乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）：8 ロット

インフルエンザ HA ワクチン：79 ロット

沈降新型インフルエンザワクチン（H5N1 株）（中間段階）：5 ロット

コレラワクチン：1 ロット

人血清アルブミン：246 ロット

加熱人血漿たん白：21 ロット

肺炎球菌ワクチン：8 ロット

乾燥BCGワクチン（最終製品）：16ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（最終製品）80mg：2ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（最終製品）40mg：1ロット

乾燥BCG膀胱内用（コンノート株）：7ロット

乾燥BCGワクチン（中間段階）：17ロット

乾燥BCG膀胱内用（日本株）（中間段階）：5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）：12ロット

２．国家検査（行政検査）の実績

（１）薬剤耐性菌関係

栃木県保健環境センターからの行政検査依頼：2007 年 12 月ー2008 年 10 月にかけて栃木県内の病院施設において多剤耐性緑膿菌（MDRP）が数名の患者から検出された。2007 年 8 月に埼玉医大病院からの転院者がおり、埼玉医大病院入院時に MDRP を保菌しているとの報告があった。これらのことから、分離された MDRP（計 16 菌株）と埼玉医大病院 MDRP との比較について、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）による解析を行い、制限酵素地図（PFGE 型）のタイピング解析結果を報告した。その結果は、埼玉医科大学病院での MDRP 集団発生に関連する菌株と依頼菌株との関連性を示唆する所見は得られなかった。一方、依頼菌株は全て PFGE によるバンドパターンが一致していることから、同一株が施設内で伝播していることを強く示唆されたので、標準予防策及び接触感染予防策を適切に実施し、これ以上の伝播を阻止するように伝達した。（細菌行政検査：第 87102 号）［鈴木里和、近田俊文、荒川宜親］

（２）ジフテリア関係

平成 21 年 1 月 15 日名古屋記念病院（愛知県）から血清 2 本（平成 21 年 1 月 11 日採血、平成 21 年 1 月 29 日

採血）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、血清 2 本とも、ジフテリア抗毒素価は、検出限界以下であった。（細菌行政検査：第 87142 号）［小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀］

（３）破傷風関係

ア）平成 20 年 9 月 2 日付けで、静岡市環境保健研究所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り破傷風毒素を検出した。（細菌行政検査：第 87091 号）［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］

イ）平成 20 年 10 月 10 日付けで、岡山市保健所から患者血清の破傷風毒素の検出及び瘡蓋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、患者瘡蓋の培養上清はマウスを用いた毒素原性試験により破傷風毒素を検出した。この菌液より羊血液寒天培地での遊走先端部より破傷風菌を単離した。（細菌行政検査：第 87099 号）［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］

ウ）平成 21 年 1 月 27 日付けで、大分県衛生環境研究センターより患者血清（12 月 18 日採血）の破傷風毒素の検出と、患者齲歯及び周囲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り、0.16U/mL の抗破傷風毒素抗体を有していた。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。（細菌行政検査：第 87141 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 20 年 8 月に栃木県で発生したボツリヌス食中毒に関して、栃木県保健環境センター長名で行政検査の依頼を受けた。検査の結果、患者血清及び患者便から A 型ボツリヌス毒素を検出した。また患者便からは A 型ボツリヌス菌を分離した。しかし、食品残品などからボツリヌス菌は検出されなかった。（細菌行政検査：第 87075 号）［見理 剛、岩城正昭、山本明彦、高橋元秀］

イ）平成 20 年 9 月に岩手県で発生した国内 25 症例目の乳児ボツリヌス症に関して、岩手県環境保健研究センター長名で行政検査の依頼を受けた。検査の結果、患者便からは A 型ボツリヌス菌を分離した。食品残品や患者の生活環境から収集したサンプルからはボツリヌス菌は検出されなかった。（細菌行政検査：第 87139 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、森茂太郎、堀野敦子、和知野純一］

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）58ロットについて実施した。［柴山恵吾、森茂太郎、堀野敦子、和知野純一］

３．収去検査の実績

（１）抗生物質医薬品

注射剤（注射用セフピロム硫酸塩）（力価試験、エンドトキシン試験）：8 ロット

経口剤（セフテラムピボキシル錠）（力価試験）：2 ロット

経口剤（セフテラムピボキシル細粒）（力価試験）：6 ロット

４．承認前検査及び抜取検査等の実績

（１）無菌試験：21 件（承認前 10 件、抜取 9 件、依頼 2 件）

（２）エンドトキシン試験：承認前・肺炎球菌ワクチン（プレベナー）原末 7 件、小分 3 件

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 954 本

抗生物質試験用菌株（2 品目）：計 3 本

標準ジフテリアトキソイド：10 本

標準沈降ジフテリアトキソイド：19 本

参照沈降ジフテリアトキソイド（混合ワクチン用）：56 本

標準ジフテリア抗毒素：7 本

参照ジフテリア抗毒素（フロキュラシオン用）：43 本

ジフテリア試験毒素（ウサギ試験用）：1 本

ジフテリア試験毒素（モルモット試験用）：9 本

ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）：13 本

シック試験毒素（動物用）：7 本

標準破傷風トキソイド：4 本

標準沈降破傷風トキソイド：27 本

参照破傷風トキソイド（混合ワクチン用）：18 本

標準破傷風抗毒素：4 本

標準抗破傷風ヒト免疫グロブリン：5 本

参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）：42 本

破傷風試験毒素：16 本

はぶ試験毒素（出血Ⅰ）：3 本

はぶ試験毒素（出血Ⅱ）：3 本
はぶ試験毒素　（致死）：23 本
標準まむし抗毒素：8 本
まむし試験毒素（出血）：3 本
まむし試験毒素（致死）：8 本
標準ボツリヌス A 型抗毒素：4 本
標準ボツリヌス B 型抗毒素：1 本
標準ボツリヌス E 型抗毒素：1 本
標準ボツリヌス F 型抗毒素：1 本
標準百日せきワクチン：53 本
参照百日せきワクチン（毒性試験用）：72 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：15 箱（180 本）
標準精製ツベルクリン：30本
BCG Tokyo172-1：12本

（２）分与実績
ア）標準ジフテリア抗毒素、ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）及び VERO 細胞：愛知県衛生研究所、愛媛県立衛生環境研究所、岡山県環境保健センター、千葉県衛生研究所、東京都健康安全研究センター、栃木県保健環境センター、福井県衛生環境研究センター、福岡県保健環境研究所、北海道立衛生研究所：計 7 本、計 7 本及び計 7 本［小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀］
イ）ジフテリア抗毒素（エレク用）：宮城県保健環境センター：1 本［小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀］
ウ）*Corynebacterium diphtheriae* PW8 及び *Corynebacterium ulcerans*（ジフテリア毒素産生株）：大分県衛生環境研究センター、大阪府立大学大学院、岡山県環境保健センター、群馬県衛生環境研究所、栃木県保健環境センター、富山県衛生研究所、宮城県保健環境センター：計 7 本及び計 7 本［小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀］

６．依頼試験等の実績
（１）ジフテリア関係
ア）平成 20 年 5 月 2 日付けで、獨協医科大学病院（埼玉県）からジフテリアの疑患者の咽頭スワブ、気管内吸引物、血清 2 本（平成 20 年 4 月 16 日採血、平成 20 年 4 月 30 日採血）の同定検査依頼を受けた。検査の結果、*Corynebacterium striatum* が分離された。ジフテリア毒素及び毒素遺伝子は陰性であった。血中ジフテリア抗毒素価は、4 月 16 日が 1.0 IU/ml、4 月 30 日が l.2 IU/ml で、抗毒素価に有意な変動はみられなかった。［小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀］
イ）平成 20 年 12 月 19 日付けで、福岡県保健環境研究所（福岡県）からジフテリアの疑患者の喀痰、血清 1 本及び分離菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、*Corynebacterium striatum* が分離された。ジフテリア毒素及び毒素遺伝子は陰性であった。血中ジフテリア抗毒素価は 0.0121 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］
ウ）平成 21 年 2 月 12 日付けで、東京医科歯科大学医学部付属病院から、ジフテリアの疑患者からの咽頭スワブ、偽膜、血清 1 本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陽性の *Corynebacterium ulcerans* が分離された。血中ジフテリア抗毒素価は、検出限界以下であった。患者が飼育しているネコが、患者発症前に風邪様症状（くしゃみ、鼻水）があったという情報を得たので、ネコと仔ネコを検査した。更に、患者と同じ菌が分離されたので、PFGE 解析を行った。3 つの菌株は、全て同じ遺伝子タイプであったことから、ネコからの感染が強く疑われた。［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 20 年 5 月 9 日付けで、大津赤十字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り破傷風毒素を検出した。更に破傷風毒素特異的 primer を用いた遺伝子検査によって破傷風毒素遺伝子が検出された。同分離菌は、偏性嫌気性を示し、固形培地上での遊走能を確認し、破傷風菌と同定した。［山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀］
イ）平成 21 年 2 月 16 日付けで、山口赤十字病院より患者血清の破傷風毒素の検出と、患者創部膿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］

国際協力関係業務

Ⅰ．WHO 関連
１．インドネシア、ジャカルタにおける蛇毒抗毒素に関する WHO ワークショップに参加し、蛇毒抗毒素の製造と品質管理についての国際的なガイドライン作成について協議した（2008 年 5 月）。［高橋元秀］

２．台湾 CDC の抗毒素製造の責任者である Dr. Lian を訪問し、台湾における毒蛇抗毒素製剤の製造法を実地見学

すると共に、平成 20 年 WHO で検討されている毒蛇抗毒素製剤に関する WHO ガイドライン原案について、日本での製造方法と比較検討した（2008 年 10 月）。［山本明彦］

Ⅱ．JICA 関連

１．薬剤耐性病原体の実験室診断コース参加の海外研修生に VRE、*Clostridium difficile*、β-ラクタマーゼ産生菌、16S rRNA メチラーゼ産生菌、耐性菌アウトブレイクにおける疫学的対応に関する講義を行った（2009 年 2 月）。［加藤はる、山根一和、鈴木里和、和知野純一、荒川宜親］

２．生物製剤の無菌性についての研修（2008 年 11 月）。［佐々木裕子］

３．ワクチン品質管理技術コース参加の研修生（海外 5 名）にワクチンの品質管理について講義した（2008 年 11 月）。［高橋元秀、岩城正昭、蒲地一成、荒川宜親］

Ⅲ．海外局方関連

１．マウスヒスタミン増感試験に関する European Directorate for the Quality of Medicine & Health Care（EDQM）による国際共同研究：EP 百日咳毒素標準品（BRP batch 1）の百日咳毒素 WHO 国際標準品ロット１（JNIH-5）に対する相対力価を求める国際共同研究依頼が EDQM よりなされ、マウスヒスタミン増感試験を実施した。参加 10 施設中ヒスタミン増感死エンドポイントアッセイに加え体温法を実施したのは感染研を含め３施設であり、両試験法に相関が認められた。［持田恵子、福田靖、落合雅樹、鯵坂裕美、蒲地一成］

Ⅳ．研修・講義関連

１．Dr. Na-Ri Shin（Korea, CDC）に、ボツリヌス抗毒素製剤の力価試験法の研修を約 2 週間行った（2008 年 4 月）。［見理 剛、山本明彦、高橋元秀］

２．米国フィラデルフィアで開催された Interagency Botulism Research Coordinating Committee に参加し、また、同時に開催された世界健康安全保障イニシアティブ（Global Health Security Initiative: GHSI）の実務レベルの行動グループ（危機管理専門調査委員会：Global Health Security Action Group）におけるボツリヌス専門家会議（WG）にも出席した（2008 年 9 月）。［高橋元秀、見理 剛］

３．キプロス共和国ラルナカ市で行なわれたジフテリア国際ネットワーク DIPNET の 2008 年ミーティングに出席し、日本における飼育ライオン及びシャチの *Corynebacterium ulcerans* 感染症について紹介するとともに海外のジフテリア及びコリネバクテリウム・ウルセランス感染症に関する最新の情報を収集した。［岩城正昭］

研修業務

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研修

１．実地疫学専門家養成プログラム（FETP）への分子疫学実習：薬剤耐性菌による院内感染事例の調査時に行う分子疫学的解析の結果の解釈に必要な臨床微生物・分子生物学の基本的な知識の習得を目的とし、FETP 研修生に対し 1 週間の実習コースを実施（2 回、計 5 名が受講）した。［鈴木里和、筒井敦子］

Ⅱ．*Clostridium difficile* に関する研修

１．検査技師を対象として、依頼に応じて *Clostridium difficile* 分離培養、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．ジフテリアに関する研修

１．平成 20 年度ジフテリア流行予測事業のため、ジフテリア抗毒素価測定法（培養細胞法）の技術講習会を開催した（感染研：2008 年 4 月）。［小宮貴子］

Ⅳ．生物学的製剤の品質保証に関する研修

１．国立保健医療科学院における短期研修薬事衛生管理研修コースにおいて、生物学的製剤の品質保証の現状について講義した（埼玉県：2008 年 7 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）及び第 16 改正日本薬局方の改正案及び収載案の審議に従事した。［近田俊文］

２．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対策等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） Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Arakawa Y.: Plasmid-mediated *qepA* gene among *Escherichia coli* clinical isolate from Japan. Antimicrob Agents Chemother, 52: 1564-1566, 2008.

2）Suzuki S., Shibata N., Yamane K., Wachino J., Ito K., Arakawa Y.: Change in the prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. J Antimicrob Chemother, 63: 72-79, 2009.

3）Nagano, N., S. Isomine, H. Kato, Y. Sasaki, M. Takahashi, K. Sakaida, Y. Nagano, Y. Arakawa: Human fulminant gas gangrene caused by *Clostridium chauvoei*. J Clin Microbiol, 46(4): 1545-1547, 2008.

4）Hata A., Honda Y., Asada K., Sasaki Y., Kenri T., Hata D.: *Mycoplasma hominis* meningitis in a neonate: case report and review. J Infect, 57: 338-343, 2008.

5）Nagano N., Nagano Y., Kimura K., Tamai K., Yanagisawa H., Arakawa Y.: Genetic heterogeneity in *pbp* genes among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. Antimicrob Agents Chemother, 52: 4258-4267, 2008.

6）Kimura K., Suzuki S., Wachino J., Kurokawa H., Yamane K., Shibata N., Nagano N., Kato H., Shibayama K., Arakawa Y.: First Molecular Characterization of Group B Streptococci with Reduced Penicillin Susceptibility. Antimicrob Agents Chemother, 52: 2890-2897, 2008.

7）Kato H., Kato H., Iwashima Y., Nakamura M., Nakamura A., Ueda R.: Inappropriate use of loperamide worsens *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. J Hosp Infect, 70: 194-195, 2008.

8）Piao Z., Shibayama K., Mori S., Wachino J., Arakawa Y.: A novel insertion sequence, IS1642, of *Mycobacterium avium*, which forms long direct repeats of variable length. FEMS Microbiol Lett, 291: 216-221, 2009.

9）Psakis G., Saidijam M., Shibayama K., Polaczek J., Bettaney K., Baldwin J., Baldwin S., Hope R., Essen L-O., Essenberg R., Henderson P.: The Sodium-dependent D-glucose Transport Protein of *Helicobacter pylori*. Mol Microbiol, 71: 391-403, 2009.

10） Katsukawa C., Kawahara R., Inoue K., Ishii A., Yamagishi H., Kida K., Nishino S., Nagahama S., Komiya T., Iwaki M., Takahashi M.: Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* Isolated from the Domestic Dog for the First Time in Japan. Jpn J Infect Dis, 62(2): 171-172, 2009.

11）Maeyama J., Komiya T., Takahashi M., Isaka M., Goto N., Yamamoto S.: The mucosal adjuvanticity of the oligodeoxynucleotides containing a non-methylated CpG motif on BCG and diphtheria toxoid. Vaccine, 27(8): 1166-73, 2009.

12）Seto Y., Komiya T., Iwaki M., Kohda T., Mukamoto M., Takahashi M., Kozaki S.: Properties of corynephage attachment site and molecular epidemiology of *Corynebacterium ulcerans* isolated from humans and animals in Japan. Jpn J Infect Dis, 61(2): 116-22, 2008.

13）Shirokawa M., Shibuya Y., Mitsusada M., Yamamoto A., Iwaki M.: Tetanus Case Isolating *Clostridium tetani* from Scab. J Jap Asso Acu Med, 19: 279-282, 2008.

14）Liu JH., Deng YT., Zeng ZL., Gao JH., Chen L., Arakawa Y., Chen ZL.: Coprevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QepA, Qnr, and AAC(6')-Ib-cr among 16S rRNA methylase RmtB-producing *Escherichia coli* isolates from pigs. Antimicrob Agents Chemother, 52: 2992-2993, 2008.

15） Park YJ., Yu JK., Kim SI., Lee K., Arakawa Y.: Accumulation of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes, *qepA* and *qnrS1*, in Enterobacter aerogenes co-producing RmtB and class A β-lactamase LAP-1. Ann Clin Lab Sci, 39: 55-59, 2009.

16）Takahashi H., Miya S., Kimura B., Yamane K., Arakawa Y., Fujii T.: Difference of genotypic and phenotypic

characteristics and pathogenicity potential of *Photobacterium damselae* subsp. *damselae* between clinical and environmental isolates from Japan. Microb Pathog, 45: 150-158, 2008.

17) Nagano Y., Nagano N., Wachino J., Ishikawa K., Arakawa Y.: Novel chimeric β-lactamase CTX-M-64, a hybrid of CTX-M-15-like and CTX-M-14 β-lactamases, found in a *Shigella sonnei* strain resistant to various oxyimino-cephalosporins, including ceftazidime. Antimicrob Agents Chemother, 53: 69-74, 2009.

18) Hironaga M., Yamane K., Inaba M., Haga Y., Arakawa Y.: Characterization and antimicrobial susceptibility of *Dysgonomonas capnocytophagoides* isolated from human blood sample. Jpn J Infect Dis, 61: 212-213, 2008.

19) Doi Y., Wachino J., Arakawa Y.: Nomenclature of plasmid-mediated 16S rRNA methylases responsible for panaminoglycoside resistance. Antimicrob Agents Chemother, 52: 2287-2288, 2008.

２．和文発表

1) 近田俊文 : 微生物学的力価試験法，抗生物質医薬品の力価試験．「新 GMP 微生物試験法」佐々木次雄、棚元憲一、川村邦夫編，じほう，306-320, 2008.

2) 加藤はる：*Clostridium difficile* BI/NAP1/027 菌株と引き起こされる感染症．臨床と微生物，35: 315-320, 2008.

3) 加藤はる：クロストリジウム・ディフィシル感染症と感染対策．HosCom，6(1): 1-5, 2009.

4) 村端真由美、加藤はる、矢野久子、小椋正道、柴山順子、脇本幸夫、荒川宜親、溝上雅史：長期入院がん患児における *Clostridium diffiicle* 消化管保有と院内伝播に関する検討．日本感染症学雑誌，82(5): 419-425. 2008.

5) 木村幸司、荒川宜親：ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌．小児感染免疫，20(3): 312-316, 2008.

6) 木村幸司、荒川宜親：ペニシリン低感受性 group B streptococcus．感染炎症免疫，38-3, 83-86, 2008.

7) 堀野敦子：8-3(18) 類鼻疽菌．「バイオセーフティーの事典」，医学評論社，210-212, 2008.

8) 高橋元秀 : 細菌毒素製剤/トキソイド製剤の力価試験．「新 GMP 微生物試験法」佐々木次雄、棚元憲一、川村邦夫編，じほう，320-328, 2008.

9) 岩城正昭、高橋元秀 : ジフテリアの予防.「総合臨床・新版処方計画」第 57 巻，永井書店，327-328, 2008.

10) 蒲地一成，岡田賢司：ワクチンで予防可能な疾患の病原診断とその読み方 6, 百日咳. 小児科, 50: 35-41, 2009.

11) 蒲地一成 : 微生物の基礎知識，百日咳．感染と消毒，15: 91-94, 2008.

12) 蒲地一成 : 感染制御のための微生物学講座，百日咳．感染制御，4(3): 255-258, 2008.

13) 蒲地一成 : 成人の百日咳、現状と対策，World Focus. バイオメディカルサイエンス研究会，No.109, 2008.

14) 蒲地一成 : 百日咳菌.「バイオセーフティーの辞典」，みみずく舎，166-168, 2008.

15) 持田恵子，蒲地一成：百日咳ワクチン．感染制御，4 (6): 535-538, 2008.

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1) Yamane K., Doi Y., Adams-Haduch JM., Potoski BA., Paterson DL.: Rising Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* Bloodstream Isolates: Local Explanations for a National Trend. 48th ICAAC/46th IDSA, October, 2008, Washington DC, USA.

2) Yamane K., Suzuki S., Tsutsui A., Wachino J., Shibata N., Kimura K., Arakawa Y.: Multi-Institutional Dissemination of VanA-Type Enterococcus faecium with VanB Phenotype. 48th ICAAC/46th IDSA, October, 2008, Washington DC, USA.

3) Suzuki S., Shibata N., Yamane K., Wachino J. Arakawa Y.: A Nationwide Shift in Prevalence of Extended-Spectrum b-lactamases Producing *Escherichia coli* through a Spread of Clonal Strains. 48th ICAAC/46th IDSA, October, 2008, Washington DC, USA.

4) Sasaki Y., Kawakami T., Horino A., Kenri T., Arakawa Y., Sasaki T.: Profiling of the major proteins of *Mycoplasma pneumoniae* strains by two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry. 17th Congress of International Organization of Mycoplasmology (IOM), July, 2008, Tianjin, China.

5) Kimura K., Wachino J., Kurokawa H., Suzuki S., Yamane K., Shibata N., Arakawa Y.: Practical disk diffusion tests for detecting group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility. 48th ICAAC/46th IDSA, October, 2008, Washington DC, USA.

6) Horiuchi Y., Kataoka M., Yamamoto A., Ochiai M., Harashima A., Nagata N., Hasegawa H., Kurata T.: The success story of Japanese DTaP control and a further development of vaccine evaluation, 2nd World Conference on (Ehrlich II), October, 2008 Nürnberg, Germany.

7) Seto Y., Komiya T., Iwaki M., Arakawa Y., Kozaki S.,

Takahashi M.: Toxigenic and nontoxigenic C. ulcerans isolated from two killer whales and a lion in a zoological park in Japan. Tenth ELWGD & Second Annual Meeting of Diphtheria Surveillance Network (DIPNET), November 2008, Larnaca (Cyprus).

8）Nakane D., Kenri T., Miyata M.: High-resolution quick imaging of cytoskeletal architectures of *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma gallisepticum* using conventional electron microscopy. The 17th International Congress of International Organization for Mycoplasmology, July, 2008, Tianjin, China.

9）Kenri T., Iwaki M., Yamamoto A., Takahashi M.:□Recent Infant Botulism Cases Reported in Japan Between 2006 and 2007. □45th Annual Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, September, 2008, Philadelphia, PA, USA.

10）Kenri T., Horino A., Kubota M., Sasaki Y., Nakane D., Miyata M.: Systematic detection of proteins that localize at the attachment organelle regions of *Mycoplasma pneumoniae* by fluorescent-protein tagging. BLAST X (Bacteial Locomotion and Signal Transduction), January, 2009, Cuernavaca, Mexico.

２．国内学会

1）山根一和：JANIS について・経緯及びシステム概要. 第 24 回環境感染学会総会，横浜，2009 年 2 月.

2）山根一和、鈴木里和、荒川宜親：埼玉県内の医療機関等におけるバンコマイシン耐性腸球菌の保菌状況調査. 第 37 回薬剤耐性菌研究会，渋川，2008 年 9 月.

3）加藤はる、荒川宜親：*Clostridium difficile* BI/NAP1/027 株の PCR による同定. 第 82 回日本感染症学会総会，島根，2008 年 4 月.

4）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：名古屋市立大学病院における *Clostridium difficile* 関連下痢症（CDAD）の臨床背景及び治療経過に関する考察. 第 82 回日本感染症学会総会，島根，2008 年 4 月.

5）伊藤陽一郎、中村俊之、加藤はる：*Clostridium difficile* 施設内感染. 第 82 回日本感染症学会総会，島根，2008 年 4 月.

6）加藤秀章、中村 敦、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症の現状と悪化因子の検討. 第 82 回日本感染症学会総会，島根，2008 年 4 月.

7）里村秀行、尾高郁子、酒井 力、佐藤洋子、加藤はる：*Clostridium difficile* 関連下痢症多発病棟における臨床細菌学的検討及び院内感染対策の課題. 第 82 回日本感染症学会総会，島根，2008 年 4 月.

8）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 57 回日本医学検査学会，札幌，2008 年 5 月.

9）加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症の細菌学的診断、治療、医療関連感染について. 第 48 回近畿医学検査学会，神戸，2008 年 10 月.

10）里村秀行、尾高郁子、加藤はる：*Clostridium difficile* 菌株からの toxin 検出の検討. 第 20 回日本臨床微生物学会総会，仙台，2009 年 1 月.

11）里村秀行、尾高郁子、大土由里子、佐藤万里、酒井 力、加藤はる：*Clostridium difficile* PCR ribotype 027 菌株検出事例の検討. 第 24 回日本環境感染学会総会，横浜，2009 年 2 月.

12）加藤はる、荒川宜親、岩島康仁、加藤秀章、中村 敦、赤羽貴行、里村秀行、酒井 力、伊藤陽一郎、斉木由美子：日本の医療機関で臨床分離された binary toxin 遺伝子陽性 *Clostridium difficile* 菌株について. 第 39 回日本嫌気性菌感染症研究会，岐阜，2009 年 3 月.

13）大賀亜沙未、三浦雅史、根ガ山清、加藤はる、松下 治：*Clostridium difficile* 感染対策への MLST 法の利用と改良. 第 82 回日本細菌学会総会，名古屋，2009 年 3 月.

14）佐々木裕子、永田典代、網 康至、須崎百合子、松田和洋、荒川宜親：*Mycoplasma fermentans* 生菌投与ウサギを用いた関節炎モデル開発と抗糖脂質抗体の解析. 第 82 回日本細菌学会総会，名古屋，2009 年 3 月.

15）木村幸司、和知野純一、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌に関する依頼解析. 第 82 回日本細菌学会，名古屋，2009 年 3 月.

16）木村幸司：Kirby-Bauer Disks 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 40 回日本小児感染症学会，名古屋，2008 年 11 月.

17）木村幸司、黒川博史、柴田尚宏、荒川宜親：Kirby-Bauer Disks 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 56 回日本化学療法学会総会，岡山，2008 年 6 月.

18）木村幸司、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：Kirby-Bauer Disks 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 82 回日本感染症学会総会，島根，2008 年 4 月．

19）長野則之、長野由紀子、木村幸司、玉井清子、柳沢英二、荒川宜親：ペニシリン非感受性 B 群レンサ球菌における PBPs の変異の多様性．第 82 回日本感染症学会総会，島根，2008 年 4 月．

20）木村幸司、和知野純一、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌に関する依頼解析．第 37 回薬剤耐性菌研究会，群馬，2008 年 9 月．

21）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．

22）山本明彦、岩城正昭、見理 剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀：国内土壌の破傷風菌分布調査．第82回日本細菌学会総会，名古屋，2009年3月．

23）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．

24）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．

25）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．

26）中根大介、アダン純、見理 剛、宮田真人：*Mycoplasma pneumoniae* 滑走の足、P1 adhesin タンパク質の精製と特徴づけ．日本マイコプラズマ学会第 35 回学術集会，東京□，2008 年 5 月．

27）森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、朴 貞玉、荒川宜親：結核菌由来の新規ヌクレオチド加水分解酵素に関する研究．第 82 回日本細菌学会，名古屋，2009 年 3 月．

28）和知野純一、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親：アミノグリコシド耐性を付与する16S rRNA methyltransferase, NpmAの結晶化．第82回日本細菌学会，名古屋，2009年3月．

29）柴山恵吾、和知野純一、森茂太郎、荒川宜親：*Helicobacter pylori* のアスパラギナーゼの生理病理的機能．第 82 回日本細菌学会，名古屋，2009 年 3 月．

30）森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、朴 貞玉、荒川宜親：結核菌由来新規ヌクレオチド加水分解酵素の機能解析．

日本農芸化学会 2009 年度大会，2009 年 3 月．

31）韓 賢子、蒲地一成，桑江朝臣，阿部章夫，荒川宜親：百日咳菌タイプ III エフェクターBopC の IS*481* による発現調節．第 82 回日本細菌学会総会，名古屋，2009 年 3 月．

32）蒲地一成，韓 賢子，豊泉裕美，荒川宜親：百日咳菌の新規タイピング法の確立とその応用．第 82 回日本細菌学会総会，名古屋，2009 年 3 月．

33）蒲地一成：百日咳毒素，予防・診断・疫学への応用．第 82 回日本感染症学会総会，島根，2008 年 4 月．

３．講演・講義

1）加藤はる：*Clostridium difficile* による院内感染．1) そもそもどんな感染症なの？（入門） 2) 分離のポイントはどのあたり？（実技）第 1 回食品感染症学（エスアールエル）セミナー，相模原市，2008 年 7 月．

2）加藤はる：*Clostridium difficile* 関連疾患ー世界と日本ー．京都 *Clostridium difficile* 関連疾患講演会，京都，2008 年 10 月．

3）加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症は、どんな感染症？ 第 7 回医療関連感染対策フォーラム in 八代．八代市，2008 年 12 月．

4）加藤はる：新興・再興感染症による院内感染と対策 - 新しい耐性菌、新しい病原菌による院内感染の対策 *Clostridium difficile* 感染対策ー欧米から始まった新たな展開ー 第 81 回 ICD 講習会，2009 年 3 月．

6. 寄生動物部

部長　野崎智義

概要

当部は、原虫及び蠕虫による感染症全般に係る基礎ならびに応用研究を行っている。疾患対象としては、赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウム、ミクロスポリジアなどの腸管寄生性の原虫、アカントアメーバ等自由生活性アメーバ等原虫、マラリア原虫などの単細胞真核生物である原虫（原生生物）による感染症と、条虫・回虫・肺吸虫・アニサキス・エキノコックス症など、多細胞真核生物である蠕虫による感染症が挙げられる。国内外のこれら寄生虫感染症の現況把握のために、疫学・分子疫学調査を行った。また、これら寄生虫感染症に対する検査・診断法の開発・評価、治療法の創成に繋がる基盤的な研究を行った。同時に、寄生虫感染症の病理と寄生・病原機構の分子レベルでの理解を目指した基礎研究を行った。また、各寄生虫に関する依頼検査、レファレンス業務、研修、国際協力活動を行った。

第一室では、腸管原虫症、特に赤痢アメーバ症・ジアルジア症・クリプトスポリジウム症・ミクロスポリジア症の診断法開発や分子疫学研究を行った。また赤痢アメーバの病原機構の統合的解明を目指し、膜輸送やオミクス研究を開始した。同時に、原虫特異的代謝経路を標的とした創薬研究を行った。また、自由生活性アメーバの起こす角膜炎ならびにこれに媒介される細菌感染症に関する疫学・分子疫学・病因学的な研究を行った。

第二室では、食品媒介性寄生蠕虫と動物由来寄生蠕虫を軸にした研究を行った。前者に関しては、肺吸虫、アニサキス亜科線虫、裂頭条虫、テニア属条虫の分子系統解析、ならびに遺伝子鑑別法の開発を行った。また、臨床病理標本内に見出される寄生蠕虫についても遺伝子解析法を導入した研究を行った。テニア症、裂頭条虫症、肺吸虫症に関しては、海外の流行地における疫学情報の収集や寄生虫研究材料の採取も行った。後者に関しては、多包条虫の汚染地域拡大防止やアライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視を目的にした調査研究を行った。中国とチリにおいて単包虫症の状況調査を行った他、食肉衛生検査所を対象に分子病理診断に関する研修事業も行った。一方、幼虫移行症として重要なトキソカラ症の血清診断法に関して、イヌ回虫幼虫抗原に対する合成ペプチド抗原、あるいはレコンビナント抗原を用いた迅速診断キットの開発を行った。

第三室では、国際的に重要な寄生虫症、マラリア、住血吸虫症を主な研究対象とした。マラリアや住血吸虫症は、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陸生貝が生息しており、今後、日本でも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・感染拡大の可能性を検討し、数理モデルも利用して、効果的対策に関する研究を行った。また、これらの病原体の国内侵入と蔓延を阻止するのに利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進め、研究成果の一部は改変され、実際に途上国での寄生虫症対策にも応用された。

研究費としては厚生労働省科学研究費補助金（新興・再興研究事業費、顧みられない病気に関する研究等）、文部省科学研究費補助金、ヒューマンサイエンス財団政策創薬総合研究事業費等を取得した。人事面では 7 月 1 日付けで野崎智義が新部長として、10 月 1 日付けで津久井久美子が主任研究官として赴任し、新しい研究体制を構築した。再任用職員として、川中正憲、古屋宏二、客員研究員として影井昇、Felipenas F. Natividad, 亀井喜世子、千種雄一、河合覚、松田肇、協力研究員として下河原理江子、黒木俊郎、荒川京子、小村麻子、高岡紀子、佐藤暖、岡田麻美、Youngah Lee, Avik Kumar Mukherje, Jeelani Ghulam, Ahmad Bilal Andrabi Syed、Bethel Kwansa-Bentum, Mohammed Essa Marghany Tolba, 流動研究員として梅原梓里、三田村文香、坪井久美子、研究生として Mohammad Abu Yousuf, Afzal Husain, Aleyla Escueta de Cadiz, Gil Mallari Penuliar, 臨時研究補助員として桝田京子、森有加、中曽根英子、村上裕子、古川敦らが在籍し、研究等に従事した。

業績

調査・研究

I. 診断法・検出法の開発

寄生動物部

1. 原虫症診断法・検出法の開発

(1) 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

昨年に引き続き、感染症発生動向調査で感染性胃腸炎と診断され、病原体検査ではウイルス及び細菌のいずれも検出されなかった原因不明検体に関して、免疫クロマト法を用いてクリプトスポリジウムおよびジアルジア検出を試みた。新たな地域での調査においても原虫類が数%の割合で検出され、10 歳以下の低年齢層での感染が統計以上の状況にあることが示唆された。下痢症における原虫検査の必要性は高いが、それをルーチン的に可能にする方法が不足していることが実態把握に影響を及ぼしていると考えられ、コスト、迅速性に見合う検査法の開発が重要課題と考えられた。［八木田健司、泉山信司、浅野由紀子（愛媛県衛生研究所）、佐々木美江（宮城県保健環境センター）、村上光一（福岡県保健環境研究所）］

(2) ジアルジア迅速診断検査法の開発

国内外で重要な消化管寄生性原虫症であるジアルジア症に関しては、汎用性、迅速性、またコスト性に優れた検査法が求められている。ラテックス凝集法はその一つの方法になると考えられ、市販抗ジアルジア抗体を利用してラテックス試薬を試作し、その反応特性を調べることで本法の有用性を検討した。その結果、動物あるいはヒトの糞便検体に対してジアルジア感染陽性検体を凝集反応で判定することが可能であった。特性としては比較的特異性は良いものの、イムノクロマト法に比べて感度は低いという結果を得た。抗体の改良により、感度向上が見込まれるものと考えられた。[八木田健司、権平文夫（デンカ生研）]

(3) クリプトスポリジウムのリアルタイム RT-PCR によるオーシストの検出

河川水等水系より検出されるクリプトスポリジウムの生残性を、リアルタイム定量PCR法（Cycleave法）を用いて定量的に測定する方法を確立した。18S rRNAを標的にPCR反応系を構築し、合成遺伝子に対して 10～10^6コピー相当量で検量線を作成し、10 コピー相当までの検出感度があることを確認した。さらに感染動物より採取した新鮮オーシストを用いて、1～10^4のオーシスト数で検量線を作成し、良好な直線性（R^2=0.9835）をみた。感度はオーシスト 1 個、CT=30.95（n=5）であった。これにより、河川水等より検出されたオーシストにおけるその生残率を算出することが可能と考えられた。[八木田健司、泉山信司、村上裕子]

(4) 環境水中のクリプトスポリジウム検出のための RT-LAMP 法の検討

厚生労働省「水道水中のクリプトスポリジウム等対策指針（健水発第 0330005 号別添, 平成 19 年 3 月 30 日）」では、水中のクリプトスポリジウムの検出法として、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、顕微鏡観察には熟練が必要であり、検査に長時間かかる等の問題点がある。当該研究ではより簡便で迅速な検査法として、クリプトスポリジウムを対象とした LAMP 法及び RT-LAMP 法を開発してきた。本年度は種々の環境水を用いてこれらの実用性を評価した。RT-LAMP 法の感度を改めて検証した結果、0.006 オーシスト/チューブ程度の感度があることを示した、この高感度 RT-LAMP 法を河川水に適用し性能を確認した。[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）、遠藤卓郎（細菌第一部）、泉山信司]

(5) 尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

ソロモン諸島のマラリア浸淫地で採取された尿を用い、協力研究者である伊藤誠らによって開発された尿を用いた熱帯熱マラリア原虫抗体検査法の有用性を検証した。最近 1 年間で確認できたマラリア感染歴でみると、熱帯熱マラリア原虫に対する尿中 IgG 抗体測定の Sensitivity は、80%となり、Specificity は 約 70%となった。特に 10 歳未満の若年層についてみると、尿中抗体価が陽性となった例の 90%以上が、最近２年間の熱帯熱マラリア罹患が、顕微鏡による観察で確認された例だった。また、今年度の検査時に三日熱マラリア罹患が確認された例は、尿中 IgG 抗体検査で陰性となった。尿中の熱帯熱マラリア原虫抗体価の陽性率は、若年齢層で低く高齢層で高くなったが、このことは、マラリア対策の進展による、最近の感染機会の減少を反映していると思われる。尿中のマラリア抗体価の測定は、マラリア浸淫地における Rapid assessment や対策の効果判定にも応用できる可能性が指摘された。[大前比呂思、伊藤誠（愛知医大）、中澤港(群馬大)]

(6) ハマダラカからのマラリア原虫検出法改良

ハマダラカからのマラリア原虫検出法改良については、ミトコンドリア・チトクローム b 遺伝子による PCR 法で、*Anopheles dirus* 体内のマラリア原虫スポロゾイトの検出を試みた。熱帯熱マラリア原虫と三日熱マラリア原虫を実験的に感染させた *An. dirus*（実験室にて継代飼育）の乾燥標本をタイの共同研究者より供与された。これらの標本を用いて、ミトコンドリア・チトクローム b 遺伝子を応用した PCR 法によるマラリア原虫スポロゾイト検出結果を米国 CDC より供与された CS-ELISA による結果と比較した。新規 PCR 法による結果は、三日熱マラリア、熱帯熱マラリアとも、標準となる CS-ELISA による結果と 90%程度一致した。また、非感染蚊で陽性と判断された例は、ELISA 及び PCR 法の両方で 1 例もみられなかった。さらに、検疫所の研究グループの協力して PCR 検査前の前処置を比較したところ、CTAB 法より QIAamp DNA Micro Kit（QIAGEN）による方法の方が高い検出率を示した。[大前比呂思、村主節雄（香川大学）、飯塚信二（神戸検疫所）、長谷山路夫（成田空港検疫所）、Jetsumon Sattabongkot (Brapha University, Thailand)]

2. 蠕虫症診断法の開発

(1) 幼虫移行症（トキソカラ症）の迅速血清診断キットの開発

イヌ・ネコなどのペットから、あるいは牛レバーの生食によって感染するイヌ・ネコ回虫症（トキソカラ症）の診断は臨床所見に加え、血清検査が有用である。そこで、トキソカラ症の血清診断イムノクロマトキットの開発を行った。抗原としては、先にイヌ回虫幼虫の診断抗原のアミノ酸配列に基づいて作成した合成ペプチド抗原を用いたキットを試作した。[山﨑 浩, 森 有加, 小林行治・小林 薫・福田健太（アドテック株式会社）]

(2) 肺吸虫症への適用に向けた尿診断法の検討

尿を検体とするマイクロ ELISA で、肺吸虫の感染が判定できるか検討した。佐賀県猟友会の会員 315 名の尿を調べると、4 名が陽性であった。主治医を介して 2 名の血清が届いたので、血中抗体の測定結果と比較して、尿診断法を評価した。先ず尿中抗体価が低い 1 名は、血中抗体価も低く、肺吸虫の感染が否定された。他の 1 名は尿中抗体価・血中抗体価が高く、感染が肯定された。中国浙江省の患者 13 名の尿検体では、12 名が陽性と判定された。尿検査は肺吸虫症の診断法として有用であった。[杉山 広, 伊藤 誠（愛知医科大学）, 銭 宝珍（浙江医学科学院・中国）]

(3) 病理組織標本を用いた寄生虫の分子同定法の開発

国内外の医療機関から寄生虫の依頼検査の中には、ホルマリン固定標本やパラフィン包埋標本が含まれているが、ホルマリン固定は DNA を分解するために、一般に DNA の増幅は困難である。しかし、DNA の抽出条件や PCR 条件を検討することによって、その寄生虫の種の鑑別が可能になってきた。平成 20 年度は皮膚生検組織内の二核顎口虫（*Gnathostoma binucleatum*）、皮膚組織内の有棘顎口虫（*Gnathostoma spinigerm*）、小腸組織内のアニサキス（*Anisakis simplex* sensu stricto）、肝組織内の単包虫 2 種（*Echinococcus granulosus, Echinococcus canadensis*）と多包虫（*Echinococcus multilocularis*）の他、宮崎肺吸虫（*Paragonimus miyazakii*）やウェステルマン肺吸虫（*Paragonimus westermani*）の虫卵を分子同定することができた。[山﨑 浩, 杉山 広, 森 有加, 梅原梓里]

(4) ProteinChip を用いたエキノコックス症早期診断バイオマーカーの検索

ヒトのエキノコックス症には、多包虫症と単包虫症があり、とくに多包虫症は難治性で致死率が高い。しかし、早期に診断され、治療が行われれば、完治し、予後も良好であることから、感染早期の診断が重要である。現在、エキノコックス症の診断は画像検査や血清検査によって行われているが、そのような検査で見逃される可能性もある。そこで、抗体検査に替わる感染早期に特徴的な診断マーカーを見出すことができれば、エキノコックス症の早期診断に役立つ。そこで、画像検査による早期の病態が明確な単包虫症について、診断マーカー検索を行った。単包虫症患者は中国青海省の流行地における疫学調査によって得られた患者、ならびに非感染者血清、それぞれ 20 検体を用いた。血清タンパクの profiling を Protein Chip を用いて行い、診断マーカー候補分子の検索と同定を行ったところ、診断マーカー候補が得られた。[山﨑 浩, 川中正憲, 大前比呂思, 王 虎（中国青海省疾病予防中心・寄生虫病研究所）, 余 森海（中国 CDC, 上海）]

(5) 尿中抗体検出による日本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、先に日本住血吸虫

(SJ)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、SJ 感染者の尿中には、血清中と同様、診断に役立てる事が充分に期待できる程度の高い抗体価が検出される事を報告してきた。本年度は、SJ 成虫体の tegument に局在し、22.6kDa の理論分子量をもつ成分のレコンビナントタンパク(rSJA226)を SJ 症の免疫診断に導入した。rSJA226 は尿中の抗体検出に優れ、さらに治療後早急に陰性化する特徴を有していた。レコンビナントタンパクを用いた簡易診断法作出への応用が期待できた。[朝日博子、大前比呂思、田邊将信(慶応大)、山下隆夫(山形県立保健医療大)、太田伸生(東京医歯大)]

(6) 日本住血吸虫症の病態と検査診断結果に関する解析

寄生蠕虫症は、顧みられない熱帯感染症:Neglected Tropical Diseases(NTDs)と国際的にされる疾患群の約半数を占めるが、現在、集団治療を中心とした対策の進展により、疫学的状況は世界的に大きく変化している。従って、今後の蠕虫症の検査診断技術の開発にあたっては、国際的に標準とされる糞便検査や現在一般的とされる補助診断法の意義を、集団治療の普及によって生じた最近の大きな疫学的変化の中で再検討することが重要である。そこで、集団治療による最近の morbidity 変化が顕著な日本住血吸虫症を対象として、住血吸虫感染者が示す病態や肝機能検査・免疫血清検査の異常を、プラジカンテルによる集団治療が本格化する前後した。フィリピン、レイテ島の Schistosomiasis Research Hospital の受診患者を 1990 年代と 2000 年代で経年的に比較すると、集団治療の進展によって、肝脾腫を示す例は顕著に減少し、神経症状を示す例が相対的に増加した。また、虫卵粗抗原を用いた ELISA 抗体価は、感染強度を表す糞便1g当たりの虫卵排泄数:Eggs per gram (EPG)との間には、なんの相関もみられなかったが、肝障害を示す群では高く、神経症状を示す群では低くなった。治療的介入が本格化すると、相対的に糞便中への虫卵排泄数が少ない感染例が多くなるが、そのような例に対しても、ELISA による検査診断は有効であり、抗体価の変動は、morbidity 評価にも利用できる可能性がある。さらに、1991 年、2000 年の肝胆道系検査結果を比較すると、集団治療前の 1991 年には、多くの日本住血吸虫症患者で、aspartate aminotransferase (AST), alkaline phospahatase (ALP)の上昇がみられたが、集団治療後の 2000 年は、特に肝線維化と判断される例で AST や ALP の上昇がみられるにとどまった。[大前比呂思、桐木雅史(獨協医大)]

II. 寄生虫症の同定・疫学・型別・分子疫学的研究、環境微生物学的調査

1. 原虫症の分子疫学的研究・調査

(1) 赤痢アメーバ臨床分離株の高解像度型別法の確立

tRNA の近傍にある短反復配列(short tandem repeat, tRNA-STR)をマーカーとして国内分離株の型別を行い、遺伝子型と病型との相関を検討した。国内の分離株は 6 種の tRNA-STR マーカーにより、高解像度で型別することが可能であり、無症候性、腸炎症例、肝膿瘍症例との相関の見られる遺伝子型別が発見された。[Aleyla Escueta de Cadiz, 八木田健司、津久井久美子、野崎智義、小林正規(慶応大)、橘裕司(東海大)、渡辺恒二(国立国際医療センター)]

(2) アカントアメーバ性角膜炎全国サーベランスと分子疫学的研究

コンタクトレンズ関連の重症角膜感染症であるアカントアメーバ角膜炎が近年増加傾向にあることから、その要因を解明すべく関連学会による全国サーベランスと共同して分子疫学的な研究を開始した。これまでに検査マニュアルの作成とそれに準じた検査を試験的に行い、患者の角膜分離株と使用したレンズ保存液株のタイプが遺伝学的に一致すること、また同タイプが国外角膜炎起因アメーバと同一のタイプであること等の疫学的情報を得た。起因アメーバを分子生物学的に解析することで流行株や難治性、薬剤耐性タイプの特定が容易になるなど、発生予防、治療に有用な情報を得ることが期待される。[八木田健司、村上裕子、井上幸次(鳥取大)]

(3) *Legionella londinienis* の宿主の検索

レジオネラ属菌の中で非病原性種とされる *Legionella londinienis* は、浴槽水等で多量に検出されるにも関わらず、他の多くの菌種が宿主とする *Acanthamoeba* では細胞内増殖を示さない。このことから、本菌種は宿主生物を含め、他生物に依存せずに生息可能な特意な性質をもつ可能性が示された。この点を検証するため、他の宿主アメーバを広く検索したところ、高温耐性で浴槽水等から検出頻度の高い *Naegleria* 属のアメーバの中に *L. londinienis* の好適宿主が存在することが明らかとなり、宿主特異性が異なるものの本菌種がアメーバを宿主として浴槽内で増殖する根拠が示された。[八木田健司、泉山信司、倉　文明（細菌第一

部）]

(4) 自由生活性アメーバ内共生（寄生）微生物に関する研究

Acanthamoeba 等自由生活性アメーバ類は、細菌、ウイルス、リケッチア、クラミジア等の細胞内共生微生物の宿主となることが知られている。レジオネラ、および一部のものについては呼吸器系疾患に関連していることが知られており、これらアメーバ内共生微生物のヒトへの健康影響は、今後の新興感染症研究の課題の一つになると考えられる。多くの共生微生物は培養不能であることから、共生アメーバ株の収集とその保管が重要である。共生微生物の解析を進めているが、*Parachlamydia* –like の微生物の共生等の結果が得られている。[八木田健司、村上裕子]

(5) ジアルジア症の遺伝子型解析

ジアルジア症は国内での集団感染例はないが、散発的な発生はこの数年間 100 例/年程度で推移しており、感染が持続している状態にある。輸入症例、飲料水、接触等の感染経路の寄与を明らかにするには情報を蓄積する必要がある。これに関連して神奈川県で捕獲されたイヌより検出されたジアルジア 2 例の遺伝子型解析を行った。試料の状態が必ずしも良好ではなく、従来の gdh 遺伝子では PCR 産物が得られなかったが、コピー数で有利な 18S rDNA の Nested-PCR により産物を得て、塩基配列より Assemblage C と型別した。この遺伝子型は専らイヌに認められるが、ヒトでの検出事例が海外で報告されており、ヒトへの感染性に注意する必要が考えられた。[黒木俊郎（神奈川県衛生研究所）、八木田健司、泉山信司]

(6) ウサギ尿中ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 胞子検出の試み

*Encephalitozoon cuniculi*は人獣共通寄生虫（zoonotic parasite）であり、ヒトへの感染がウサギとイヌから分子疫学的に示唆されている。ウサギからウサギへあるいはウサギからヒトへの伝播経路は尿を介して行われると考えられていることから、今回、44 頭のウサギから尿検体を採集し、遠心尿沈渣を用いてCellufluor染色を行ったところ、3 検体に陽性の結果を得た。確認のため、これら 3 陽性検体から常法によりDNAを抽出し、*Encephalitozoon*汎特異的および *E. cuniculi*種特異的プライマーによるPCR－direct DNA sequencingを行ったところ 1 例のみが陽性となった。同様な結果は抗体を利用したビーズ法による遺伝子検査からも得られた。本陽性検体の採取尿量はおよそ 1 mlであり、含まれる胞子の数は 5×10^7と推定された。本陽性尿検体を排泄したウサギは弱齢であり一見健康であったことから、コロニー内流行の感染源として疫学的に興味深い一例と思われた。わが国の飼育ウサギにおける当該寄生虫の流行は拡大しており、今後、公衆衛生的観点から、監視のための更なる調査が必要と思われた。[朝倉登喜子、古屋宏二、五十嵐慎（帯広畜産大）、宇根有美（麻布大）、森田達志（日本獣医生命科学大）]

(7) ペット及び学校飼育ウサギ由来ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子亜型分析

ITS（internal transcribed spacer）領域に基づく *E. 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。前回は、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 頭の臓器や尿材料から *E. cuniculi* 胞子を分離し常法通り 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 型であったことを報告した。今回、更に PTP (polar tube protein) 遺伝子分析により全例が遺伝子 I 型であることを確認するとともに、SWP-1（spore wall protein I）遺伝子分析に基づく亜型についても分析したところ、分離された *E. cuniculi* I 型の 5 例は Ia 型、9 例は Ib 型であることが分かった。亜型分類の分子疫学的意義については今後の検討を必要とした。[朝倉登喜子、古屋宏二、森田達志（日本獣医畜産大）、宇根有美（麻布大）]

(8) 三日熱マラリア原虫のクロロキン耐性遺伝子の東南アジア・西太平洋地域における流行の調査

クロロキン（CQ）耐性三日熱マラリア原虫は 1980 年代中頃より西太平洋諸国で報告されているが、三日熱マラリア原虫は熱帯熱マラリア原虫と異なり培養が困難なこともあって、未だ薬剤耐性遺伝子は特定できていない。近年、三日熱マラリア原虫における CQ 耐性原因遺伝子の候補の1つとして pvmdr1 Y976F 変異が挙げられている。pvmdr1 Y976F を有する三日熱マラリア原虫の頻度はインドシナ諸国の株よりも西太平洋諸国の株で多く、Y976F 変異を有する株は CQ に対する IC50 が高いと報告されている。そこで、寄生動物部に保管されている 1984 から 1998 年までの輸入三日熱マラリア患

者の薄層標本から pvmdr1 Y976F の同定を試み、西太平洋諸国での CQ 耐性の広まりを解析した。その結果、in vivo で CQ 耐性三日熱マラリア原虫が報告される以前、1984 年にインドネシアとパプア・ニューギニアで得られたサンプルで Y976F 変異が同定された。一方3例と例数は少なかったものの、タイ・ミャンマーなどインドシナ諸国から得られたサンプルからは、Y976F 変異が同定されなかった。西大西洋諸国の集団における Y976F 変異は、CQ 耐性が出現する前から原虫に存在していた多型である可能性が指摘され、三日熱マラリア原虫 CQ 耐性と関係する他の変異の存在が示唆された。[中野由美子、中曽根英子、大前比呂思]

(9) アフリカ ガーナ国における薬剤耐性熱帯熱マラリアの疫学調査

ガーナ国における薬剤耐性熱帯熱マラリア、特にクロロキン（CQ）に対する耐性の拡散は、1998 年の時点で 6−25％と報告されていた。近年、ガーナでの標準的治療法は、アルテスネート-アモディアキン(ART-AQ)を用いた治療法へと変換し実施されているが、実際には CQ が使用される機会も多い。一方、Pfcrt や Pfmdr1の薬剤耐性遺伝子の single nucleotide polymorphisms と臨床例における耐性レベルとの関連に矛盾する例が近年多く報告されるようになり、いろいろな観点からより正確な薬剤耐性評価が緊急に必要とされている。これらの事から、無血清培地を用いた in vitro 試験法の確立を行い、ガーナ国で得た熱帯熱マラリア原虫の Pfcrt の mutation に関与する5つのコドンの特定、および Pfcrt gene の発現レベルを比較する事を行った。[Bethel Kwansa-Bentum、 太田伸生(東京医歯大)、朝日博子、大前比呂思]

(10) マラリアでみられる脾腫の病態と疫学的指標としての意義の検討

マラリアの浸淫地で小児が触知できるような脾腫を示した例の割合、脾腫率：Hackett's Spleen Rates(SRs)は、簡便なマラリアの疫学的指標として広く利用されてきた。一方、最近の positron emission tomography (PET)を用いた研究で、*Plasmodium coatneyi* 感染ニホンザルの腫大した脾臓で糖代謝が盛んになっていることがわかってきた。そこで、マラリアにおける脾腫の病態を血糖代謝の面から検討し、疫学的指標としての意義を確認するために、ソロモン諸島のマラリア浸淫地で小児を対象として、マラリア感染状況の調査と腹部超音波検査による脾臓の計測、及び血糖計測を同時に行った。熱帯熱マラリアの場合は、脾腫と同時に血糖低下を示す例が多く、脾臓における糖代謝が亢進し低血糖をきたす可能性が指摘された。一方、三日熱マラリアの場合、脾腫や血糖低下を示した例は、各々60％、50％程度にとどまり、血糖値については非感染例との間で有意差が認められなかった。また、両種のマラリア感染とも、原虫密度と脾腫及び血糖値との間に、特に相関はみられなかった。さらに、超音波検査で補正された SRs は、熱帯熱マラリアが流行の中心であれば、簡便な疫学的指標として利用できることが確認できたが、現在のアジア・太平洋地域の浸淫地のように、流行の中心が熱帯熱マラリアから三日熱マラリアに移っているところでは、感染率との間の乖離が増し信頼性が低下することが判明した。[大前比呂思、亀井喜世子（平成帝京大）]

(11) 温暖化に伴うマラリア再流行の可能性に関する研究

現在、日本のマラリア患者は輸入例に限られるが、マラリア原虫を媒介するハマダラカ：*Anophles* 属は国内に生息している。そこで、今後わが国で心配される輸入例からの蚊を介しての2次感染拡大の可能性について、具体例を基に数理モデルを作成して検討した。少数例からマラリアの感染拡大がみられた事例として、1951 年5人の感染者から発生した石垣島、大浜村での熱帯熱マラリア流行を数理モデル化したところ、10 人以上の輸入例に対し、1950 年代と同じような対応しかできなかった場合は、現在の気候条件でも八重山諸島でマラリア小流行がおきる可能性を否定できないことがわかった。しかし、より現実的な2人のマラリア感染者が、現在のコガタハマダラカ生息地に侵入し、1ヶ月後に治療を受けるという仮定では、日本国内での蚊を介した2次感染や再流行がおきる心配は殆どないと推測された。[大前比呂思、石川洋文（岡山大）]

2. 蠕虫症の同定・疫学・分子疫学的研究・調査

(1) 線虫症の同定・疫学・型別・分子疫学的研究・調査

ア. 発生実態の調査

日本食品衛生協会の食品営業賠償共済が、食中毒事故の損害賠償金を代弁する制度として、活用されている。2004 年から 2007 年まで（4 年間）の資料を見ると，アニサキス症が 54 件発生して，患者 64 名に共済金が支払われていた。年間の患者数は平均 16 名となり，厚生労働省・食中毒統計（アニサキス患者は年間平均 5.5 名）の約 3 倍の値を示した。しかしながら本症の患者数は，年間に 2,000 名以上と推定されており，正確な発生実態は、本協会の資料を用いた検討でも明らかにできなかった。本症の発生実態を正確に把握するには，アク

ティブ・サーベイを独自に実施する必要がある。[杉山 広, 梅原梓里, 森嶋康之, 春日文子(国立医薬品食品衛研)、高谷幸(日本食品衛生協会)]

イ. マルチプレックス PCR による種鑑別と分子疫学

アニサキス症の主要原因虫 *A. simplex* は、 *A. simplex* sensu stricto(以下 As)および *A. pegreffii*(以下 Ap)などの同胞種から構成される。Ap に特異的なミスマッチ・プライマー(Ap の配列に基づくプライマーに一塩基を更に置換)を構築し、更に As と Ap とにコンセンサスなプライマーペア、および *A. typica*(*A. simplex* と形態鑑別できる近縁種、以下 At)にのみ特異的なプライマーペアを構築した。これらを総て用いるマルチプレックス PCR の系で、As、Ap、At が鑑別できるか検討した。結果は予想どおりで, 各プライマーは標的種のみから予想サイズの PCR 産物を増幅した。[梅原梓里, 杉山 広, 川上 泰(麻布大)]

ウ. 日本産 *Anisakis simplex* の同胞種解析:九州の患者感染源の特定に向けた検討

アニサキス症の主要病原虫である *A. simplex* は、形態では区別できない同胞種、すなわち *A. simplex* sensu stricto(以下 As)や *A. pegreffii*(以下 Ap)などから構成される。九州の虫体で同胞種解析すると、患者からは As が、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。新潟産および静岡産のマサバも九州の市場で販売されていたので、これらから虫体検出と同胞種解析を試みた。その結果、検出虫体の半数以上が As である事が分かった。本州から九州に搬入された As 陽性の魚が九州で病気を引き起こしている事が示唆された。[梅原梓里, 杉山 広]

エ. 佐賀県のアニサキス症患者から摘出された虫体の分子同定

佐賀県内の病院から提供を受けた 5 虫体(男性 2 名、女性 2 名のアニサキス症患者に由来)について、同胞種レベルでの検討を加えた。その結果、3 名から得た 4 虫体が *A. simplex* sensu stricto(以下 As)で, 残りの 1 名から得た 1 虫体は *A. pegreffii*(以下 Ap)と同定された。本邦の患者由来の虫体は専ら As と報告されており、今回の検討でも As の感染が多かった。一方で Ap の人体感染例も認めた。この事例は、サワラが原因魚であった。[杉山 広, 梅原梓里, 森嶋康之, 平野敬之(佐賀県衛生薬業センター)]

オ. 全身性・劇症型アニサキス症の原因種の推定

アニサキスの集団感染事故では、胃アニサキス症だけでなく、アナフィラキシーショックなどの激烈な症状を呈した患者(全身性・劇症型)が発生している。患者は春先(2-4 月)に漁獲されたカタクチイワシを刺身・酢漬で食べている。責任虫種を推定する為に、集団感染事例の報告がある千葉県銚子市で, 2008 年 2-3 月に水揚げされたカタクチイワシを購入して調べた。429 匹を検査し、20 匹(4.7%)から 33 隻の虫体を検出した。虫体は総て *A. simplex* sensu stricto で、全身性・劇症型アニサキス症の原因になると推定した。 [杉山 広, 梅原梓里, 川上 泰(麻布大)]

カ. 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

九州地方では、既に3箇所の動物園のアライグマからアライグマ回虫が検出されている。野生化アライグマは福岡県、佐賀県、長崎県での増加が報じられているが、捕獲個体のアライグマ回虫の検査は現在まで実施されていなかった。現在、福岡県で捕獲され冷凍保存されていた個体の解剖検査を実施しつつある。首都圏では、特に埼玉県におけるアライグマの増加が目立つ状況になっている。現在までに東松山地域を中心として 552 検体の糞便検査を実施したがいずれもアライグマ回虫の虫卵は陰性であった。神奈川県については今年度も継続して検査を実施し、捕獲業者から送付された糞便は現在までに 104 検体である。この結果、アライグマ回虫卵は検出されなかったがタヌキ回虫卵は 2 検体から検出された。[川中正憲, 森嶋康之, 佐藤 宏(山口大), 山本 徳栄(埼玉衛研)]

(2) 吸虫症の同定・疫学・型別・分子疫学的研究・調査

ア. タイで見出した新型のウェステルマン肺吸虫に関する研究

タイでの調査で、従来のものとは異なるが、明らかにウェステルマン肺吸虫と同定すべきメタセルカリアを淡水産カニから分離した。既知のウェステルマン肺吸虫より、メタセルカリア・成虫(実験感染ネコから回収)が有意に小さかった。ITS2 領域の塩基配列がホモロガスなものは未登録であったが、系統解析では南アジアのウェステルマン肺吸虫(東南・東アジアに分布する本虫の祖先種)と同一のグループに包含された。[杉山 広, 森嶋康之, 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)]

イ. マルチプレックス PCR 法による *Metagonimus* 属吸虫鑑

別法の開発

日本国内における各種寄生蠕虫症の発生が年々減少している中、*Metagonimus* 属吸虫の感染は依然多発している。その予防対策を立案するにあたっては、感染源の特定と並び、正確な感染種の同定が必須である。しかしながら、通常の糞便検査で得られた虫卵を形態学的観察のみで鑑別することは困難であった。同属に属する吸虫類は、種間のみならず、近縁な異形吸虫属の種とも形態学的に類似するからである。そこで、国内に分布する *Metagonimus* 属の吸虫類 3 種を正確に鑑別することを目的として、cox1 領域を標的部位としたマルチプレックス PCR 法による分子同定法の開発を試みた。[森嶋康之, 杉山 広, 川中正憲, 山﨑 浩]

(3) 条虫症の同定・疫学・分子疫学的研究・調査

ア. 南米チリにおけるヒトの裂頭条虫症の鑑別と分子疫学

チリでは 1975～1976 年に、ヒトの広節裂頭条虫症と太平洋裂頭条虫症が報告去れて以来、2002 年までに 100 例近い症例報告があるが、最近では、サケ・マス市場のグローバル化に伴い、チリ産養殖サケ・マスが感染源と推定される裂頭条虫症が 2005～2006 年にブラジルで発生した。南米では裂頭条虫症の原因種は形態学的に同定され、遺伝子解析による鑑別は行われてこなかった。そこで、裂頭条虫症の分子診断に関する技術移転や遺伝子検査キットの field trial 地としてのチリ側研究機関との共同研究体制構築と裂頭条虫の採取を目的とした調査を行った。[山﨑 浩, 川中正憲, 荒川京子, 加藤 基恵（チリ大学歯学部）, Ruben Mercado（チリ大学医学部）, Patricio Torres（南チリ大学医学部）]

イ. マルチプレックス PCR による裂頭条虫科条虫の鑑別法開発

ヒトの裂頭条虫症・複殖門条虫症の原因となる種類として、日本海裂頭条虫、広節裂頭条虫、太平洋裂頭条虫、鯨複殖門条虫などが問題になるが、とくに *Diphyllobothrium* 属条虫の形態学的な鑑別は困難であるために、これら裂頭条虫類を正確に同定するために、ミトコンドリア DNA、とくに atp6 遺伝子をマーカーとして multiplex PCR を開発した。開発に当たっては、裂頭条虫標本の収集のために国内外の研究者の協力を得た。[山﨑 浩, 倉持利明（国立科学博物館動物研究部）, 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）, Ruben Mercado (チリ・チリ大学医学部)]

ウ. チリ産サケ・マスにおける裂頭条虫の感染状況調査

南米チリは、ノルウェーに次ぐ世界第 2 位の養殖サケ・マス生産国で、わが国はトラウトサーモン名のニジマスの他、ギンザケ、アトランティックサーモンをチリから輸入している。チリでは、古くから裂頭条虫症の報告がなされていたが、この養殖サケ・マスが感染源と推定される裂頭条虫症の集団発生がチリ以外のブラジルで起きるなど問題になっている。わが国も大量のチリ産サケ・マスを輸入していることから、感染予防対策のため、チリ南部の養殖サケ・マスにおける裂頭条虫の寄生状況調査を行った。その結果、ギンザケでは裂頭条虫の幼虫が確認され、その種の同定作業を行っている。[山﨑 浩, 川中正憲, 荒川京子, 森 有加, 加藤 基恵（チリ大学歯学部）]

エ. 中国・雲南省、および山東省におけるテニア症・有鉤嚢虫症の疫学調査研究

有鉤条虫（有鉤嚢虫を含む）、無鉤条虫、アジア条虫の感染によるテニア属条虫症は世界に分布するが、本邦においてはこれらの寄生虫症は輸入寄生虫症として散発的に発生していることから、テニア属条虫症の遺伝子診断法確立が急務である。中国南西部の雲南省や華北部の山東省はこれら条虫症の流行地域であり、遺伝子診断法の開発のために必要な研究材料を採取する目的で、中国 CDC 上海寄生虫病研究所、雲南省大理州血吸虫病防治研究所ならびに山東省寄生虫病防治研究所・嚢虫症治療中心の協力を得て、テニア属条虫の採取、ならびに field survey の基盤を構築した。[山﨑浩, 川中正憲, 余 森海（中国 CDC, 上海）, 李 远林・罗 天鹏（雲南省大理州血吸虫病防治研究所), 邓 绪礼（山東省寄生虫病防治研究所、山東省嚢虫症治療中心）]

オ. 野生哺乳類から得られる裂頭条虫の分子同定

わが国では、サクラマス、シロザケ、カラフトマスの生食を感染源とする日本海裂頭条虫症の発生が後を絶たない。この日本海裂頭条虫の生活環は完全には明らかにされていない。自然界における終宿主がヒグマであることは確認されたが、まだ謎も多い。そこで、日本海裂頭条虫の終宿主としてヒグマ以外の動物の存在を明らかにするために、国立科学博物館動物研究部で種々の野生動物から採取、保存されている裂頭条虫についてDNA解析に基づいた調査研究を行い、興味ある知見が得られつつある。[山﨑 浩, 森 有加, 倉持利明（国立科学博物館動物研究部）]

カ. 太平洋裂頭条虫の分子系統学的研究

太平洋裂頭条虫は現在 *Diphyllobothrium pacificum* の学名

が用いられているが、最近の DNA 解析から *Diphyllobothrium* 属と同じ裂頭条虫科に属する *Spirometra* 属よりも系統学的に遠いことから、太平洋裂頭条虫を *Diphyllobothrium* 属に含めることについては論議されている。そこで、わが国と南米チリにおいて太平洋裂頭条虫として報告された標本を用いて DNA 解析を行い、太平洋裂頭条虫の *Diphyllobothrium* 属としての妥当性を検討している。[山﨑 浩, 長谷川英男(大分大学医学部), 倉持利明(国立科学博物館動物研究部)、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), Ruben Mercado (チリ・チリ大学医学部)]

キ. 鯨複殖門条虫に見られるミトコンドリア DNA 多型解析

ヒトの小腸に寄生する大複殖門条虫 *Diplogonoporus grandis* とヒゲクジラ類の小腸に寄生する鯨複殖門条虫 *Diplogonoporus balaenopterae* の分子系統学的解析として、(財)日本鯨類研究所が北太平洋地域で実施した調査捕鯨によって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 7 個体を用いて、ribosomal RNA 遺伝子内の ITS-1 領域とミトコンドリア DNA の cox1 遺伝子の塩基配列を解析したところ、遺伝子多型の存在が確認された。[山﨑 浩, 森 有加, 倉持利明(国立科学博物館動物研究部), 藤瀬良弘(財団法人・日本鯨類研究所)]

ク. 北海道以外の都府県で発生した多包虫症の感染源調査

多包虫症の発生は、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。このような非流行地における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について詳細な疫学的事項の収集と解析を行った。今年度は、関東地方ならびに近畿地方で発生した 2 症例について調査を実施したところ、関東地方の症例は北海道居住歴を有し、道内での感染と推定された。一方、近畿地方の症例は、北海道や海外流行地との関連が見出せず、原発症例であることが強く示唆された。今後さらに調査症例数を蓄積することによって、非流行地原発症例の感染源を推定することができると考えられる。[森嶋康之, 川中正憲, 土井陸雄(横浜市大),杉山広]

III 生理・生化学・分子生物学・病原機構・特異的代謝経路に係る研究

1. 原虫症の病原機構・生物学にかかる研究

(1) 赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア. 赤痢アメーバの貪食と脂質シグナル

赤痢アメーバの貪食は病原機構に深く関与すると考えられるが、この分子機構は明らかでない。そこで赤痢アメーバの貪食にフォスファチジルイノシトール3－リン酸(PtdIns3P)が関与するかどうか、PtdIns3P に特異的に結合する FYVE ドメインと融合させた green fluorescence protein(GFP);GFP-FYVE を発現させ、貪食に伴う局在変化を追った。GFP のシグナルは定常状態で形質膜には存在せず、オルガネラ膜上にあった。さらに貪食時、PtdIns3P は速やかに貪食胞に動員され、そのまま貪食胞に存在した。PtdIns3P の存在しない貪食胞も存在することから、貪食胞の成熟に伴い PtdIns3P の解離が起こると考えられた。さらに赤痢アメーバに存在する FYVE ドメインタンパク質(*E.histolytica* FYVE domain proteins: EhFP)を検索したところ 12 の遺伝子が存在した。うち 11 に RhoGEF ドメインが存在することからこれらの分子は細胞骨格制御に関与することが予想された。実際貪食のシグナル伝達に関与するたんぱく質を特定するために、貪食時の EhFP の局在を検討したところ EhFP4 が貪食胞に局在することが明らかとなった。EhFP4 は高発現する 10 個の Rho/Rac 分子のうち、4 個と特異的に結合することから、これらの Rho/Rac を活性化すると考えられた。よって、脂質シグナルによる細胞骨格制御が赤痢アメーバの貪食に重要であることが示唆された。今後 EhFP4 と脂質シグナルについて解析する予定である。[津久井久美子、野崎智義]

イ. 赤痢アメーバシステインプロテアーゼ輸送機構の解明

システインプロテアーゼ(CP)は赤痢アメーバの主要な病原因子の一つである。しかし CP の細胞内輸送機構は不明である。そこで CP に結合する分子の同定から CP 輸送機構解明を目指した。CP5 に HA タグを付した融合タンパク質 CP5-HA 強制発現株から CP5 に特異的に結合する分子量約 110kDa のたんぱく質が、抗 HA 抗体による免疫沈降により同定された。質量分析の結果、904 アミノ酸からなる一回膜貫通型の分泌タンパク質であることが明らかとなった。また本分子は赤痢アメーバゲノムデータより 11 のファミリー分子が存在することが明らかとなった。そこでこれらの分子を cysteine protease binding protein family: CPBF と名付けた。このタンパク質は膜貫通ドメインと細胞質側に小胞輸送に重要なアダプタータンパク質との結合モチーフを持つ。よって CP の輸送に関わるレセプタ

ーであることが予想された。他種生物においてもプロテアーゼレセプターの報告例は限られており、CPBF1 が既知のタンパク質との相同性を持たないことからも新規のプロテアーゼレセプター分子であると考えられる。今後、遺伝子発現抑制株の作成、CPBF1 の細胞内ドメインの変異型の強発現株等の作成により、詳細な CP 輸送機構を明らかにしていく。[古川敦、津久井久美子、野崎智義]

ウ. *Entamoeba invadens* シスト化に関与する Rab、プロテアーゼのトランスクリプトーム解析

赤痢アメーバは嚢子（シスト）を介して伝播する。しかし赤痢アメーバのシスト化モデルが存在せず、研究を阻んでいる。一方爬虫類に感染する *Entamoeba invadens* は in vitro で効率的にシスト化を誘導でき、*Entamoeba* 属シスト化のモデルとなると考えられる。そこで 2008 年に読了した *E. invadens* のゲノム情報をもとにマイクロアレイを作成し、シスト化誘導後 0, 0.5, 2, 8, 24, 48, 120 時間後の栄養体・シストから RNA を抽出しトランスクリプトーム解析を行った。ステージ変化に必須と考えられた細胞内小胞輸送の変化を知るために小胞輸送の制御分子である Rab 低分子量 GTPase に着目したところ、86 の Rab 遺伝子のうち 82 遺伝子についてプローブを作成でき、21 がシスト特異的に、33 が栄養体特異的に、28 がどちらのステージでも同程度に発現していた。病原因子としても重要であり、細胞分化に伴うリモデリングでもユニークな役割が期待された 46 の C1 ファミリーの CP については 6 がシスト、24 が栄養体、16 が定常的に発現していた。またシストで発現が少なかった Rab のうち、Rab11C, Rab11D, RabC2, RabZ5 でそれぞれ 2 時間、24 時間、2~8 時間、24 時間で一過性の発現の上昇が見られ、分化過程に重要な Rab であることが示唆された。これらの知見は *Entamoeba* シスト化に関する網羅的解析への初めての試みであり、*E. invadens* のシスト化の解明だけでなく赤痢アメーバシスト化の分子機構についても知見を与えるものである。[Aleyla Escueta de Cadiz、Afzal Husain、津久井久美子、野崎智義]

エ. 赤痢アメーバ、ミトコンドリア痕跡オルガネラのプロテオーム解析

赤痢アメーバは嫌気呼吸をし、典型的なミトコンドリアを持たない。しかしミトコンドリアに存在するいくつかの分子を持ち、それらが直径約 2μm のオルガネラに集積していることが示唆されている。しかしこのオルガネラの機能は未知であった。そこでこのオルガネラを二段階のパーコール濃度勾配遠心法により濃縮し、プロテオーム解析を行い、95 の当該オルガネラ局在タンパク質候補を発見した。このリストには既知のミトコンドリア由来タンパク質 CPN60, CPN10, Hsp70, MCF が含まれていた。またランダムに選んだ 18 の分子について局在を検討したところ 15 分子について当該オルガネラと考えられる局在を示した。よってリストの信頼性が示された。興味深いことにこのリストには硫酸活性化を行う一連の酵素群（ATP sulfurylase, APS kinase, inorganic pyrophosphatase, sodium/sulfate symporter）が含まれていた。パーコールにより濃縮したフラクションにこれらの酵素活性があったことから、このオルガネラは硫酸活性化を行うオルガネラであると考えられた。硫酸活性化は通常細胞質で起こり、これがオルガネラにある例は現在まで一例しか報告がない。また一連の酵素群はバクテリアや真核生物などヘテロな生物種由来であることから、この知見は赤痢アメーバの代謝だけでなくその進化過程にも新説を与える重要な発見である。[三田村文香、津久井久美子、野崎智義]

オ. 赤痢アメーバの病原機構におけるリソソーム形成

赤痢アメーバの病原性に重要な細胞内輸送系を同定するために、DNA マイクロアレイ解析により病原株で発現が上昇する遺伝子の同定を行った。その結果、EhArfA2 GTPase を候補として得た。病原株における EhArfA2 の機能を解析するために、A-HM1 株において EhArfA2 遺伝子を大量発現する株を作製したところ、細胞内リソソーム数が増大することが分かった。リソソーム数の増大は EhArfA2 の活性化型（GTP 型）でより顕著であり、不活性化型（GDP 型）では減少したことから、EhArfA2 がリソソーム形成に関与していることが分かった。次に上皮細胞への障害性を検討したところ、GTP 型でなく、GDP 型で細胞障害活性が上昇することが分かった。このことは細胞外に分泌される CP の量が増大していることが原因であった。さらに、GDP 型における CP の分泌上昇は、リソソームが崩壊し細胞外に CP が漏れ出てくることが原因だということが分かった。以上のことは、病原因子を蓄積している赤痢アメーバのリソソーム形成そのものが病原性発揮に重要であることを示している。[中野由美子、岡田麻美（国際医療センター）、William A. Petri, Jr （University of Virginia）、野崎智義]

カ. 赤痢アメーバの特異的含硫アミノ酸代謝の解明と創薬に係る研究

赤痢アメーバの含硫アミノ酸分解を担うメチオニンガンマリアーゼ(MGL)の構造と生理機能の解明を行った。結晶構造の一部が解明された。また、プロドラッグとしてトリフルオロメチオ

ニン(TFM)ならびにその誘導体群のインビトロ・インビボでの有効性を確認し、メトロニダゾールよりも優れた薬効を示すTFM 誘導体を獲得した。[佐藤暖、小林正規（慶応大）、山本雅一、所源亮（アリジェン製薬）、Gil Penuliar、野崎智義]

(2) ジアルジアにおける細胞死の分子機構に係る研究

酸化ストレス応答はジアルジアの細胞周期と細胞死の調節に重要な役割を果たしている。この国際共同研究では、過酸化水素とメトロニダゾールを酸化ストレスとしてジアルジアの細胞周期が制御を受けることを示した。更に、ミトコンドリアを欠損するジアルジアではアポトーシス様の細胞死が起こることをアネキシン V 結合、DNA 断片化等で証明した。この細胞死においてはカスパーゼ 9 の見られなかった。プロテアーゼ阻害剤の粗存在下でも細胞死は惹起された。したがってジアルジアでは酸化ストレスが誘起するカスパーゼ 9 非依存的細胞死の経路が存在することが明らかとなった。[Esha Ghosh, Arjun Ghost, Sandipan Ganguly (National Institute of Cholera and Enteric Diseases, India), 三田村文香、津久井久美子、野崎智義]

(3) 自由生活性アメーバの病原機構・生物学にかかる研究

ア. 角膜実質細胞に対するアカントアメーバの病原性

アカントアメーバ性角膜炎は、角膜上皮へのアメーバ侵入とその後の角膜実質層内における炎症および潰瘍形成という過程を経て進行するが、その発症、病変機序に関しては不明な点が多い。この点に関連して、ヒト培養角膜実質細胞（HCSC）に対するアメーバの細胞障害性（CPE）を調べた。その結果、アメーバの CPE には、1) HCSC の局所的な凝集反応を誘導し、その後剥離、浮遊させる作用がある、2) アメーバの HCSC への接着が条件で、接着後、2 日以内に HCSC の反応が現れる、3) 培地中の血清により阻害されうる、といった特徴が見られた。この CPE の本質がアポトーシスであることの証拠は得られなかった。[高岡紀子（東京女子医大東医療センター）、八木田健司]

イ. モノクロラミンによる *Naegleria* アメーバの不活化

浴槽の維持管理方法の構築を目的として、入浴者にとって安全で許容し得る浴槽水の消毒方法の検討を行っている。レジオネラ属菌汚染防止等の目的で温泉を含む浴用水の施設の塩素消毒は必須となっているが、高 pH やある種の金属イオンを多く含む泉質の湯などでは著しく効果を減ずることが指摘されている。アンモニア性窒素を含む泉質では結合塩素となって遊離残留塩素が維持できないことが問題とされたが、結合塩素にも消毒効果はあり、当該研究ではクロラミン消毒に着目して研究を進めている。昨年度は有機の結合型塩素であるクロラミン B を用いた消毒を行い、数千の Ct 値にしてアメーバを不活化することを明らかにした。当該年度は無機のクロラミンであるモノクロラミンによる消毒について、レジオネラ属菌の宿主の1つ、*Naegleria* 属アメーバに対する効果を評価した。*Naegleria* 属アメーバに対して pH7.5 から 9.0 では、Ct 値≒5～8（モノクロラミン 1mg/L で 5～8 分の処理に相当）で 4-$\log_{10}$ のアメーバの不活化が達成された。モノクロラミンはアメーバの栄養体を容易に不活化し、浴槽水での応用が期待された。 [泉山　信司、八木田健司]

(4) 赤内型熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* の増殖機構の解析—脂質性増殖因子による増殖制御

マラリア原虫の赤血球内増殖機序を解明し、治療薬の標的分子探索や新規治療薬開発に資することを目途とし Chemically defined medium（CDM）の作出を試み、特定構造の遊離脂肪酸およびリン脂質を用いて、ヒト血清含有 medium と同等あるいはそれ以上の増殖効果を示す CDM を先に報告した。今回さらに必須となる増殖因子をそれぞれ組み合わせることにより、熱帯熱マラリア原虫の赤血球内増殖プロセスを容易にコントロールできる（1、schizogony の抑制；2、merozoite 形成の抑制；3、merozoite 赤血球内侵入阻害；および 正常分化増殖）組み合わせを作出した。本法を用いる事によって、熱帯熱マラリア原虫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、Mohammed Tolba（東京大医科研）、Bethel Kwansa-Bentum (東京医歯大)]

2. 蠕虫症の病原機構・生物学にかかる研究

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、有鉤嚢虫カテプシン L に対する抗カテプシン L ポリクローナル抗体を作成し、これを用いて免疫染色を行った。その結果、カテプシン L は嚢虫頭部の吸盤の筋組織や嚢胞壁に局在することが明

らかになり、嚢虫が変性し、死滅する過程において虫体より漏出し、これが組織の浮腫など嚢虫症の病態に関与することが示唆された。[山﨑 浩, 森 有加, 李 远林・罗天鹏(雲南省大理州血吸虫病防治研究所)]

寄生虫症依頼検査業務

平成 20 年度には、計 60 検体(54 症例)の依頼検査があった。

I. 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 6 種(ウェステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、肝吸虫、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 ELISA(酵素抗体法)を実施しているが、寄生虫症によって、dot-blot、 western blot(有鉤嚢虫症、エキノコックス症)、あるいは虫体切片標本を用いた免疫染色検査(旋尾線虫症)を行っている。計 40 血清サンプルのうち、25 検体(14 症例)で特異抗体が検出された。内訳は肺吸虫症(8)、有鉤嚢虫症(5)、マンソン弧虫症(4)、イヌ・ネコ回虫症(2)、単包虫症(2)、アニサキス症 (1)、 赤痢アメーバ症(1)、旋尾線虫症(1)、日本住血吸虫症(1)。特筆すべきは淡水産カニを食材にする食習慣のある在日アジア人での肺吸虫症の発生であった。[森 有加、杉山 広、森嶋康之、川中正憲、山﨑 浩]

II. 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標本中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 遺伝子の解析結果に基づいて行った。前年度に比べ検体数は倍増し、計 24 件の依頼検査があった。その内訳は日本海裂頭条虫(9)、無鉤条虫(4)、単包虫 (3)、マンソン弧虫症(2)、ウェステルマン肺吸虫(2)、宮崎肺吸虫(2)、多包虫(1)、有棘顎口虫(1)であった。サケ・マスの刺身や寿司を好む日本人の食生活習慣を反映した日本海裂頭条虫症が多かった他、海外で感染して国内で発症した輸入症例として無鉤条虫症と単包虫症が特記された。[森 有加、杉山 広、森嶋康之、川中正憲、山﨑 浩]

III. その他の検査

キチマダニ(1)[山﨑 浩]

レファレンス業務

I. 衛生微生物技術協議会レファレンスセンター会議への参加

衛生微生物技術協議会第 29 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。各種寄生虫症の診断、クリプトスポリジウムのプール集団感染事例を中心に議論した。また、各種寄生虫症の血清診断の現状、ジアルジア症の現状と検査体制について話題提供を行った。更に、「わが国における寄生虫疾患の現状と検査診断技術の進歩」、「赤痢アメーバ症の現状と検査体制」について講演を行った (2008 年 6 月 25 日、東京)。[大前比呂思、山﨑 浩、中野由美子、八木田健司]

II. 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た。［八木田健司、泉山信司］

国際協力関係業務

I. 韓国延世大学との日韓共同研究シンポジウム開催

韓国延世大学との赤痢アメーバ症の生物学・病因学に係る共同研究を促進することを目的に、Myeon Heon Shin 博士を招聘し、共同シンポジウムを開催した。(2008 年 9 月 2 日)[野崎智義、津久井久美子、中野由美子、見市文香]

II. アジアにおける新興・再興感染症拠点ネットワーク国際会議への参加

札幌で開催された国際会議 Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections へ参加し、共同研究者である National Institute of Cholera and Enteric Diseases の Sandipan Ganguly 博士、Nabendu S. Chatterjee 博士らと今後の国際協調と共同研究に関する打ち合わせ行った。(2008 年 12 月 15-16 日)[野崎智義]

III. インド国立コレラ下痢症研究所との国際共同研究

National Institute of Cholera and Enteric Diseases の Sandipan Ganguly 博士らとコルカタのスラム及び感染症病院における赤痢アメーバ症等腸管原虫症のフィールド調査に関する共同研究の打ち合わせ行った。(2009 年 3 月 15-22 日)[野崎智義]

IV. 野口英世アフリカ賞記念感染研シンポジウム企画

第一回野口英世アフリカ賞受賞者である London School of Hygiene and Tropical Medicine の Brian Greenwood 教授を招聘し、" Elimination of malaria - is this feasible?"の演題で講演を企画・運営した。(2008 年 12 月 17 日)[山本直樹(エイズ研究センター)、中嶋建介(国際協力室)、野崎智義]

V. 日米医学協力会議寄生虫疾患部会会議

日米医学協力会議寄生虫疾患部会の日本側パネルメンバーとして会議ならびに学術セミナーに参加した。その後赤痢アメーバ症に係るサテライトシンポジウムを感染研で開催した。(2009 年 1 月 6-8 日)[津久井久美子、中野由美子、三田村文香、岡田麻美、Youngah Lee, Jeelani Ghulam, Mohammad Abu Yousuf, Afzal Husain, Aleyla Delos Santos Escueta, Gil Mallari Penuliar,桝田京子、古川敦、野崎智義、橘裕司(東海大)、小林正規(慶応大)、所正治(金沢大)、濱野真二郎(九州大)、William A. Petri (University of Virginia), Lesley Temesvari (Clemson University), Christopher Huston (University of Vermont), Myeon Heon Shin (Yonsei University), Alok Bhattacharya (Jawaharal Nerhu University)]

VI. 第 17 回国際熱帯医学マラリア会議 ICTM2008 (韓国済州島 9 月 29 日～10 月 3 日)の運営協力

住血吸虫症の疫学と対策のセッションのオルガナイザーとして、インドネシアの Mohamed Sudomo 博士とともに、演題の選定 及び 運営を行った。住血吸虫症は、消化管寄生蠕虫などと並ぶ典型的な NTDs だが、他の寄生蠕虫症と同様、現在浸淫地では、治療的介入を中心とした成果があがり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。しかし、今後のモニタリング手法としての免疫血清検査の意義については、まだ懐疑的な意見も多い。今後は、超音波検査を利用した morbidity 調査と並んで、このような免疫血清検査の意義についても、Regional Network on Asian Schistosomiasis(RNAS)などの枠組みを利用して、国際的合意が得られるよう働きかけを強める必要があるという認識を共有した。また、地球温暖化に伴う気候・環境変化によって、媒介貝の生息範囲拡大の懸念されるので、生物学的特徴に基づく、媒介貝対策のあり方についても検討していかねばならない。[大前比呂思、Mohamed Sudomo(Institute of Enviromental Sciences, Indonesia)]

VII. 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、2008 年 10 月 2 日、ICTM2008 の会期中に国際会議を行った。日本以外に、中国、フィリピン、タイ、カンボジア、ラオス、パプア・ニューギニア、ソロモン諸島の6カ国から7研究機関、さらに WPRO の担当者の出席を得た。東南アジアや西太平洋地域では、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り、既存の疫学的指標では、流行の実態を正確に捉えることができない。今後は、地域ごとに大きく異なっているマラリア原虫の変異速度も考慮して、マラリア流行と対策評価が的確に行えるような疫学的指標を考えていかねばならない。また新たな指標の開発や標準化も望まれる。[大前比呂思、湯林華(上海寄生虫病中心)]

研修業務

I. 平成 20 年度水道クリプトスポリジウム試験法実習 (国立保健医療科学院主催) にて、水道源水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った。 [八木田健司、泉山信司]

II. 平成 20 年度希少感染症診断技術研修会において、消化管寄生性原虫の検査法について講義した。(2008 年 2 月 24-25 日) [八木田健司、泉山信司]

III. 平成 20 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、水道原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。[泉山信司、八木田健司]

IV. 平成 20 年度希少感染症診断技術研修会において、原虫検査の要点並びに食品媒介寄生蠕虫症について講義した。(2008 年 2 月 24-25 日)[八木田健司、泉山信司、杉山広、大前比呂思]

V. 平成 20 年度 JICA 集団研修「国際寄生虫予防・指導者セミナー」で、「Current situation of parasitic helminthiases in Japan」「Control of schistosomiasis in Southeast Asia」と題する

セミナーを行った。(2009 年 2 月 9 日)[山崎 浩, 大前比呂思]

VI. 平成 20 年度新興再興感染症技術短期研修にて、「寄生虫検査(蠕虫)」に関する講義、実習を全国の地方衛生研究所などの技師を対象に実施した(2008 年 11 月 11 日、感染研・村山庁舎) [森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩, 大前比呂思]

VII. ブタの多包虫症に関して、病理組織標本を用いた遺伝子診断法の手技について技術研修を行った(2008 年 12 月 1～2 日, 感染研・戸山庁舎)。[川中正憲, 山崎 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 立崎 元・ 田中成子(十和田食肉衛生検査所)]

VIII. 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」に関する研修を行った。特にマラリア原虫の LAMP 法による遺伝子検査法については、あわせて実習も行った。(2009 年1月 29 日)[大前比呂思、泉山信司、布施晃(血液・安全性研究部)]

IX. 国立感染症研究所・FETP 初期研修で、「寄生虫症の疫学」に関する研修を行った。(2008 年7月 28 日) [大前比呂思]

X. 円借款事業「フィリピン、カトビック農業総合開発計画 のカウンターパート研修」で、「Environmental change, agriculture development and schistosomiasis control」と題するセミナーを行った。 (2008 年 10 月 22 日) [大前比呂思]

XI. 国際協力機構(JICA)の研修コース、「地域保健システム強化による感染症対策」に協力して、「Control of malaria and schistosomiasis in developing countries 」と題するセミナーを行った。(2008 年 11 月 12 日, 2009 年 2 月 6 日) [大前 比呂思]

XII. 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。(2008 年 12 月 17 日)[大前 比呂思]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Picazarri, K., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Autophagy during proliferation and encystation in the protozoan parasite *Entamoeba invadens*. Inf. Immmun., 76, 278-288, 2008.

2) Sato, D., Yamagata, W., Harada, S., and Nozaki, T. Kinetic characterization of methionine gamma-lyases from the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* against physiological substrates and trifluoromethionine, a promising lead compound against amoebiasis. FEBS J., 275, 548-560, 2008.

3) Sato, D., Karaki, T., Shimizu, A., Kamei, K., Harada, S., and Nozaki, T. Crystallization and preliminary X-ray analysis of L-methionine γ-lyase 1 from *Entamoeba histolytica*. Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun., 64, 697-699, 2008.

4) Ebert, F., Bachmann, A., Nakada-Tsukui, K., Hennings, I., Drescher, B., Nozaki, T., Tannich, E., and Bruchhaus, I. An *Entamoeba* cysteine peptidase specifically expressed during encystation. Parasitol. Int., 57, 521-524, 2008.

5) Wong, E., Okhonin, V., Berezovski, M., Nozaki, T., Alexandrov, K.,and Krylov, S. "Inject-mix-react-separate-and-quantitate" method for High-throughput screening of enzyme Inhibitors. J. Am. Chem. Soc., 130, 11862-11863, 2008.

6) Picazarri, K., Nakada-Tsukui, K., Sato, D., and Nozaki, T. Analysis of autophagy in the enteric protozoan parasite *Entamoeba*. Methods Enzymol., 451, 359-371, 2008.

7) Hussain, S., Ali, V., Jeelani, G., and Nozaki, T. Isoform-dependent feedback regulation of serine O-acetyltransferase isoenzymes involved in L-cysteine biosynthesis of *Entamoeba histolytica*. Mol. Biochem. Parasitol., 163, 39–47, 2009.

8) Ghosh, E., Ghosh, A., Ghosh, A. N., Nozaki, T., and Ganguly, S. Oxidative stress-induced cell cycle blockage and a protease-independent programmed cell death in microaerophilic *Giardia lamblia*. Drug Design, Development and Therapy, 3, 103-110, 2009.

9) Buerano,C.C., Lago,C.B., Matias, R.R., de Guzman, B.B., Izumiyama, S., Yagita, K. and Natividad, F.F. Identification of *Cyclospora* and *Isospora* from diarrheic patients in the Philippines. Philippine J. Sci.,137, 11-15,2008

10) Kuroki, T., Izumiyama, S., Yagita, K., Une, Y., Hayashidani, H., Kuroo, M., Mori, A., Moriguchi. H., Toriba, M., Ishibashi, T. and Endo,T. Occurrence of *Cryptosporidium* sp. in snakes in Japan. Parasitol. Res., 103, 801-805, 2008

11) Furuya, K., Miwa, S., Omura, M., Asakura, T., Yamano, K., Takatori, K., Kudo, S. Mouse monoclonal immunoglobulin

E antibodies specific for the microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tube protein 1. Hybridoma, 27, 153-157, 2008

12) Igarashi, M., Oohashi, E., Dautu, G., Ueno, A., Kariya, T., Furuya, K. High seroprevalence of Encephalitozoon cuniculi in pet rabbits in Japan. J. Vet. Med. Sci., 70, 1301-1304, 2008

13) Singh S.T., Sugiyama H. Paragonimiasis in India: a newly emerged food borne parasitic disease. Clin. Parasitol., 19, 95-98, 2008.

14) Singh S.T., Sugiyama H., Umehara A., Hiese S., Khato K. *Paragonimus heterotremus* infection in Nagaland: a new focus of paragonimiasis in India. Indian J. Med. Microbiol., 27, 123-127, 2008.

15) Madarame H., Suzuki H., Saitoh Y., Tachibana M., Habe S., Uchida A., Sugiyama H. *Paragonimus miyazakii* ectopic infection in the subcutis showing a mass including worm cysts, egg granuloma and metazoal lymphadenitis. Vet. Pathol., 46,945-948, 2009.

16) Singh S.T., Khamo V., Sugiyama H. Cerebral paragonimiasis mimicking tuberculoma: first case report in India. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 39 (Suppl. 1), 2009 (in press).

17) Yamasaki H., Nakao M., Nakaya K., Schantz M. P., Ito A. Genetic analysis of *Echinococcus multilocularis* originating from a patient with alveolar echinococcosis occurring in Minnesota in 1977. Am. J. Trop. Med. Hyg., 79, 245-247, 2008.

18) Sakai H., Otsubo S., Nakao M., Yamasaki H., Kagei N., Iizuka H. Multiple papules and nodules on the face and neck caused by the larvae of an unknown nematode: a non-creeping type eruption. J. Am. Acad. Dermatol., 58, 668-670, 2008.

19) Takeda, M., Qian, B. Z., Sugiyama, H. Records of three species of freshwater crabs from China. J. Teikyo Heisei Univ., 20, 193-202, 2009.

20) Yamasaki H., Sugiyama H., Umehara A., Morishima Y., Kawanaka M., Kuramochi T. Recent advances in molecular diagnosis for parasitic helminthiases. Proceedings of the 10th Asian-Pacific Congress for Parasitic Zoonoses, 43-57, 2008.

21) Yamasaki H., Kuramochi T. A case of *Diphyllobothrium nihonkaiense* infection possibly linked to salmon consumption in New Zealand. Parasitol. Res., 105, 583-586, 2009.

22) Nkouawa A., Okamoto M., Kouojip-Mabou A., Edinga E., Yamasaki H., Sako Y., Nakao M., Nakaya K., Blair D., Agatsuma T., Enyong P., Shibahara T., Moyou-Somo R., Ito A. Paragonimiasis in Cameroon: molecular identification, serodiagnosis and clinical manifestations. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 103, 255-261, 2009.

23) 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.

24) Yamano, K., Goto, A., Miyosi, M., Furuya, K., Sawada, Y., Sato, N. Diagnosis of alveolar echinococcosis using immunoblotting with plural low molecular weight antigens. J. Helminthol., 25, 1-5, 2008

25) Asahi, H. *Plasmodium falciparum*: Chemically defined medium for continuous intraerythrocytic growth using lipids and recombinant albumin. Exp. Parasitol., 121, 22–28, 2009.

26) Izumiyama, S., Omura, M., Takasaki, T., Ohmae, H., Asahi, H. *Plasmodium falciparum*: Development and validation of a measure of intraerythrocytic growth using SYBR Green I in a flow cytometer. Exp. Parasitol., 121, 144–150, 2009.

27) Nakagawa, Y., Ueki, M., Fueda, K., Ishikawa, H., Ohmae, H. Risk assessment of re-emerging *Plasmodium falciparum* on Ishigaki Island using a stochastic transmission model. J. Trop. Med. Health, 2009 (in press)

28) Saito-Nakano, Y., Tanabe, K., Kamei K., Iwagami M., Komaki-Yasuda K., Kawazu S., Kano S., Ohmae H., Endo T. Genetic evidence for *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine and pyrimethamine in Indochina and the Western Pacific between 1984 and 1998. Am. J. Trop. Med. Hyg., 79, 613-619, 2008.

2. 和文発表

1) 津久井久美子, 野崎智義. 腸管寄生性原虫の小胞輸送ー病原機構における役割, 実験医学, 27, 1548-1556, 2009.

2) 野崎智義. アメーバ赤痢（赤痢アメーバ症）ズーノシスハンドブック 医療関係者・獣医療関係者のための診断・治療ガイド, Medical Science, 96-98, 2009.

3) 野崎智義　医師が念頭におくべき輸入感染症の世界分布, 今日の治療指針, 医学書院, 31-33, 2008.

4) 村上光一, 長野英俊, 野田多美枝, 濱崎光宏, 堀川和美, 石黒靖尚, 乙藤武志, 迎田惠之, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎. 浴場施設でのレジオネラ属菌と宿主アメーバの関連、およびレジオネラ属菌を塩素消毒により制御する

場合の問題点, 防菌防黴誌, 36, 749-756, 2008.

5) 烏谷竜哉, 黒木俊郎, 大谷勝美, 山口誠一, 佐々木美江, 齊藤志保子, 藤田雅弘, 杉山寛治, 中嶋　洋, 村上光一, 田栗利紹, 蔵元　強, 倉　文明, 八木田健司, 泉山信司, 前川純子, 山崎利雄, 縣　邦雄, 井上博雄. 掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染とリスク因子, 感染症学雑誌, 83, 36-44, 2009.

6) 村上光一, 長野英俊, 野田多美枝, 濱崎光宏, 堀川和美, 石黒靖尚, 乙藤武志, 迎田惠之, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎. 浴場施設でのレジオネラ属菌と宿主アメーバの関連, およびレジオネラ属菌を塩素消毒により制御する場合の問題点, 防菌防黴, 36, 749-756, 2008.

7) 八木田健司. 「11.2 病原ウイルス、11.3 原虫、11.4 病原性蠕虫」p247-279 頁翻訳 WHO 飲料水水質ガイドライン Guidelines for drinking-water quality　第 3 版（第 1 巻）, 日本水道協会, 2008.

8) 古屋宏二. エンセファリトゾーン症, 学校獣医師の活動と診療（中川美穂子監修）, ファームプレス, 213-215, 2008.

9) 大橋英二, 藤本智, 五十嵐慎, 古屋宏二. ウサギエンセファリトゾーン症の国内浸潤状況および血清診断の評価, VEC, 6, 44-48, 2008.

10) 安倍正史, 白倉哲郎, 中村文規, 木村　聡, 関　忠之, 仲村美佐子, 福富裕之, 朝日博子, 八木田健司, 塩川章. 病理解剖用遺体に認められた原虫について, Clin. Parasitol., 19, 49-54, 2008.

11) 杉山　広, 梅原梓里, 森嶋康之, 川中正憲, 山﨑　浩. 食用として販売されていたサワガニからの肺吸虫メタセルカリアの検出, 病原微生物検出情報, 29, 284-285, 2008.

12) 田尻智子, 堀川禎夫, 森嶋康之, 川中正憲, 山﨑　浩, 杉山　広. 喀痰から虫卵が検出され塩基配列から種同定した宮崎肺吸虫症の 1 例, Clin. Parasitol., 19, 86-88, 2008.

13) 杉山　広, 梅原梓里, 森嶋康之, 川中正憲, 山﨑　浩. 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, Clin. Parasitol., 19, 89-91, 2008.

14) 梅原梓里, 川上　泰, 荒木　潤, 内田明彦, 杉山　広. 同胞種レベルでみた日本産 *Anisakis simplex*：感染源の特定に向けた検討, Clin. Parasitol., 19, 114-117, 2008.

15) 梅原梓里, 川上　泰, 荒木　潤, 内田明彦, 杉山　広, 日本産 *Anisakis simples* の同胞種レベルでの分類学的解析, 獣医寄生虫学会誌, 7, 36, 2008.

16) 土井陸雄、川中正憲、森嶋康之、尾島英知、山崎　晋, 首都圏居住者にみられた多包虫症の一例, 肝臓, 49, 501-505, 2008.

17) 山﨑　浩, 杉山　広, 森嶋康之, 川中正憲, 姜　朱美, 住田　奈穂子, 福田　均, 南米ペルーで *Gnathostoma binucleatum* に感染した邦人の顎口虫症の1例, Clin. Parasitol., 19, 127-129, 2008.

18) 山﨑　浩, 杉山　広, 森嶋康之, 土井陸雄, 川井　夫規子, 郷間　薫, 吉田秀紀. 在日ペルー人の単包虫症の 1 例, Clin. Parasitol., 19, 140-142, 2008.

19) 韓　秀敏, 王　虎, 馬　霄, 蔡　慧霞, 川中正憲, 山﨑　浩, 余　森海. 中国青海省におけるエキノコックス症の疫学調査：超音波診断と抗体検査について, Clin. Parasitol.,19, 147-149, 2008.

20) 川中正憲. エキノコックス症―人獣共通感染症の今日的な問題と取り組み. JVPA DIGEST 創立 60 周年記念特集号, 31, 66-71, 2008.

21) 大前比呂思, 朝日博子, Orlando S Sy, 桐木雅史, 千草雄一. 肝胆道系酵素の測定は、住血吸虫症の診断に役立つのか, Clin. Parasitol., 19, 79-82, 2008.

22) 大前比呂思, 石川洋文. 気候変動と寄生虫症 資源環境対策, 44, 29-38, 2008.

23) 大前比呂思. マラリア, 化学療法の領域, 24, 69-75, 2008.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Sato, D., Yamagata, W., Karaki, T., Harada, S., and Nozaki, T. Kinetic characterizationof methionine gamma-lyase from *Entamoeba histolytica* against physiological substrates and trifluoromethionine. The 4th International Conference on Anaerobic Protists: The Systems Biology of Anaerobic Protozoa. May 12-16, 2008, Taipei, Taiwan.

2) Nakada-Tsukui, K. A FYVE and RhoGEF domain-containing protein involved in phagocytosis of a mammalian cell by *Entamoeba histolytica*. The 4th International Conference on Anaerobic Protists: The Systems Biology of Anaerobic Protozoa. May12-16, 2008, Taipei, Taiwan.

3) Husein, A., Jeelani, G., Bilal, A. S., Sato, D., Mi-ichi, F., Hishiki, T., Gilchrist, C. A., Suematsu, M., Petri, Jr., W. A., and Nozaki, T. Metabolomic and transcriptomic analysis of sulfur-containing amino acid metabolism in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Sep 7-11, 2008.

4) Sato, D., Yamagata, W., Karaki, T., Shimizu, A., Harada, S.,

and Nozaki, T. Characterization of methionine gamma-lyases from enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* as a potential drug target against amoebiasis". The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Sep 7-11, 2008.

5) Nozaki, T. Regulation of cysteine protease secretion and phagocytosis in *Entamoeba histolytica*. XVIIth International Congress for Tropical Medicine and Malaria (Invited talk in the symposium). Jeju, Korea, Sep 29-Oct 3, 2008.
6) Mi-ichi, F., Abu, Y. M., Nakada-Tsukui, K., Kawai, S., and Nozaki, T. The mitochondria-related organelle in the anaerobic parasitic protozoon *Entamoeba histolytica*. International Symposium on Protistology: Evolution and Diversity. Tsukuba, Japan, Nov 8-9, 2008
7) Mi-ichi, F., Abu, Y. M., Nakada-Tsukui, K., Kawai, S., and Nozaki, T. The mitochondria-related organelle in the anaerobic protist *Entamoeba histolytica*. International Symposium: Bacteria made ornangelles made eukaryotic cells. Tokyo, Japan, Nov 29-30, 2008.
8) Nozaki, T., Furukawa, A., Jeelani, G., Sato, D., Karaki, T., and Harada, S. Role of sulfur-containing amino acid metabolism: characterization of two isotypes of methionine gamma-lyase in *Entamoeba histolytica*. XVI Seminario Sobre Amibiasis and EMBO Workshop. Amoebiasis: Molecular Approaches in an Important but Neglected Disease. Guanajuato, Mexico. Feb 24-28, 2009.
9) Nakada-Tsukui, K., Furukawa, A., Yamada, Y., and Nozaki, T. Identification of a putative receptor of the major virulence factor cysteine protease in the enteric protist *Entamoeba histolytica*. XVI Seminario Sobre Amibiasis and EMBO Workshop. Amoebiasis: Molecular Approaches in an Important but Neglected Disease. Guanajuato, Mexico. Feb 24-28, 2009.
10) Picazarri, K., Furukawa, A., Sato, D., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Autophagy in *E. histolytica*. XVI Seminario Sobre Amibiasis and EMBO Workshop. Amoebiasis: Molecular Approaches in an Important but Neglected Disease. Guanajuato, Mexico. Feb 24-28, 2009.
11) Singh S.T., Khamo V., Sugiyama H. Cerebral paragonimiasis mimicking tuberculoma: first case report in India. Joint International Tropical Medicine Meeting 2008, Bangkok, Oct 13-14, 2008.
12) Rangsiruji A., Binchai S., Qian B.Z., Morishima Y., Sugiyama H. A new form of *Paragonimus* metacercariae isolated from freshwater crabs: possible discovery of *P. paishuihoensis* in Thailand, Joint International Tropical Medicine Meeting 2008, Bangkok, Oct 13-14, 2008.
13) Yamasaki H., Sugiyama H., Umehara A., Morishima Y., Kawanaka M., Kuramochi T. Recent advances in molecular diagnosis for parasitic helminthiases. Asian-Pacific Congress for Parasitic Zoonoses, Taipei, Aug 30-31, 2008.
14) Ohmae, H., Olveda, R., Socheat, D., Sudomo, M., Chigusa, Y., Matsuda, H. Recent situation and next steps of schistosomiasis control programs in Southeast Asia. The 27h International Conference of Tropical Medicine and Malaria, Cheju, Korea, Sep 30-Oct 3, 2008.
15) Socheat, D., Sinuon, M., Tsuyuoka, R., Odermatt, P., Ohmae, H., Matsuda, H., Antonio, MS., Palmer, K. A success story of Schistosomiasis integrated with deworming in Cambodia. The 27h International Conference of Tropical Medicine and Malaria, Cheju, Korea, Sep 30-Oct 3, 2008.
16) Ishikawa, H., Hisakane, N., Ohmae, H., Kirinoki, M., Chigusa, Y., Pangilinan, R., Redulla, A., Sinuon, M., Socheat, D., Matsuda, H. Modeling the dynamics and control of transmissions of *Schistosoma japonicum* and *S. mekongi* in Southeast Asia. The 27h International Conference of Tropical Medicine and Malaria, Cheju, Korea, Sep 30-Oct 3, 2008
17) Nakazawa, M., Ohmae, H., Kamei, K., Yamauchi, T., Frusawa, T., Kawabata, M., Utusmi, T., Bakote'e, B. Continuous urinalyses clarified that urine pH reflected the changes of dietry habits and that urobilinogen reflected *falciparum* malaria in Solomon Islands. The 27th International Congress of Tropical Medicine and Malaria. Cheju, Korea, Sep 30-Oct 3, 2008
18) Asahi, H. Chemically defined medium for continuous intraerythrocytic growth of *Plasmodium falciparum*. The 27th International Congress of Tropical Medicine and Malaria. Cheju, Korea , Sep 30-Oct 3, 2008
19) Saito-Nakano, Y., Okada, M., Gilchrist, CA., Crasta, O., Petri, WA., Fei, Z., Trapaidze, N., Nozaki, T. Role of Arf GTPase for pathogenesis and lysosomal formation in *Entamoeba histolytica*. 43rd Annual U.S.-Japan Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, Jan 7-8, 2009.

2. 国内学会

1) 見市文香, Yousuf Mohammad Abu, 中田-津久井久美子, 野崎智義. 赤痢アメーバ原虫マイトソームの生化学的解析, 第 77 回日本寄生虫学会大会, 長崎, 2008 年 4 月 3-4 日.
2) 津久井久美子, 山田陽子, 古川敦, 野崎智義. 赤痢アメ

ーバ新規システインプロテアーゼ受容体候補分子の同定, 第 77 回日本寄生虫学会大会, 長崎, 2008 年 4 月 3-4 日.

3) 佐藤暖, 唐木剛, 清水顕, 原田繁春, 野崎智義. 赤痢アメーバ原虫含硫アミノ酸分解酵素メチオニンガンマリアーゼの結晶構造解析, 第 77 回日本寄生虫学会大会, 長崎, 2008 年 4 月 3-4 日.

4) 仲本賢太郎, 所正治, 田中身和, 野崎智義. 赤痢アメーバのメチオニンアデノシルトランスフェラーゼの解析:細胞周期にともなう酵素発現調節の経時解析, 第 77 回日本寄生虫学会大会, 長崎, 2008 年 4 月 3-4 日.

5) 荒井朋子, 木俣勲, 北出幸夫, 野崎智義, 田中身和, 山口智博, 井関基弘, 所正治. アデノシンアナログ:クリプトスポリジウム症治療薬開発のための, 第 77 回日本寄生虫学会大会, 長崎, 2008 年 4 月 3-4 日.

6) 清水 顕, 唐木 剛, 佐藤 暖, 亀井加恵子, 野崎智義, 原田繁春. 赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* 由来メチオニン γ-リアーゼの X 線結晶構造解析, 第 8 回日本蛋白質科学会年会, 東京, 2008 年 6 月 10 日-12 日.

7) 佐藤 暖, 山形 渉, 唐木 剛, 原田繁春, 野崎智義. 腸管寄生性アメーバ原虫のメチオニン γ-リアーゼと薬剤リード化合物の反応機構の解明, 日本ビタミン学会第 60 回大会, 仙台, 2008 年 6 月 13-14 日.

8) Nakada-Tsukui, K. and Nozaki, T. A FYVE domain and RhoGEF domain-containing protein involved in phagocytosis of a mammalian cell by *Entamoeba histolytica*, 第 60 回細胞生物学会大会, 横浜, 2008 年 6 月 29 日-7 月 1 日.

9) 中野由美子, 中野賢太郎, 野崎智義. 原虫におけるメンブレントラフィックの多様性, 第 10 回日本進化学会大会, 東京, 2008 年 8 月 22-24 日.

10) 見市 文香, 野崎智義 赤痢アメーバ原虫のミトコンドリア残存オルガネラ mitosome の特殊性～その機能と役割～第 10 回日本進化学会大会, 2008 年 8 月 22-24 日, 東京

11) 佐藤暖, Afzal Husain, 曽我朋義, 末松誠, 野崎智義. 寄生性原虫の含硫アミノ酸代謝の重要性ーメタボローム解析からのアプローチ, 第 3 回メタボロームシンポジウムーメタボロミクスが解き明かす生命のシステムー, 2008 年 10 月 30 日-11 月 1 日.

12) 佐藤 暖, 唐木 剛, 原田繁春, 柴田哲男, 融 健, 野崎智義. 含硫アミノ酸 分解酵素・メチオニン γ-リアーゼを標的とした新規抗赤痢アメーバ薬の開発, BMB2008（第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会）, 神戸, 2008 年 12 月 9-13 日.

13) 唐木剛, 清水顕, 佐藤暖, 亀井加恵子, 原田繁春, 野崎智義. 硫黄含有アミノ酸生合成・分解経路を標的とする抗赤痢アメーバ薬の開発−メチオニン γリ アーゼの立体構造と阻害剤の結合様式−, 第 7 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, 松山, 2008 年 10 月 10-11 日.

14) 見市文香, モハンマド アブ ユースフ, 津久井久美子, 川合覚, 野崎智義. ミトコンドリア関連オルガネラの新規機能ー赤痢アメーバ原虫マイトソームに存在する活性硫酸合成経路ー, 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

15) 古川敦, 津久井久美子, 山田陽子, 野崎智義. 赤痢アメーバシステインプロテアーゼ結合タンパク質の機能解析, 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

16) 津久井久美子, Picazarri Delgado Karina, 古川敦, 野崎智義. *Entamoeba* 属シスト化におけるオートファジーの関与, 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

17) 八木田健司, 泉山信司, 浅野由紀子. 発生動向調査において原因不明の感染性胃腸炎とされた検体からのクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出, 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2008 年 4 月 3-4 日.

18) 八木田健司, 泉山信司, 国内外におけるクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症の発生動向の現状と比較, 第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 浜松, 2008 年 10 月 5 日.

19) 安倍正史, 小林正規, 白倉哲郎, 中村文規, 福富裕之, 朝日博子, 八木田健司, 木村聡, 関忠幸, 中村美佐子, 塩川章. 病理解剖用遺体に認められた原虫について, 第 19 回日本臨床寄生虫学会, 京都, 2008 年 6 月 7 日.

20) 百田 隆祥, 小島 禎, 池戸 正成, 泉山 信司, 遠藤 卓郎. LAMP 法（Loop-mediated Isothermal Amplification）を用いたクリプトスポリジウムおよびジアルジアの高感度迅速検出, 第 43 回日本水環境学会年会, 山口市, 2009 年 3 月.

21) 泉山信司, 大内一敏, 遠藤卓郎, 粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮保存法の開発, 第 59 回全国水道研究発表会, 仙台市, 2008 年 5 月.

22) 泉山信司, 遠藤卓郎, 酸溶解性ケーキろ過によるクリプト

スポリジウム濃縮法の開発, 第 8 回環境技術学会研究発表大会, 大阪, 2008 年 9 月.

23) 遠藤卓郎, 泉山信司, 倉 文明, クロラミン B によるレジオネラ属菌と *Naegleria* 属アメーバの消毒, 第 8 回環境技術学会研究発表大会, 大阪, 2008 年 9 月.

24) 泉山信司, 倉 文明, 縣 邦雄, 八木田健司, 遠藤卓郎. クロラミン B による *Naegleria* アメーバの消毒, 第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 浜松, 2008 年 10 月 5 日.

25) Sugiyama H., Morishima Y., Binchai S., Rangsiruji A. Two forms of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand: morphological characteristics, host susceptibility and phylogenetic analysis (タイで見出したウェステルマン肺吸虫の 2 型), 第 77 回日本寄生虫学会大会, 長崎, 2008 年 4 月 3-4 日.

26) 田尻智子, 堀川禎夫, 森嶋康之, 川中正憲, 山﨑 浩, 杉山 広. 喀痰から虫卵が検出され塩基配列から種同定した宮崎肺吸虫症の 1 例, 第 19 回日本臨床寄生虫学会大会, 京都, 2008 年 6 月 7 日.

27) 杉山 広, 梅原梓里, 森嶋康之, 川中正憲, 山﨑 浩. 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, 第 19 回日本臨床寄生虫学会大会, 京都, 2008 年 6 月 7 日.

28) 梅原梓里, 川上 泰, 荒木 潤, 内田明彦, 杉山 広. 同胞種レベルでみた日本産 *Anisakis simplex*:感染源の特定に向けた検討, 第 19 回日本臨床寄生虫学会大会, 京都, 2008 年 6 月 7 日.

29) 杉山 広. アニサキス症をはじめとする食品媒介寄生蠕虫症について, 平成 20 年度希少感染症診断技術研修会, 東京, 2009 年 2 月.

30) 森嶋康之, 杉山 広, 呉 献洪, 王 虎, 余 森海, 山﨑 浩, 川中正憲. マルチプレックス PCR 法による中国産包条虫属条虫 3 種の鑑別, 第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 浜松, 2008 年 10 月 5 日.

31) 梅原梓里, 杉山 広, 森嶋康之, 山﨑 浩, 荒木 潤, 川上 泰, 黄 鴻堅, 内田明彦. 台湾でタチウオから検出されたアニサキス幼虫の分子同定, 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

32) 木村明生, 森嶋康之, 杉山 広, 川中正憲, 山﨑 浩. 大阪府内で捕獲された放浪犬における腸管寄生蠕虫類保有状況, 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

33) 杉山 広, ラングジルジ・アチャリア, ビンチャイ・スーチーワン, 森嶋康之, 銭 宝珍. タイで淡水産のカニからメタセルカリアが検出された中国原記載の肺吸虫 *Paragonimus paishuihoensis* Tsao and Chung, 1965. 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

34) 山﨑 浩, 三澤由美子, 中尾 稔, 倉持利明. DNA 解析に基づいた大複殖門条虫と鯨複殖門条虫の分子系統解析, 第 77 回日本寄生虫学会大会, 長崎, 2008 年 3 月 27-28 日.

35) 山﨑 浩, 杉山 広, 森嶋康之, 姜 朱美, 住田菜穂子, 福田 均. 南米ペルーで *Gnathostoma binucleatum* に感染した邦人の顎口虫症の 1 例, 第 19 回日本臨床寄生虫学会, 京都, 2008 年 6 月 7 日.

36) 山﨑 浩, 杉山 広, 森嶋康之, 川中正憲, 土井陸雄, 川井不規子, 郷間 薫, 吉田秀紀. 在日ペルー人の単包虫症の 1 例, 第 19 回日本臨床寄生虫学会, 京都, 2008 年 6 月 7 日.

37) 韓 秀敏, 王 虎, 馬 霄, 蔡 慧霞, 川中正憲, 山﨑 浩, 余 森海. 中国青海省におけるエキノコックス症の疫学調査. 超音波診断と抗体検査について, 第 19 回日本臨床寄生虫学会, 京都, 2008 年 6 月.

38) 山﨑 浩, 倉持利明. DNA 解析に基づいたヒトから得られる複殖門条虫と鯨複殖門条虫の分類学的関係, 第 2 回蠕虫研究会, 宮崎, 2008 年 11 月 7-8 日.

39) 中野由美子. ファゴサイトーシス能を有する原虫はメンブレントラフィックが多様であるか？(Does protozoa possessing phagocytic capacity have a variety of membrane traffic pathways?), 長崎, 第 77 回日本寄生虫学会大会 2008 年 4 月 3-4 日.

40) 朝日博子, 大前比呂思, Orland S. Sy, 鈴木玲子, 田邊将信, 松田 肇, 山下隆夫, 鹿島準子, 太田伸生. 日本住血吸虫感染者の尿中に認められる特異抗体の検出, 第77 回日本寄生虫学会大会, 長崎, 2008 年 4 月 2-4 日.

41) 中野由美子, 中野賢太郎, 野崎智義. 原虫におけるメンブレントラフィックの多様性, 第 10 回日本進化学会 ワークショップ, 東京, 2008 年 8 月 22-24 日.

42) 大前比呂思, 松田 肇, 千種雄一, 桐木雅史, 朝日博子, Sinuon, M., Doung Sochea, D. 東南アジアにおける住血吸虫症の広がりと気候変化について, 第 68 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 浜松, 2008 年 10 月 5 日.

43) 大前比呂思, 中澤港, 亀井喜世子, Bakote'e Bernard. ソロモン諸島において, なぜマラリア感染状況が改善したの

か, 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

44) Asahi, H. Chemically defined medium for continuous intraerythrocytic growth of *Plasmodium falciparum*, 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

45) Kwansa-Bentum, B., 北村 圭, 熊谷 貴, 下河原理恵子, 朝日博子, Wilson, MD. 太田伸生: Preliminary studies on molecular epidemiology of chloroquine resistant malaria parasites in Ghana. 第 78 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2009 年 3 月 27-28 日.

７． 感染病理部

部長　佐多徹太郎

概　要

１.人事等

平成１９年度末で定員削減となった結果、感染病理部の職員定数は１４となった。平成２０年度には小島朝人は原嶋綾子とともに引き続き時間給再任用職員として部の業務等に貢献した。感染病理部職員の内訳は、部長 1 名、室長 3 名、主任研究官 7 名、研究官 3 名である。戸山庁舎に 10 名、村山庁舎に 4 名の職員と再任用職員各 1 名が在籍している。下ノ原望は平成 20 年 4 月 1 日付けで非常勤職員に採用となり、プリオン行政検査等を手伝ってもらった。また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た。松石みゆきは年度末に退職した。

２.感染病理部の研究業務

感染病理部で行われた研究・業務の概要は次のとおりである。

Ⅰ. 感染病理に関する研究
　１. ヒト病理検体におけるウイルス感染症に関する研究
　２. ウイルス感染症の診断に関する研究
　３. 鳥インフルエンザウイルス（H5N1）感染症の病理学的解析
　４. 感染症研究の国際共同研究.
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
　２. ATL (HTLV-1)に関する研究
　３. SARS コロナウイルスに関する研究
　４. フラビウイルス感染組織の免疫組織化学法
　５. 狂犬病に関する研究
　６. HIV/SIV に関する研究
　７. メルケル細胞ポリオーマウイルスに関する研究
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. 急性重症肺炎モデルを用いた感染予防に関する病理学的研究
　４. 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
　５. JEV のウイルス様粒子(VLP)ワクチンの開発
　６. ワクチン開発における BVDV 混入 FBS の検討
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 および SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用
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

国内外の医療施設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。2008 年度人体由来の検体数は 148 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 3 例、ヒトヘルペス I 型ウイルス、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 1960 年代の野兎病症例でも免疫組織化学で検索することが出来た。（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

（１）定量的 PCR による網羅的ウイルス検出法の開発と応用

定量的PCRを用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、臨床病理検体におけるウイルスの検出を行った。全国各施設から寄せられた原因不明脳炎、肺炎、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変などの11サンプルにつき、本検出系を応用した。1例の脳炎症例でパレコウイルス3を検出するなどの結果を得たが、有意なウイルスが検出されない症例がほとんどであった。今後症例を積み上げ、本検出系の有効性を確認するとともに、不明疾患の原因究明に有用なツールとして活用していく。(片野晴隆、菅野隆行、中村智之［研究生］、佐多徹太郎)

３．鳥インフルエンザウイルス（H5N1）感染症の病理学的解析

ベトナムハノイ国立小児病院（NHP）との共同研究により、H5N1感染症の剖検組織について病理学的に解析している。今年度は2007-2008年に死亡した2例のホルマリン固定パラフィン包埋肺、肝臓、心臓、腎臓、腸管、脾臓、膵臓組織について解析した。肺の病理組織像はびまん性肺障害（DAD）の滲出期（exudative stage）あるいは増殖期(proliferative stage)を呈しており、ARDSの臨床所見と矛盾しなかった。硝子膜の形成、間質の浮腫と細胞浸潤、II型肺胞上皮の過形成および出血が認められた。細胞マーカー抗原との蛍光二重染色法、共焦点レーザー顕微鏡による解析によって、インフルエンザ抗原陽性細胞は主にII型肺胞上皮細胞およびマクロファージであることがわかった。またISH-AT法によりウイルスmRNAがEMA陽性上皮細胞に検出され、ゲノムRNAがNP抗原と共局在することが確認された。(中島典子、佐藤由子、下ノ原望、佐多徹太郎)

４．感染症の国際共同研究

（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

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、感染病理学的特徴を検討した。今年度は、120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、その特徴を解析した。結果は、6型に属すバリアントは70%にも及んだ。今年度は、6型に属するが遺伝的に新たな集簇を示す変異株の分離に成功し、6tと命名した。更に、このゲノタイプ6tに属すHCVベトナム株の全長シークエンスを得た。得られた新型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

ベトナムにおけるエマージング感染症を含む各種感染症および肝疾患の特徴解明を目的に、国際共同研究を継続的に実施した。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た。(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］、Ngo Quoc Dat ［ホーチミン医科薬科大学医学部病理：ベトナム］、Nguyen Duy Phong［国立熱帯病病院消化器科：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］)

（３）タイにおける各種感染症に関する研究

タイにおけるエマージング感染症を含む各種感染症の特徴解明を目的に、国際共同研究を継続して実施した。(阿部賢治、Yong Poovorawan ［チュラロンコン大学臨床ウイルス研究センター、小児科：タイ］)

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）大腸菌内ウイルスゲノム改変系を利用したHSVウイルス制御因子の解析

我々は、HSVを基礎研究のみでなく、近年注目されている遺伝子治療ベクターとしてもより扱いやすくするべく、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。更に、この組換え系と単独発現系を組み合わせることでMASS解析等も利用し、宿主側からの関連因子の解析も行っている。(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）HHV-8 再活性化とサイトカインの関連について

HHV-8 の生態にはサイトカインが深く関与している。一方、カポジ肉腫などの HHV-8 関連疾患にはウイルス再活性化が重要な役割を果たしている。前初期遺伝子 RTA が高発現し de novo の再活性化機構が増強していると考えられる細胞株 TY-1 RTA high と RTA の発現が少なく再活性化が減弱している TY-1 RTA low を RT-PCR array により比較し、発現量が異なるサイトカインについて再活性化を誘導あるいは抑制するかどうか検討した。添加実験を行った結果、再活性化への影響は限定的であった。再活性化によりサイトカイン発現が大きく影響を受けていることが示唆された。(菅野隆行、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎)

２.ATL (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

成人 T 細胞白血病リンパ腫(ATLL)は HTLV-1 の感染により引き起こされる T 細胞性の腫瘍である。我々は近年 HTLV-1 tax 遺伝子を lck proximal promoter 制御下に発現させるトランスジェニックマウスを作製する事により ATLL のモデルマウスを作製する事に成功した。本マウスは T 細胞性白血病及び ATLL に類似し diffuse large cell lymphoma を発症し腫瘍細胞は多臓器において血管周囲性に浸潤像を示す。我々はこのモデルにおいて腫瘍細胞浸潤に関わると考えられるケモカインとその受容体の機能を解析した。細胞走化アッセイにおいてこのマウスリンパ腫細胞は SDF-1α に対し強い走化を示し過剰に反応する事がわかった。また SDF-1α の刺激により ERK1/2 の著明なリン酸化が観察された。MEK 特異的阻害剤により ERK1/2 のリン酸化及び SDF-1α に対する走化性が消失した。また走化性は NF-kB 阻害剤によっても阻止された。これら MEK 阻害剤や NF-kB 阻害剤はマウスリンパ腫細胞のアポトーシスを誘導した。これらの阻害剤は ATLL の新しい治療薬としての可能性が示された。(長谷川秀樹、川口 晶 ［北海道大学］、澤 洋文［北海道大学］、辻 隆裕、佐多徹太郎)

（２）ATL マウスモデルを用いた NF-kappaB 阻害薬による新規治療法の開発

我々が作成した HTLV-1 の Tax トランスジェニックマウスでは、生後 10 から 23 ヶ月後にヒト ATL に類似した T 細胞性のリンパ腫・白血病の発症が認められる。本マウスの白血病でもヒト ATL と同様の NFkB の恒常的活性化がみられることから、NFkB の上流で IKKb を阻害する NFkB 阻害剤：Bay65-1942（BAY）を用いた治療法の基礎的検討を行った。BAY を培養液中に添加することで、マウス ATL 細胞に対してアポトーシスを誘導し、DNA の断片化を引き起こすことが in vitro で確認された。次に NOD-SCID マウス腹腔内にマウス ATL 細胞を移植後、in vivo での薬剤の効果を検討した。投与群では全身組織への腫瘍細胞の浸潤の程度が低く抑えられていることが病理組織学的に確認されたほか、最大で 1.3 倍の延命効果が認められた。以上の結果から BAY による NFkB 経路を標的とした治療法は、ATL の新規治療法の開発につながるものと考えられる。(辻 隆裕、神戸光彦［研究生］、相内 章、岡本 尚［名古屋市立大学］、佐多徹太郎、長谷川秀樹)

３. SARS コロナウイルスに関する研究

（１）マウス継代 SARS-CoV を用いた SARS 発症動物モデルの作製

マウスに馴化した重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス(SARS-CoV)を半年齢動物に感染させると SARS を発症する。このモデルに IFN-γを腹腔内に投与し経過観察を行った結果、感染 3 日以降、明らかに症状と体重減少は改善し、全頭が生残した。IFN-γ投与群と対照群では感染 3 日目の血管透過性と血漿中の IL-10 量に差が見られたが、気道中のウイルス量に差はなかった。半年齢マウスを用いた SARS-CoV 感染動物モデルにおいて感染後の SARS 発症が IFN-γ腹腔内投与により阻止されることが明らかとなった。(永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎、福士秀悦［ウイルス第一部］、西條政幸［ウイルス第一部］、森川 茂［ウイルス第一部］)

（２）ヒトアンギオテンシン２(hACE2)トランスジェニック(Tg)マウスを用いた SARS-CoV の病態に関する研究

SARS-CoV のレセプターである hACE2 を全身に発現させた Tg マウスは hACE2 の発現量の違いにより SARS-CoV に対する感受性が異なる。今回、hACE2 の高発現系で SARS-CoV 感染に対して致死性を示す AC70 と hACE2 が低発現で SARS-CoV 感染に耐性を示す AC22 の 2 系統の hACE2 Tg マウスで、SARS-CoV 感染後の病態を比較した。両系統とも肺と脳でウイルスは増殖したが、AC70 では特に脳でのウイルス量が AC22 より高かった。AC22 では脳に炎症細胞の浸潤が見られたのに対し AC70 ではほとんど見られず、また AC70 では T 細胞数

が AC22 と比較して顕著に減少していた。AC70 は AC22 よりも免疫抑制が見られ、AC70 が SARS-CoV 感染に致死的であるのは immunopathogenesis が関与していることが推測された。(岩田奈織子、Yoshikawa T. ［University of Texas Medical Branch;UTMB］、Hill T. ［UTMB］、Huang C. ［UTMB］、Watts DM. ［UTMB］、Makino S. ［UTMB］、Milligan G. ［UTMB］、Chan T. ［UTMB］、Tseng CTK ［UTMB］、Peters CJ. ［UTMB］)

４．フラビウイルス感染組織の免疫組織化学法

フラビウイルス感染症のうち、当部で使用している日本脳炎、ウエストナイル熱・脳炎、および分与されたダニ媒介性脳炎の病理組織学的診断に使用する抗体の検討を行った。北海道大学より分与された抗ダニ媒介性脳炎ウイルス抗体はパラフィン切片を用いた免疫組織化学染色に有用であった。また、ダニ媒介性脳炎ウイルス感染マウスを用いて陽性対照切片を準備し、そのウイルス動態について免疫組織化学的に明らかにした。（永田典代、原嶋綾子、佐藤由子、長谷川秀樹、早坂大輔［東京都神経科学総合研究所］）

５．狂犬病に関する研究

本邦で36年ぶりに発生した輸入狂犬病2症例に関し免疫組織学的方法を用いて、ヒト生体内での狂犬病ウイルスの分布について検討を行った。その結果、ほぼすべての組織の神経組織中に狂犬病ウイルス抗原が認められた。脳組織の電子顕微鏡を用いた観察では、ウイルス粒子はネグリ小体と考えられる部位に存在しており、細胞膜付近での存在および放出像は観察出来なかった。免疫染色においても狂犬病ウイルス抗原は細胞質内でドット状の局在を示した。このドット状のウイルス抗原の局在は、患者由来ウイルス遺伝子を増幅し in vitro での検討を行った結果、N蛋白質により制御されていることが明らかとなった。また、このウイルス抗原のドット状の分布を誘導するN抗原の機能は街上毒ウイルス特異な機能であり、ワクチンとして知られる固定毒のN抗原では誘導されなかった。このことは、N抗原の機能が街上毒ウイルス特異な病原性に関与することを示唆する。現在、ドット状の抗原分布を誘導するN抗原の責任領域および相互作用する生体側因子の探索を行っている。（中島典子、飛梅 実、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎）

６. HIV/SIV に関する研究

（１）in vitro 培養系での SIV 脳症の病態解析

HIV 脳症の動物モデルである SIV 脳症を in vitro 培養系で解析するためにサル胎仔脳より神経・グリア細胞培養系、ミクログリア培養系および混合培養系を確立した。それぞれの培養系で SIV/17E-Fr、SIVmac239/316E の感染性を解析した結果、神経･グリア培養系では SIV/17E-Fr の増殖効率が高く、この要因はエントリー以降にあることがわかった。グリア細胞のウイルス生産量は制限されているが、核に組み込まれて持続感染し、ミクログリア細胞へのウイルス供給源となることがわかった。混合培養系上清中のケモカイン、サイトカイン量は SIVp27 抗原量に関連して上昇するが、分泌量は必ずしも相関せず、SIVmac239/316E と比較して SIV/17E-Fr を感染させた場合の方が多かった。SIV 感染により p53 蛋白が感染細胞の核に検出されることが免疫組織化学で、リン酸化 ERK の発現量が感染細胞中で多いことがウエスタンブロッテイン法で確認された。これらの機序は不明であるが、リン酸化 ERK が介在するアポトーシスとプレアポトーシス蛋白としての p53 蛋白が SIV の脳神経障害の病態に関連していることが示唆された。（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、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、酸化によって生じる結合を含め調べることを目的とした。膜成分をディタージェントにより除いた成熟したコアには、プロセスされた p17 または p24 蛋白がほとんど含まれていないことが判明した。プロセシングが開始される前に p17、p24 のシスチン残基に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などから、成熟コアは Gag 多量体の収縮により形成されており、プロセスされた p17, p24 は膜と成熟コアの間に存在していると推測した。一方、env 蛋白は成熟の前後でコアとの結合を保っており、HIV-1 ワクチン開発のためにウイルス粒子抗原を準備する上で有用な情報であると考えた。（高橋秀宗、田中恵子、飛梅 実）

（３）ウイルス放出抑制因子 BST-2/tetherin とその機能を阻害する HIV-1 Vpu 蛋白の相互作用

HIV-1 Vpu 蛋白はウイルス粒子の放出を促すが、その機能は細胞種依存的でメカニズムは不明である。我々が microarray 解析及び候補蛋白の機能解析により Vpu と相互作用する宿主因子を検索した結果、膜蛋白 BST-2 が同定された。BST-2 発現により Vpu 変異ウイルス粒子の放出量は低下、Vpu の共発現で回復した。一方、BST-2 をノックダウンした HeLa 細胞では、Vpu 非存在下で Vpu 発現時のレベルに達した。以上より、BST-2 がウイルス

放出抑制宿主因子であり、Vpu がその機能阻害因子であることが確認できた。また Vpu により BST-2 の細胞表面及び細胞内の発現量が共に低下したことから、BST-2 は Vpu により down-regulation を受け、細胞内で分解される可能性が推察された。免疫沈降法により BST-2 と Vpu が実際に相互作用していることが明らかになった。(岩部幸枝[流動研究員]、田中恵子、石坂幸人[国立国際医療セ]、佐多徹太郎、徳永研三)

（４）HIV-1 サブタイプ C 由来 Vif 蛋白の機能解析

抗レトロウイルス宿主因子 APOBEC3G（A3G）に対する HIV-1 Vif 蛋白の抑制活性はサブタイプ C 由来 Vif（C-Vif）で特に顕著であったこと、また C-Vif の高活性規定領域が N 末領域であることをこれまでに明らかにした。本年度はまず N 末領域で規定される C-Vif 蛋白の A3G に対する翻訳阻害効果及び Vif 自身のポリユビキチン化活性をサブタイプ B 由来 Vif（B-Vif）と比較検討したが、Vif 蛋白間で差異は認められなかった。次に A3G、及び A3G のプロテアソーム分解に関わる宿主因子 Cullin5、または ElonginC との相互作用について解析した結果、C-Vif は A3G との結合活性においてのみ、B-Vif より強い活性を示し、更に C-Vif の N 末領域がその高活性を規定していた。このことから C-Vif の強い抗 A3G 活性は A3G との強い結合能に依ることが明らかになった。（岩部幸枝［流動研究員］、藤田英明［九大院・薬・細胞生物］、木ノ本正信［流動研究員］、巽 正志［エイズ研究セ］ 、Juan Fernando Arias［阪大微研］、志村まり［国立国際医療セ］、石坂幸人［国立国際医療セ］ 生田和良［阪大微研］、佐多徹太郎、徳永研三）

（５）HIV-1 Vpr による姉妹染色分体の早期分離異常

HIV-1 感染者リンパ球で姉妹染色分体の早期分離(PCS)が多発することをこれまでに報告したが、今回、PCS は HIV-1 Vpr 依存的に起きること、また Vpr 発現細胞ではクロマチンからヘテロクロマチン蛋白質（HP-1α, γ）の解離、またセントロメアコヒーシンや動原体の局在及び機能阻害が認められることを明らかにした。以上より Vpr は PCS および染色体の不均等分配を誘導し、HIV-1 感染細胞の悪性腫瘍化に寄与する可能性が考えられた。（志村まり［国立国際医療セ］、豊田雄介［京大・院・生命科学］、木ノ本正信［流動研究員］、徳永研三、依田欣哉［名大・生物機能開発セ］、柳田充弘［京大・院・生命科学］、佐多徹太郎、石坂幸人［国立国際医療セ］）

７．メルケル細胞ポリオーマウイルスに関する研究

（１）メルケル細胞癌におけるメルケル細胞ポリオーマウイルスの検出

2008 年 2 月、米国において発見された Merkel cell polyomavirus (MCV)はメルケル細胞癌の 8 割に検出され、新しいヒト発癌ウイルスである可能性が示唆されている。日本における本ウイルスの調査を行ったところ、メルケル細胞癌 9 例中 4 例(44%)に MCV が検出された。MCV 陽性例と陰性例では組織学的な差異が認められ、異なる病因が示唆された。メルケル細胞癌以外では、カポジ肉腫 49 例中 3 例(6.1%)に MCV が検出されたが、免疫不全症を含む他の疾患の DNA サンプル 192 例には MCV は検出されなかった。これらの検索結果から、MCV は日本ではまれなウイルスであることが予想される。(片野晴隆、伊東秀記［東京慈恵会医科大学皮膚科］、鈴木良夫［国保旭中央病院臨床病理科］、中村智之［研究生］、佐藤由子、辻 隆裕、松尾光馬［東京慈恵会医科大学皮膚科］、中川秀巳［東京慈恵会医科大学皮膚科］、佐多徹太郎)

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

インフルエンザのワクチンによる感染防御には感染の門戸である粘膜における粘膜免疫による感染防御が有利である。我々は変異ウイルスに対しても効果的なワクチン方法として粘膜免疫を誘導する粘膜投与型の経鼻ワクチンの研究をマウスモデルを用いて行ってきた。更にヒトに近い免疫機能を持つカニクイザルを用い高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)の経鼻ワクチンの感染防御効果を調べた。ワクチンとしてホルマリン不活化全粒子 H5N1 ワクチン（NIBRG14）粘膜アジュバントには合成二重鎖 RNA、Ampligen ®(polyI:polyC$_{12}$U)を用いた。H5N1 ワクチンのアジュバント併用経鼻ワクチン群では全てのカニクイザルで血中の特異的な IgG 抗体及び唾液中の IgA 抗体が誘導された。非免疫群は致死的ではなかったが感染後鼻腔及び咽頭スワブ中にウイルスを認めたがワクチン群では認められなかった。また解剖時、非免疫群では全てのカニクイザルで散発性の肺炎像が認められたが、ワクチン群においては肺炎像は認められなかった。ヒトに近い免疫機能を持つカニクイザルにおいて高病原性鳥インフルエンザワクチン(H5N1)のアジュバント併用経鼻接種で感染防御に有効な粘膜免疫誘導できた事は非常に意義深い。粘膜免疫の変異株に対する交叉防御の優位性を考えると新型インフルエンザ出現に備えたワクチンとして粘膜投与型ワクチンの効果がヒトでも期待できる。（長谷川秀樹、一戸猛志 ［研究生］、相内 章

（協力研究員）、永田典代、岩田奈緒子、川口 晶（研究生）、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

前年度に持続発現細胞を樹立したウエストナイルウイルス(WNV)のウイルス様粒子(VLP)抗原について、抗原性状解析とマウスへの免疫実験を行った。ショ糖平衡密度勾配遠心法では VLP 粒子形態がつぶれる現象が観察されたため、カラム精製法の検討を行い、ゲルろ過カラムにより粒子形態を保った状態で夾雑タンパク質を効率よく除去できることを明らかにした。さらにこの VLP 抗原をマウスに免疫し、WNV 中和抗体および WNV 感染に対する防御免疫を誘導することを確認した。VLP 抗原は新規サブユニットワクチン候補として有望であると思われる。（大滝尚広［HS 財団 RR］、高橋秀宗、田中恵子、小島朝人、佐多徹太郎）

３．急性重症肺炎モデルを用いた感染予防に関する病理学的研究

SARS-CoV 感染後の急性重症肺炎発症モデルを用いて、感染予防に関する病理学的研究を行った。マウス馴化株によって半年齢の BALB/c は下気道におけるウイルス増殖とそれに伴うび慢性肺胞傷害、強い肺水腫を発症し致死的となった。一方、ヒト分離株の経鼻感染では臨床症状を示さず、耐過した。そこで、ヒト分離株接種 21 日後にマウス馴化株を再感染したところ、重症肺炎の発症は阻止され、組織学的には細気管支周囲にリンパ装置の形成が認められた。本実験系は弱毒株による経鼻免疫後の強毒株攻撃接種を模倣しており、免疫によって重症肺炎の発症が阻止されることを示している。（永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐多徹太郎）

４．種痘後の副反応評価動物モデルの構築のための病理学的研究

乾燥細胞培養痘そうワクチン LC16m8 の安全性リスク評価の一環として、本来は接種禁忌または要注意対象である湿疹またはアトピー性皮膚炎患者およびその既往歴者に対する安全性リスク評価を想定した種痘性湿疹リスク評価動物モデルの構築を試みている。その病理学的解析のための基礎検討として、これまで我々が実施したポックスウイルス感染実験後の動物の皮膚病変を病理学的に再検討した。今年度は SCID マウスに LC16m8 を腹腔内接種し発痘のみられた個体の皮膚病変を観察した。その結果、接種４週間目の発痘部において封入体形成はみられず、ポックスウイルス抗原は陰性であった。これまでの poxvirus 感染動物の病理解析結果から、封入体を含む細胞、ウイルス抗原の検出時期は限定されていると考えられた。（永田典代、佐多徹太郎)

５. JEV のウイルス様粒子(VLP)ワクチンの開発

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、昨年度 JEV の prM-E cDNA を導入した JEV E 抗原持続産生 CHO-J12 細胞株を樹立した。本細胞株は調査した少なくとも継代 20 代まで選択薬剤添加培地で良好な細胞増殖能を示し、25 μg/ml 以上の E 抗原を安定に分泌し、E 抗原発現陽性率は 100%を維持していた。分泌された培地中の E 抗原は JEV 中和エピトープを保持し、蔗糖密度勾配遠心法で単一ピークを形成し、電子顕微鏡観察で球形粒子構造を示し、粒子は E 及び prM 蛋白から構成されていた。JEV ゲノムなし・感染性なしの VLP ワクチン開発に大きく前進したものと思われる。（小島朝人［再任用職員］、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）

６．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 検出法を検討してきた。昨年度樹立した簡便なリアルタイム PCR 法で FBS 中の BVDV 迷入を調査したところ、従来法の nested RT-PCR で得られた結果と一致した。また、BVDV 感染感受性の MDBK-SY 分与細胞株或いは MDBK、Vero 細胞株を BVDV-RNA 陽性 FBS 存在下で継代しても、細胞の BVDV 陽性化は何れの検出法でも認められなかった。（勇　史行［協力研究員］、小島朝人［再任用職員］、佐多徹太郎）

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 (Immuno-AT 法)を改良した。AT 化抗体は、iminothiolane-HCl で還元した IgG に、slufo-SMCC でマレイミド化した 15 塩基の合成 Oligo(dA-dT)を結合させ HPLC 精製して調整した。本法では、抗原と結合した抗体の AT 部分に Biotin 標識 dUTP を取り込ませることで標的抗原を Biotin で標識する。AT 部分の伸長反応には、ΔTth DNA polymerase を 52 度で反応させた。AT 化 1 次抗体を用いる直接法、AT 化 2 次抗体を用いる間接法を試

行した。2003 年～2006 年に本邦で発症した BSE 症例の脳切片上にプリオン蛋白を Immuno-AT 直接法及び間接法で検出した。Envision 法(DAKO）と比べ直接法、間接法共に検出感度が増加した。(中島典子、佐藤由子、下ノ原望、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。CAG プロモーターおよびプリオンプロモーターによりウシ型プリオンが発現されるウシ型プリオン・トランスジェニックマウスをこれまでに作成し、マウス体内でのプリオン強発現に成功している。加えて、異常型プリオンの病原性を迅速に評価する系とするため、in vitro で異常型プリオンへの変換効率を増強する因子として同定された新規分子を組み込んだトランスジェニックマウスの作成を行っている。(飛梅 実、松田潤一郎（基盤研）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、国内での濃度基準の統一を図るため、ヒト由来細胞株を用いて作成した 14-3-3 蛋白質を標準標品として作成し、国内の検査機関に配布している。(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 および SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用

平成 20 年度も順調に運用された。8 月に S-5200 から SU6600 に装置を入れ替えた。SU6600 はより低倍率での観察が可能であり、また低真空と高真空の両方の観察が出来る。生物試料に威力を発揮するものと期待される。本年度中に処理した検体数は 98 検体で、その内訳は感染研内部 23 検体、外部との共同研究 31 検体、外部のみ 44 検体であった。そのうち免疫電顕は 16 検体であった。また、見学者の対応は 10 回、59 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 22 検体（94 ブロック)、ネガティブ染色検体数 75 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。ネガティブ免疫染色ではチクングニヤウイルスを行った。ヘルペスウイルスの感染機構の解析を行った。HIV における Vpu, BST の影響を観察し、違いが得られた。(田中恵子［臨時職員］、佐多徹太郎）

２．村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

本年度の総依頼件数は 26 件であり、透過電子顕微鏡利用は 25 件、走査電子顕微鏡は 1 件であった (1 件重複)。依頼者は感染病理部の他、ウイルス二部、ウイルス三部、エイズ研究センター、血液・安全性研究部、獣医科学部であった。なお、平成 21 年 3 月に透過型電子顕微鏡は JEM1220 から JEM1400 に機種変更された。(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、遺伝子診断に関する技術指導、研究指導および現地セミナー開催、平成 20 年 3 月 15 日から 3 月 31 日、平成 20 年 8 月 31 日から 9 月 14 日、平成 20 年 12 月 24 日から平成 21 年 1 月 2 日

（２）徳永研三：2009 年度 JICA 集団研修「HIV/AIDS の診断・予防・対策モデル」における講義“Viral properties of African HIV-1”、JICA 大阪、平成 20 年 8 月 15 日

Ⅷ.品質管理に関する業務

（１） 検定検査

麻疹、風疹、ムンプス、ポリオ等の神経毒力試験を行っているが、本年度は依頼がなかった。

（２）行政検査

１． 2007（平成 19）年 11 月 22 日、東南アジアからの帰国者が高病原性鳥インフルエンザの要観察例と判断され、インフルエンザ H5N1 の検査が依頼された。電子顕微鏡学的検査の結果、インフルエンザ H5N1 の感染は否定され、過去に国内で報告のないオルソレオウイルスが確認された。IASR Vol. 29, p.310-312、2008 年 11 月号:東南アジアからの帰国時に急性呼吸器症

状を呈した患者から分離されたオルソレオウイルス（永田典代、影山 努［ウイルス第三部］、酒井宏治［動物管理室］、水谷哲也［ウイルス第一部］、森川 茂［ウイルス第一部］、小田切孝人［ウイルス第三部］。

２．国内の検疫施設で、中国から輸入されたカニクイザルのコロニーの約 30 頭以上が死亡したので、国立感染症研究所が発症中の 3 頭のサルについて病理学的解析をおこなった。その結果、サルはイヌジステンパーウイルスに感染し、肺炎、脳炎、および全身感染等を呈していたことが確認された。IASR,vol 29, p 315. 2008 年 11 月号：カニクイザルのイヌジステンパーウイルスによる感染死亡事例 （森川 茂［ウイルス第一部］、福士秀悦［ウイルス第一部］、倉根一郎［ウイルス第一部］、酒井宏治［動物管理室］、網 康至［動物管理室］、山田靖子［動物管理室］、 長谷川秀樹［感染病理部］、永田典代［感染病理部］、佐多徹太郎［感染病理部］、 松井珠乃［感染症情報センター］、岡部信彦［感染症情報センター］、中嶋建介［国際協力室］。

３．1 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) Mori S, Takeuchi T, Enomoto Y, Kondo K, Sato K, Ono F, Sata T, Kanda T.: Tissue distribution of cynomolgus adeno-associated viruses AAV10, AAV11, and AAVcy.7 in naturally infected monkeys. Arch Virol. 2008 153:375-80.

2) Asanuma H, Matsumoto-Takasaki A, Suzuki Y, Tamura S, Sata T, Kusada Y, Matsushita M, Fujita-Yamaguchi Y.: Influenza PR8 HA-specific Fab fragments produced by phage display methods. Biochem Biophys Res Commun. 2008 366:445-9.

3) Sugimoto K, Uema M, Sagara H, Tanaka M, Sata T, Hashimoto Y, Kawaguchi Y.: Simultaneous tracking of capsid, tegument, and envelope protein localization in living cells infected with triply fluorescent herpes simplex virus 1. J Virol. 2008, 82: 5198-211.

4) Kato A, Tanaka M, Yamamoto M, Asai R, Sata T, Nishiyama Y, Kawaguchi Y.: Identification of a physiological phosphorylation site of the herpes simplex virus 1-encoded protein kinase Us3 which regulates its optimal catalytic activity in vitro and influences its function in infected cells. J Virol. 2008, 82: 6172-89.

5) Tanaka M, Sata T, Kawaguchi Y.: The product of the Herpes simplex virus 1 UL7 gene interacts with a mitochondrial protein, adenine nucleotide translocator 2. Virol J. 2008, 5: 1-13.

6) Dewan MZ, Takamatsu N, Hidaka T, Hatakeyama K, Nakahata S, Fujisawa J, Katano H, Yamamoto N, Morishita K.: Critical role for TSLC1 expression in the growth and organ infiltration of adult T-cell leukemia cells in vivo. J Virol. 2008, 82:11958-63.

7) Miyake A, Dewan MZ, Ishida T, Watanabe M, Honda M, Sata T, Yamamoto N, Umezawa K, Watanabe T, Horie R.: Induction of apoptosis in Epstein-Barr virus-infected B-lymphocytes by the NF-kappaB inhibitor DHMEQ. Microbes Infect. 2008 10:748-56.

8) Liem NT, Nakajima N, Phat le P, Sato Y, Thach HN, Hung PV, San LT, Katano H, Kumasaka T, Oka T, Kawachi S, Matsushita T, Sata T, Kudo K, Suzuki K: H5N1-infected cells in lung with diffuse alveolar damage in exudative phase from a fatal case in Vietnam. Jpn J Infect Dis. 2008, 61:157-60.

9) Matsuzaki A, Suminoe A, Koga Y, Kusuhara K, Hara T, Ogata R, Sata T, Hara T.: Fatal visceral varicella-zoster virus infection without skin involvement in a child with acute lymphoblastic leukemia. Pediatr Hematol Oncol. 2008 25:237-42.

10) Takada N, Horiuchi M, Sata T, Sawada Y.: Evaluation of methods for removing central nervous system tissue contamination from the surface of beef carcasses after splitting. J Vet Med Sci. 2008 70:1225-30.

11) Masujin K, Shu Y, Yamakawa Y, Hagiwara K, Sata T, Matsuura Y, Iwamaru Y, Imamura M, Okada H, Mohri S, Yokoyama T. Biological and biochemical characterization of L-type-like bovine spongiform encephalopathy (BSE) detected in Japanese black beef cattle. Prion. 2008 2:123-8.

12) Nozawa N, Yamamoto Y, Fukui Y, Katano H, Tsutsui Y, Sato Y, Yamada S, Inami Y, Nakamura K, Yokoi M, Kurane I, Inoue N.: Identification of a 1.6 kb genome locus of guinea pig cytomegalovirus required for efficient viral growth in animals but not in cell culture. Virology. 2008, 379:45-54.

13) Kamijuku H, Nagata Y, Jiang X, Ichinohe T, Tashiro T,

Mori K, Taniguchi M, Hase K, Ohno H, Shimaoka T, Yonehara S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H, Seino KI.: Mechanism of NKT cell activation by intranasal coadministration of alpha-galactosylceramide, which can induce cross-protection against influenza viruses. Mucosal Immunol. 2008, 1:208-18.

14) 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, 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. 2008, 61:140-2.

15) Ichinohe T, Iwasaki A, Hasegawa H.: Innate sensors of influenza virus: clues to developing better intranasal vaccines. Expert Rev Vaccines. 2008, 7:1435-45.

16) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S, Sata T.: Mouse-passaged severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus leads to lethal pulmonary edema and diffuse alveolar damage in adult but not young mice. Am J Pathol. 2008, 172:1625-1637.

17) 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. 2008, 52:118-112.

18) Wong KT, Munisamy B, Ong KC, Kojima H, Noriyo N, Chua KB, Ong BB, Nagashima K.: The distribution of inflammation and virus in human enterovirus 71 encephalomyelitis suggests possible viral spread by neural pathways. J Neuropathol Exp Neurol. 2008, 67: 162-169.

19) Watts DM, Peters CJ, Newman P, Wang N, Yoshikawa N, Tseng CK, Wyde PR: Evaluation of cotton rats as a model for severe acute respiratory syndrome. Vector Borne Zoonotic Dis. 2008, 8: 339-44.

20) Hosokawa T, Ono F, Tsuchiya K, Sato I, Takeyama N, Ueda S, Zanusso G, Takahashi H, Sata T, Sakudo A, Suguira K, Baj A, Toniolo A, Yoshikawa Y, Onodera T.: Distinct immunohistochemical localization in Kuru plaques using novel anti-prion protein antibodies. Microbiol Immunol. 2008,52:25-29.

21) Hosokawa T, Tsuchiya K, Sato I, Takeyama N, Ueda S, Tagawa Y, Kimura KM, Nakamura I, Wu G, Sakudo A, Casalone C, Mazza M, Caramelli M, Takahashi H, Sata T, Sugiura K, Baj A, Toniolo A, Onodera T.: A monoclonal antibody (1D12) defines novel distribution patterns of prion protein (PrP) as granules in nucleus. Biochem Biophys Res Commun. 2008, 366:657-63.

22) Seki S, Kawada M, Takeda A, Igarashi H, Sata T, Matano T.: Transmission of simian immunodeficiency virus carrying multiple cytotoxic-T-lymphocyte escape mutations with diminished replicative ability can result in AIDS progression in rhesus macaques. J Virol. 2008 82:5093-8.

23) Yamamoto T, Ushiki Y, Hara S, Hall WW, 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 sensitive ELISA to detect bovine spongiform encephalopathy accurately in brain tissue. J Virol Methods. 2008 149:316-25.

24) Kitagawa Y, Kameoka M, Shoji-Kawata S, Iwabu Y, Mizuta H, Tokunaga K, Fujino M, Natori Y, Yura Y, Ikuta K: Inhibitory function of adapter-related protein complex 2 alpha 1 subunit in the process of nuclear translocation of human immunodeficiency virus type 1 genome. Virology. 2008, 373:171-80.

25) Haga S, Yamamoto N, Nakai-Murakami C, Osawa Y, Tokunaga K, Sata T, Yamamoto N, Sasazuki T, Ishizaka Y: Modulation of TNF-alpha-converting enzyme by the spike protein of SARS-CoV and ACE2 induces TNF-alpha production and facilitates viral entry. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008,105: 7809-14.

26) Tanaka T, Xuan X, Kojima A, Igarashi I, Fujisaki K and Shimazaki K.: Expression and characterization of bovine lactoperoxidase by recombinant vaccinia virus. Cytotechnology. 2008, 58:127-33.

27) Lu L, Murphy D, Li C, Liu S, Xia X, Pham PH, Jin Y, Hagedorn CH, Abe K.: Complete genomes of three subtype 6t isolates and analysis of many novel HCV variants within genotype 6. J Gen Virol.2008, 89: 444-452.

28) Huy TT, Sall AA, Reynes JM, Abe K.:Complete genomic sequence and phylogenetic relatedness of hepatitis B virus isolates in Cambodia. Virus Genes. 2008, 36: 299-305.

29) Tran TT, Trinh TN, Abe K.: New complex recombinant

genotype of hepatitis B virus identified in Vietnam. J Virol. 2008, 82: 5657-5663.

30) Htun MM, Kyi KP, Oo KM, Oo SS, Lwin KO, Abe K.: Detection of low level HBV DNA by PCR in non-responders of plasma-derived hepatitis B vaccine produced at the Department of Medical Research (Lower Myanmar). Myanmar Health Sciences Research Journal 2008, 19:125-130.

31) Hoang PL, Trong KH, Tran TT, Huy TT, Abe K.:Detection of hepatitis A virus RNA from children patients with acute and fulminant hepatitis of unknown etiology in Vietnam: Genomic characterization of Vietnamese HAV strain. Pediatr Int. 2008, 50:624-7.

2. 和文発表

1) 永田典代、佐多徹太郎。SARS 患者における ARDS の病態とモデル動物の解析。医学のあゆみ、224, 838-839, 2008.

2) 佐多徹太郎　変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（牛海綿状脳症）ズーノーシスハンドブック、メディカルサイエンス社

3) 佐多徹太郎　プリオン病　コンパクト内科学　金芳堂

4) 辻 隆裕、佐藤由子、中島典子、佐多徹太郎　肺ウイルス感染症の病理診断　克誠堂出版、日本胸部臨床, 67: 5255-5260, 2008.

5) 高橋秀宗、佐多徹太郎。vCJD と牛肉の安全性。臨床とウイルス、36: 290-297, 2008.

6) 菅野隆行、佐多徹太郎　カポジ肉腫、内臓病変 STD 性感染症アトラス　秀潤社 pp:126-127, 2008.

7) 菅野隆行、片野晴隆　カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス　ウイルスハンドブック、日本 DDS 学会編集委員会 監修 日本医学館 pp: 88-89, 2008.

8) 菅野隆行、片野晴隆　HHV-8 関連皮膚疾患の診断と治療　ヘルペス感染症 −その診断と治療− Monthly Book Derma　全日本病院出版会　pp:89-93, 2008.

Ⅱ.学 会 発 表

1. 国際学会

1) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S ,Sata, T: A Mouse model for Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) using BALB/c mice and mouse-passaged SARS-Coronavirus. XIth International Nidovirus Symposium.June 2008, UK.

2) Yoshikawa N, Hill T, Yoshikawa T, Makino S, Watts DW, Chan L, Chan T-s, Peters CJ, and Tseng CK: Pathogenesis of wild-type and mouse-adapted SARS-CoV in hACE2-positive and -negative transgenic mice: in vitro and in vivo studies. XIth International Nidovirus Symposium. June 2008, Oxford, UK.

3) Yoshikawa T, Iwata N, Hill TE, Galindo CL, Peters CJ, and Tseng CK: Functional genomics underscores the likely role of interferon-lamda (IFN-λ) against SARS-CoV infection in pathologically relevant human lung epithelial cells. Keystone Symposia on molecular and cellular biology, Pattern Recognition Molecules and Immune Sensors of Pathogens. March 2009, Banff, Canada.

4) Han-Chieh Wu, Yuan-Ching Lo, Ih-Jen Su, Kenji Abe: Identification and significance of pre-S deletion mutants in human and woodchuck HBV-related hepatocellular carcinoma. 2nd Ditan International Conference on Infectious Diseases, Novemebr 2008, Beijing, China.

5) Kenji Abe: Lecture series on HBV pre-S mutants: Epidemiology and its role in HBV-related hepatocarcinogenesis. Symposium on HBV-related carcinogenesis at Cheng-Kung University, 2008, Tainan, Taiwan.

6) Hoang Le Phuc, Ton Thi Thanh Ha, Kenji Abe, Miharu Ushikai, Jian-Sheng Sheng, Keiko Kobayashi: Clinical features of Vietnamese patients with neonatal cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). AASPP-Seminar on Citrin Deficiency in Vietnam. Annual Meeting of Pediatric Society of Vietnam, June 2008, Ho Chi Minh City, Vietnam.

7) Ton Thi Thanh Ha, Hoang Le Phuc, Kenji Abe, Keiko Kobayashi: Citrin deficiency in Vietnamese children. 19th National Pediatric Conference of Vietnam Pediatric Association, December 2008, Ho Chi Minh City, Vietnam.

8) Kenji Abe: Alphabet of hepatitis viruses and related liver diseases in Asia. 19th National Pediatric Conference of Vietnam Pediatric Association, December 2008, Ho Chi Minh City, Vietnam.

9) Ohtaki N, Takahashi H, Takasaki T, Sata T, Kojima A: Production and evaluation of virus-like particles of West Nile Virus from mammalian cell clones as a novel subunit vaccine. Meetings of the three divisions of the International Union of Microbiological Societies

(IUMS2008), XIV. International Congress of Virology, August 2008, Istanbul, Turkey.

2. 国内学会

1) 佐多徹太郎 : 輸入狂犬病剖検例の免疫組織化学による病態解析。第 97 回日本病理学会総会、ワークショップ（金沢）2008 年 5 月
2) 片野晴隆、菅野隆行、佐多徹太郎: 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。 第 97 回日本病理学会総会（金沢）2008 年 5 月
3) 長谷川秀樹、辻 隆裕、澤 洋文、佐多徹太郎：成人 T 細胞性白血病マウスモデルにおける細胞走化因子の解析。第 97 回日本病理学会総会（金沢）2008 年 5 月
4) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐多徹太郎。SARS-CoV 感染動物モデルにおける SARS 重症化とサイトカインの関与。第 97 回日本病理学会総会（金沢）2008 年 5 月
5) 辻 隆裕、阿部賢治、長谷川秀樹、佐多徹太郎、鈴木昭、深沢雄一郎：エイズ剖検例での HBV による広汎性肝壊死の一例。第 97 回日本病理学会総会（金沢）2008 年 5 月
6) 飛梅 実、佐藤由子、長谷川秀樹、片野晴隆、中島典子、佐多徹太郎：狂犬病ウイルス抗原の細胞内局在。日本病理学会総会（金沢）2008 年 5 月
7) 江河勇樹、大月寛郎、清水進一、佐多徹太郎、小林寛：AIDS に合併した進行性多巣性白質脳症(PML)の 1 剖検例。第 97 回日本病理学会総会（金沢）2008 年 5 月
8) 西真由美、田村 愛、斎藤典子、高橋徹成、天野富美夫（大阪薬科大学、感染研・電顕室):キシロオリゴ糖によるサルモネラ感染の阻害機構の研究。Bacterial Adherence & Biofilm 第 22 回学術集会（淡路）2008 年 7 月
9) 辻 隆裕、神戸光彦、相内 章、岡本 尚、佐多徹太郎、長谷川秀：NF-kB 阻害剤を用いた ATL モデルマウス治療の基礎的検討。第 1 回 HTLV 研究会（東京）2008 年 8 月
10) Nakai-Murakami Chikako, Yuzuru Minemoto, Kenzo Tokunaga, Mitsuru Konishi, Tetsutaro Sata, Yukihito Ishizaka: An association between HIV-1 Vpr and Snf2h, a chromatin remodeling factor, facilitates viral integration into pericentromeric heterochromatin. 第 9 回熊本エイズセミナー（熊本）2008 年 9 月
11) 上野智規、栄鶴義人、片野晴隆、佐多徹太郎、後藤希代子：PML 法を用いたヒトサイトメガロウイルスの迅速な新規薬剤感受性試験法。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月
12) 菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆 : RTA 発現レベルの異なる KSHV 感染細胞におけるウイルス感染維持。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月
13) 長谷川秀樹、一戸猛志、相内 章、田村愼一、小田切孝人、田代眞人、倉田 毅、佐多徹太郎：キノコ類菌糸体抽出物を用いた経鼻粘膜ワクチンによる粘膜免疫増強作用とインフルエンザウイルスの感染防御。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
14) 相内 章、一戸猛志、田村愼一、倉田 毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹 : 経鼻ワクチンにおける Dectin-1 リガンドによるアジュバント効果の亢進。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
15) 酒井宏治、網 康至、水谷哲也、岩切 章、山本正悟、平井明香、須崎百合子、滝本一広、田原口元子、飯塚愛恵、福士秀悦、西條政幸、永田典代、片岡紀代、長谷川秀樹、山田靖子、倉根一郎、森川 茂：急性呼吸器患者から分離された新型レオウイルスの性状解析及びマウスでの感染実験。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
16) 川口 晶、大場靖子、木村享史、伊波英克、緒方正男、辻 隆裕、佐多徹太郎、澤 洋文、長谷川秀樹：ヒト ATL 細胞及び Tax トランスジェニックマウス由来腫瘍細胞の SDF-1α に対する走化性。 第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
17) 西條政幸、網 康至、須崎百合子、永田典代、長谷川秀樹、飯塚愛恵、塩田智之、緒方もも子、酒井宏治、中内美名、福士秀悦、水谷哲也、倉根一郎、森川 茂：劇症型サル痘に関する解析：症状、ウイルス学的検査所見、病理。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
18) 飯塚愛恵、西條政幸、網 康至、須崎百合子、永田典代、長谷川秀樹、緒方もも子、酒井宏治、塩田智之、中内美名、福士秀悦、水谷哲也、倉根一郎、森川茂 : Loop-Mediated Isothermal Amplification(LAMP)法によるサル痘迅速診断 第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
19) 宇田晶彦、棚林 清、永田典代、山本美江、藤田修、堀田明豊、巽 正志、長谷川秀樹、松田潤一郎、山田章雄：SARS コロナウイルス感染に高感受性なウ

イルス受容体発現マウスの作出。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月

20) 片野晴隆、加納基史、中村智之、菅野隆行、浅沼秀樹、佐多徹太郎: 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の解析。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

21) 片野晴隆、中村智之、菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎:KSHV 感染における KSHV 全遺伝子発現プロファイルの解析。 第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

22) 片野晴隆、伊東秀記、鈴木良夫、中村智之、佐藤由子、辻 隆裕、松尾光馬、中川秀巳、佐多徹太郎：メルケル細胞癌におけるメルケル細胞ポリオーマウイルスの検出。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

23) 中村智之、浅沼秀樹、佐多徹太郎、片野晴隆：メルケル細胞ポリオーマウイルスのクローニング。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

24) 森本智美、有井 潤、田中道子、佐多徹太郎、川口寧：野生体の性状を保持した完全長 HSV-2 感染クローンの構築とそれを用いたウイルス改変系の確立。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

25) 長岡論和、藤井克樹、北浦一孝、片野晴隆、佐多徹太郎、鈴木隆二、浅沼秀樹：インフルエンザウイルス感染マウスにおけるＴ細胞受容体の Ｖ 領域レパトア解析。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

26) 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 感染動物モデルを用いた SARS 発症機序の解明と治療法の検討。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

27) 小池 智、安部優子、永田典代、佐多徹太郎、竹内 理、審良静男：ポリオウイルス感染による IFN 応答発動経路の同定。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

28) 早坂大輔、永田典代、藤井克樹、長谷川秀樹、佐多徹太郎、鈴木隆二、小池 智：ダニ媒介性脳炎ウイルス（TBEV）の皮下接種マウスモデルにみられる早い時期と遅い時期の致死性。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

29) 辻 隆裕、神戸光彦、相内 章、岡本 尚、佐多徹太郎、長谷川秀樹：NF-kappaB 阻害剤を用いた ATL モデルマウス治療の試み。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

30) 高橋秀宗、飛梅 実、田中恵子、佐多徹太郎：マウスにおける HIV-1 中和血清の誘導。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月

31) 飛梅 実、佐藤由子、佐多徹太郎：狂犬病ウイルス抗原の細胞内局在。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

32) 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：哺乳動物細胞クローンを用いたウエストナイルウイルス様粒子ワクチン産生系樹立と有効性評価に関する基礎的検討。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

33) 佐藤秀摩、ノールマイザザムリ、倉田 毅、田村愼一、佐多徹太郎、浅沼秀樹：ファージディスプレイを用いた抗インフルエンザ PR8-scFv の作製。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

34) 亀岡正典、Piyamat Jinnopat、Panasda Isarangkura-na-ayuthaya、Piraporn Utachee、北川友紀子、Udayanga Chandimal de Silva1、Uamporn Siripanyaphinyo、亀岡陽子、徳永研三、Pathom Sawanpanyalert、Wattana Auwanit、生田和良：CRF01_AE 型 Gag がプロテアーゼ阻害剤に対するウイルスの薬剤感受性を低下させる分子機構について。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月

35) Piraporn Utachee、Piyamat Jinnopat、Panasda Isarangkura-na-ayuthaya、Udayanga Chandimal de Silva、中村 昇太、Uamporn Siripanyaphinyo、Nuanjun Wichukchinda、徳永研三、安永 照雄、Pathom Sawanpanyalert、生田和良、Wattana Auwanit、亀岡正典：Genotypic and phenotypic studies on CRF01_AE env clones derived from HIV-1-infected patients residing in Thailand. 第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月

36) 岩部幸枝、田中恵子、石坂幸人、佐多徹太郎、徳永研三：ウイルス放出抑制因子 BST-2 とその機能を阻害する HIV-1 Vpu 蛋白の相互作用。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月

37) 岩部幸枝、藤田英明、木ノ本正信、巽 正志、Juan Fernando Arias、志村まり、石坂幸人、生田和良、佐多徹太郎、徳永研三：HIV-1 Vif の抗 APOBEC3G 活性と細胞内局在性との相関性。第 56 回日本ウイル

ス学会総会（岡山）2008 年 10 月

38) 岡本成史、松浦正明、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―日本脳炎ワクチンの 1 回接種での防御免疫応答の持続性と免疫学的機構。第 56 回日本ウイルス学会学術集会（岡山）2008 年 10 月

39) 辻 隆裕、神戸光彦、相内 章、佐多徹太郎、長谷川秀樹 : Evaluation of Bay65-1942, a nuclear factor kappa B inhibitor, in mouse ATL models.第 70 回日本血液学会総会（京都）2008 年 10 月

40) 長谷川秀樹、一戸猛志、網 康至、永田典代、田村慎一、小田切孝人、田代眞人、倉田 毅、佐多徹太郎 : 経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンのカニクイザルを用いた効果検討。第 12 回日本ワクチン学会学術集会（熊本）2008 年 11 月

41) 木所 稔、網 康至、須崎百合子、永田典代、長谷川秀樹、久保田耐、田代眞人、岡部信彦、加藤 篤 : マーモセット感染モデルによるムンプスワクチン株の中枢神経病原性の評価。第 12 回日本ワクチン学会学術集会（熊本）2008 年 11 月

42) 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、塩田智之、佐多徹太郎、倉田 毅、倉根一郎、森川 茂 : 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 : 長期予防効果に関する検討。第 12 回日本ワクチン学会学術集会（熊本）2008 年 11 月

43) 片野晴隆、佐多徹太郎: エイズ関連リンパ腫およびエイズ剖検例の各臓器における多種類ウイルスの定量。 第 22 回日本エイズ学会学術集会（大阪）2008 年 12 月

44) 岩部幸枝、田中恵子、石坂幸人、佐多徹太郎、徳永研三 : 抗ウイルス宿主因子 BST-2 及びその阻害因子 HIV-1 Vpu の機能解析。第 31 回日本分子生物学会（神戸）2008 年 12 月

45) 志村まり、豊田雄介、木ノ本正信、徳永研三、依田欣哉、柳田充弘、佐多徹太郎、石坂幸人 : HIV-1 Vpr による姉妹染色分体の早期分離異常。第 31 回日本分子生物学会（神戸）2008 年 12 月

8．免　疫　部

部　長　小　林　和　夫

概　　要

免疫部は感染症、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すること、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．C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に関する研究
４．マウス肝炎ウイルス（MHV）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．劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究
３．類鼻疽の宿主防御に関する研究
４．細菌の運動性に関する分子機序
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の免疫系における増殖・伝播機構の研究
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．抗体産生Ｂ細胞分化における BILL カドヘリンの機能に関する研究
３．腸管上皮細胞に発現するカドヘリン・ファミリー分子と病原体細胞侵入機構に関する研究
４．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
５．マクロファージによる感染初期応答を制御する新規チロシンリン酸化タンパク質の機能解析
６．TIFA 関連タンパク質 TIFAB の機能解析
VI. 骨髄造血機構に関する研究
１．骨髄不全症と造血ニッチに関する研究
２．間葉系幹細胞分化と造血制御に関する研究
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 20（2008）年 4 月に国立感染症研究所免疫部　阿戸　学　主任研究官が第二室長に昇任し、東京医科歯科大学難治疾患研究所免疫疾患分野から小野寺大志が免疫部第三室研究員、また、8 月に早稲田大学先端科学・健康医療融合研究機構から松村隆之が第二室研究員として採用された。

業　　績

調査・研究

I. ウイルス感染症

１．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）RNA 干渉による HIV-1 増殖制御

HIV 増殖抑制性 siRNA 発現レンチウイルスを用い、フランスの慢性 HIV 感染者で障害されている Gag 特異的 $CD4^+$T 細胞、特にエフェクターメモリーへの分化移行段階にある細胞の増殖能を回復させうることを明らかにした。しかしながら、レンチウイルス感染により培養液中のウイルス量は増大し、抗ウイルス剤でもこれを抑制できなかった。従って、頻度の少ない Gag 特異的潜伏感染 T 細胞の一部に導入された RNAi 効果により HIV 再活性化が阻害されることが $CD4^+$T 細胞の増殖能回復に重要であると考えられた（AIDS, in press）。[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（東京大学医科学研究所）、横田恭子]

（２）$CD8^+$T 細胞の分化段階におけるマイクロ RNA 発現パターンの解析

マイクロ RNA（miRNA）は細胞核内で作られた前駆体からプロセスされた約 22 塩基の小分子 RNA で、多くの RNA および蛋白発現を調節するが、個々の miRNA の詳細な機能は不明なものが多い。慢性 HIV-1 感染者の HIV 特異的 $CD8^+$T 細胞は最終段階への分化が阻害されていることが知られている。そこで、フランスとの共同で $CD8^+$T 細胞の分化段階の違いによる miRNA 発現パターンを解析し、それぞれの分化段階に特徴的な発現パターンを示す miRNA が存在するすることを明らかにした（論文投稿中）。[山本拓也（東大医科研博士課程・研究生）、Victor Appay, Brigitte Autran（パリ大学 Pitie

Salpetriere Hospital、フランス共和国)、横田恭子]

（3）CCR5 を補助受容体とする HIV-1 の選択的増殖性機構の解析

HIV-1 の感染初期には多くの場合 CCR5 を補助受容体とする R5 型 HIV-1 が CXCR4 を利用する X4 型 HIV-1 に比較して優位に増殖する。昨年度作製した EGFP あるいは DsRed を発現する X4 型および R5 型組換え HIV-1 を用い、樹状細胞から CD4 陽性 T 細胞へのウイルス伝播・感染拡大の系では R5 型が優位に増殖し、これは R5 型 HIV-1 と X4 型 HIV-1 の DC への感染効率の違いによるものではなく、R5 型は X4 型と比較して T 細胞の活性化が低いレベルでも増殖可能なウイルスであることを示した（PLoS Pathog. 5: e1000279, 2009)。[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（東京医歯大)、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-1 Nef によるマクロファージ自然免疫機能の撹乱とエイズ病態

HIV-1 感染マクロファージにおける Nef の機能を明らかにするため、アデノウイルスベクターを用いて Nef をマクロファージで強制的に発現させ、マイクロアレイ解析を行った。その結果、Nef 発現に伴って発現増加するいくつかの自然免疫関連 mRNA を同定し、そのうち特に負の制御を受ける TLR5 について解析した。初期培養マクロファージを TLR5 のリガンドである flagellin で刺激した時の IL-6 産生が Nef 発現により低下する傾向があることが示唆された。[寺原和孝、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)、小林和夫、横田恭子]

（5）HIV-Nef 発現による免疫不全発症の解明

HIVNef 発現による T 細胞免疫への影響を明らかにするため、OVA 特異的 T 細胞抗原受容体トランスジェニックマウス（TGM）と、コクサキー・アデノウィルス受容体 TGM をかけあわせた double TGM を作成した。このマウスより精製した CD4+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、fluorescence activated cell sorter（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（慶応大学医学部・協力研究員)、阿戸　学、高橋宜聖、竹森利忠（理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター）]

（6）ヒト化マウスを用いた HIV 感染小型動物モデルの確立

生後 1 日目の重度免疫不全マウス（NOD/SCID/Jak3 KO）の肝臓にヒト臍帯血由来造血幹細胞を移植してヒト化マウスを作製した。ヒト由来 CD4 陽性 T 細胞の分化が認められたヒト化マウスに、緑色蛍光蛋白質(EGFP)発現 X4 型 HIV-1（NL-E)あるいは DsRed 発現 R5 型 HIV-1(AD8-D)を iv でチャレンジし、ヒト化マウスにおける HIV-1 感染成立を確認した。現在、生体内における X4 型および R5 型ウイルスの感染・複製様式、全身分布の違いについて解析している。[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・研究生)、水越文徳（エイズ予防財団リサーチレジデント)、土屋貴嗣（東大医科研・実習生)、小林和夫、岡田誠治（熊本大学エイズ学研究センター)、横田恭子]

（7）ワクチンに関する基礎的研究：酵母由来 HIV-1 Gag 粒子の樹状細胞による Cross-presentation と糖鎖の関係

ヒト単球由来樹状細胞は酵母由来 HIV-1 Gag ウイルス様粒子（VLP）をとりこみ、cross-presentation を介して Gag 特異的 CTL を活性化する。とりこみに関しては DC-SIGN やマクロファージ mannose receptor の様な既知のレクチンレセプターは関与していなかった。また、マンノース付加酵素欠損酵母（mnn9）由来 VLP（LmVLP）は野生型 VLP（HmVLP）と比較してマンノース量が 4 分の 1 程度低い一方、CTL 誘導能が高い。これは LmVLP が 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 IL-10 を誘導しやすく Th1 型の反応を抑制するためであることが示唆された（Microbes Infect. 11:191-197, 2009）。[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）高病原性鳥インフルエンザ（H5N1）研究に有用なモノクローナル抗体の作製

H5N1 型インフルエンザのワクチン品質管理あるいは診断に応用するためのマウスモノクローナル抗体を作製し、H5HA に特異的なサンドイッチ酵素抗体法を確立した。モノクローナル抗体は H5HA のクレード 1 に特に強く反応するものとクレードに関わらず H5HA に幅広く反応するものとあり、H5 以外の（H1~H15）には全く反応しなかった。モノクローナル抗体を組合わせて不活化ウイルス粒子を酵素抗体法による定量した場合、20 ng/mL が測定限界であった。今後、感度に関する検討が必要である。[横田恭子、大西和夫、高橋宜聖、平山中己、阿戸　学、大島正道、光木裕也（東京医歯大博士課程・研究生)、水越文徳（エイズ予防財団リサーチレジデント)、山本拓也（東大医科研博士課程・研究生)、小林和夫、板村繁之（ウイルス第三部）]

（2）鳥インフルエンザ（H5N1）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

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、NIBRG-14 ワクチンを接種したマウス血清抗HA抗体と抗NA抗体濃度を定量した結果、季節性 H1N1 ワクチンに比べ、より高濃度の抗 NA 抗体が誘導されることを見いだした。[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）インフルエンザワクチンが惹起する中和抗体の感染防御評価系に関する研究

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く、感染防御能の正確な評価が困難となる。本研究では、ヒト血清を移入したマウスを作製し、インフルエンザウイルスに対する感染防御能の評価がマウス生体内で可能かどうかまずは H1N1 ウイルスを用いて検証した。その結果、HI 抗体価や中和抗体価の高いヒト血清を移入したマウスでは、H1N1 ウイルス感染に対し、体重減少と生存率の有意な改善が認められ、血清移入評価系を用いることによって各ドナーのインフルエンザウイルスに対するヒトの感染防御能をマウス生体内で判定できる可能性が示唆された。[高橋宜聖、佐竹弘人（実習生）、小野寺大志、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

最近我々は、インフルエンザウイルス感染後の肺において、記憶 B 細胞が長期に渡り維持されることを見いだした。脾臓に存在する従来型の記憶 B 細胞との相違点を明確にする目的で、肺記憶 B 細胞が使用する抗体遺伝子可変領域の塩基配列を解析した結果、肺記憶 B 細胞は脾臓記憶 B 細胞と同じ前駆細胞から発達した可能性が示唆された。さらに、肺記憶 B 細胞の発現遺伝子を網羅的に解析した結果、脾臓記憶 B 細胞と類似した遺伝子発現パターンを示す一方で、発現量の大きく異なる遺伝子の存在が明らかとなった。[小野寺大志、泉山枝理子（実習生）、高橋宜聖、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人細胞株 A549 は感受性であり感染ウイルスを排除できずに死滅する。しかし気管上皮由来細胞株 NCI-H292 は 24 時間で感染ウイルスを排除し回復する。ウイルス感染により interferon（IFN）をはじめ宿主側抵抗遺伝子が誘導される状況を網羅的に解析した。細胞によるウイルス感染に対する反応性の違いを宿主抵抗因子の観点から検討している。[大島正道]

（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

昨年度までの研究で食品として安全に摂取できる物質としてオリゴ乳酸による免疫応答制御の可能性が示唆された。次の段階として、構造的に異なるオリゴ乳酸を一定期間、不活化インフルエンザ（H1N1、PR8）ワクチンを経鼻接種し、最終的にインフルエンザウイルスの攻撃感染に対し、オリゴ乳酸投与によりワクチンの感染防御効果増強が可能かどうかを検討している。
[寺原和孝、高橋宜聖、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]

3．C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に関する研究

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や活動性と逆相関することを明らかにした（J. Viral Hepat. 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、効率良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 の産生メカニズムについて検討中である。[大島正道、清水洋子（日本大学医学部・協力研究員）、土方美奈子（国立国際医療センター）、吉倉　廣（CODEX）]

4．マウス肝炎ウイルス（MHV）受容体に関する研究

MHV は腸管上皮に発現する carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1（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: GenBank# AB236330 、CEACAM1[a]-2C1: GenBank# AB236331 、CEACAM1[a]-4C1: GenBank# AB236332）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 との結合能および感染中和能を有していた（論文投稿中）。[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・野地智法・後藤義幸・清野　宏（東大医科研）、Beauchemin, N.（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

チミン誘導体合成系は生物に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。これまでの研究で、BCG の *thyX* 遺伝子欠損株はカタラーゼを含有しない 7H10-ADS 培地では増殖が顕著に抑

えられることを明らかにした。この結果をもとに *thyX* 遺伝子産物による増殖の回復を指標とした抗酸菌の宿主―ベクターシステムの作製を試みた。*thyX* 遺伝子欠損株を宿主、*thyX* 遺伝子を発現する大腸菌－抗酸菌シャトルプラスミドをベクターとしたところ、約 1 割の疑陽性が生じた。陽性クローンを選択し、7H10-ADS 培地で継代したところ、長期にわたりプラスミドを安定に保持していることが示された。このことから、*thyX* 欠損株－*thyX* 発現プラスミドが新たな抗酸菌の宿主－ベクター系として機能する可能性が示された。[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（長崎大学大学院医歯薬総合研究科）]

（２）日本株 BCG Tokyo 172-1 Ⅰ型とⅡ型の遺伝学的検討

BCG は結核ワクチンとして世界中で広く使用されてきた。最近になり日本で使用されている BCG Tokyo 172-1 に２つのタイプⅠ型とⅡ型が混在することが示された。両者の遺伝学的差異を明らかにするため、DNA マイクロアレイ解析を行った。Ⅰ型のみに高い発現が認められる領域は細胞壁糖脂質 phthiocerol dimycocerosate（PDIM）の合成酵素 phenolpthiocerol synthesis type-I polyketide synthase と DIM の輸送に関わるトランスポーター daunorubicin-DIM-transport integral membrane protein ABC transporter をコードしている遺伝子群を含む領域であった。また機能未知であるが、BCG 3475c – BCG 3478 もⅠ型のみに高い発現が認められた。Ⅱ型で発現量が多くなっている遺伝子としては低酸素状態で働く 2 成分制御系 DevRS（DosRS）に支配されている遺伝子群が多く認められた。これらの遺伝子群が BCG のワクチン効果に影響を与えていることが示唆された。これらの遺伝子産物の役割について現在解析を進めている。[大原直也、岡部真裕子、小林和夫、瀧井猛将（名古屋市立大学大学院薬学研究科）、山本三郎（日本 BCG 研究所）]

（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　真・渡邉治雄（細菌第一部）、竹森利忠（理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター）]

（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人口の約 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た。

休眠期結核菌は抗酸菌 DNA 結合蛋白質 1（MDP1）、alpha crystalline-like protein （Acr）、heat-stress-induced ribosome binding protein A（HrpA、Acr2）や heparin binding hemagglutinin（HBHA）を発現した。他方、分裂増殖期結核菌は early secreted antigen target 6 kDa（ESAT-6）や culture-filtrate protein 10 kDa（CFP-10）を発現した。これらの遺伝子をクローニングし、DNA 配列を確認後、大腸菌 BL21 株に各プラスミドを導入し、各蛋白質が発現することを確認した。

休眠期抗酸菌に大量に発現しているヒストン様 DNA 結合蛋白質（MDP1）について、その有無による増殖期と休眠期の蛋白質発現の変化をマイクロアレイにて観察した。その結果、細菌の基礎代謝を担う酵素群の発現が、MDP1 の欠失により休眠時に顕著に抑制されることが判明した。また、休眠時において MDP1 の欠失による薬剤感受性の低下が認められた。これらの結果から、MDP1 が休眠時において薬剤標的菌の生存維持に必要な代謝活動を維持し、菌の長期生存を保証している分子であることが判明した。[小林和夫、岡真優子・吉村満美子・松本壮吉（大阪市立大学大学院医学研究科）]

（５）*Mycobacterium avium* complex（MAC）感染症の迅速血清診断

非結核性抗酸菌感染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、酵素抗体法による迅速血清診断（所要時間：約 3 時間）が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多施設共同研究結果から判明した。感度：84.3%、特異度：100%であり、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。現在、MAC 感染症の酵素抗体法による迅速血清診断は厚生労働省に製造承認申請中である。[小林和夫、北田清悟・前倉亮治（独立行政法人国立病院機構刀根山病院）]

（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 12 由来の GPL は MAC 共通なコア部分（fatty acyl-D-Phe-D-allo-Thr-D-Ala-L-alaninol）とオリゴ糖鎖部分から構成されていた。血清型は糖鎖部分に依存しているが、この糖鎖配列を決定する２酵素遺伝子（methyltransferase）の存在を解明した。

M. intracellulare 血清型 16 由来の GPL 糖鎖は「hexose-rhamnose-rhamnose-rhamnose-talose」であることを解明し、糖鎖合成を規定する血清型 16 特異的３糖鎖転移遺伝子群を同定した。

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）遅発育性抗酸菌における sliding 能の検討

結核菌など抗酸菌の特徴の一つとして、菌体表面を覆う厚い脂質層がある。これらの糖脂質は宿主に対する抗原性や薬剤標的として有用である一方、抗酸菌に sliding という性質を与えている。Sliding は菌増殖に伴って表面上を広がる性質であり、拡散する上で有効であると考えられる。これまで主に迅速発育抗酸菌にて sliding 能が報告されていたが、我々は抗結核ワクチン株の BCG も sliding することを確認した。このことから結核菌群においても sliding 能を有すると予想され、感染における関与の可能性も考えられる。現在日本で用いられている BCG Tokyo 172 株には遺伝学的に異なる二種の亜型が混在しており、亜型間で比較したところ BCG においてもコロニー性状と sliding 能が関連することが分かった。[岡部真裕子、大原直也、山本三郎（日本 BCG 研究所）、小林和夫]

２．劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究

（１）劇症型溶連菌感染症における宿主好中球機能修飾

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 *emm*49 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リテイナーゼである 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傷害により、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。[阿戸　学、池辺忠義・渡邉治雄（細菌第一部）、竹森利忠（理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター）、小林和夫]

（２）劇症型溶連菌感染症における好中球傷害の分子機構

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症の機序として、劇症型感染分離株において高発現しているストレプトリシン O（SLO）が、好中球ネクローシスを誘導することが、その一因であることが判明した。劇症型と非劇症型分離株の間で SLO の産生量を比較したところ、劇症型分離株において有意な増加が認められた。しかし、培養上清中の SLO の産生量は、好中球障害を引き起こす閾値濃度より低いことが判明した。また、劇症型分離株の培養液のみを好中球と培養しても、好中球のネクローシスは誘導されなかった。このことから、劇症型分離株の SLO を介する好中球障害は、接触依存性に生じることが強く示唆された。この相互作用に係る分子を菌と好中球の共培養系で検索した結果、活性化型 CD11b に対する抗体の添加によって、ネクローシスが阻害され、ethylenediamine tetraacetic acid（EDTA）の添加によってほぼ完全に抑制された。以上より、劇症型分離株は、カルシウム依存的に好中球表面のβインテグリンに結合し、接触面で分泌する SLO により効果的に好中球傷害をもたらすことが示唆された。[阿戸　学、松村隆之、池辺忠義・渡邉治雄（細菌第一部）、小林和夫]

３．類鼻疽の宿主防御に関する研究

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。
[阿戸　学、Sujin Chanchamroen、Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen 大学、タイ王国）]

４．細菌の運動性に関する分子機序

多くの細菌はべん毛と呼ばれる運動器官を持つ。べん毛基部には輸送装置が存在し、べん毛を特異的に輸送する。べん毛輸送装置に含まれる FliI

ATPase は細胞質内でその調節因子である FliH と複合体を形成し、膜タンパク質で構成される輸送ゲートにドッキングする際は六量体を形成する。FliI の N 末領域は FliH との相互作用だけではなく、オリゴマー化にも関与しているが、オリゴマー化の調節機構は謎のままであった。我々は FliI の N 末領域について 10 残基欠損体を作成し、N 末領域のはじめの 20 残基が FliH との結合に必要とされること、N 末領域の正確な立体構造がべん毛の輸送機能を発揮する上で重要な役割を担っていることを実証した。[岡部真裕子、南野　徹・今田勝巳・難波啓一（大阪大学大学院生命機能研究科）、May Kihara（Yale 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。ヒトの病態を良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。その結果、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（York 大学、英国）]

２．マラリア原虫感染防御に関する研究

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 によるマラリア原虫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 transforming growth factor（TGF）-beta について検索した結果、抗 TGF-beta 抗体を投与しても、死亡率は改善せず、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関与する因子は、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 照射による制御性 T 細胞活性化とマラリア原虫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（理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター）]

３．マンソン住血吸虫感染防御に関する研究

（１）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.）感染動物実験モデルとして、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、引き続き、2 つの目的の実験が行われた。１つは、アジュバント併用による防御効果の実験で、あと１つは、マウスへの感作後、どの程度の期間防御効果が持続するかの有効期間の実験である。前実験では、アジュバントに BCG、PPD、FK565, Alum や QuilA が用いられ、その効果では、QuilA を除き、いずれも単一では免疫増強は見られなかった。後の実験では、最終感作後、5 週目に感染させたグループと 33 週目に感染させたグループで、感作をさせなかったグループとの間での平均防御効果の比較で、5 週目が 71%防御、33 週目が 56%防御であった。結論として、この感作では、半年以上は防御効果が持続することが認められた。現在、再感染に対する防御効果実験が検討されている。[平山中己、朝日博子（寄生動物部）、吉成正裕・南　陸彦（横浜市立大学大学院医学研究科）、金澤保（産業医科大学）]

（２）マンソン住血吸虫幼虫に対する抗体測定に関する研究

マンソン住血吸虫（S.m.）感染に対するワクチン作成に関するマウスモデル実験で、より強い防御効果の誘導に、弱毒化シストソミューラー（S.m. 幼虫）と或るアジュバントの組み合わせでの感作が良いことが判明した。この実験マウスの血清抗体価測定方法に関して、感作抗原（弱毒化 S.m.幼虫）に対する特異的抗体価の測定方法として、新たな方法を確立した。S.m.幼虫に対する抗体価測定では、既に.幼虫可溶性抗原を用いた酵素抗体法（ELISA）が報告されているが、この方法は、多量の S.m.幼虫の準備で、手間と経費が掛る。より少ない S.m.幼虫での特異的抗体価測定方法を確立する目的で、S.m.幼虫の免疫染色方法を試みた。初めに、弱毒化 S.m.幼虫感作マウス血清を用いて、フルオレセインイソシアネート（FITC）結合二次抗体による免疫染色を行った。結果は、不鮮明であった。次に、文献に基づき、アラキドン酸処理後の弱毒化 S.m.幼虫を固定し、同様の免疫染色を行った。結果は、鮮明な免疫染色であった。そこで、マウス血清を段階希釈し、S.m.幼虫に対する血清抗体力価を測定したところ、報告されている ELISA よりも感度良く力価測定が可能であることが判明した。[平山中己、吉成正裕・南　陸彦（横浜市立大学大学院医学研究科）]

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

いわゆる「コンフォーメーション病」の典型的な原因分子である異常型プリオン蛋白質は、牛海綿状脳症（BSE）由来危険部位を摂取することにより体内に侵入し、長期潜伏期間を経て海綿状脳症を引き起こす。この過程には神経系と共に免疫系細胞が異常型プリオン蛋白質の伝播に関与することが知られている。これまでの研究で、免疫系と神経系に発現する表面電荷に富む蛋白質分子

S100B が異常型プリオンの N 末端と相互作用する可能性が示唆されているが、マウス神経芽細胞（ScN2a）を用いた異常型プリオン蛋白質形成 *in vitro* 実験系等を用いての証明は困難であった。S100B 蛋白質の立体構造と正常型プリオン蛋白質の N 末端の、特に静電的な相互作用を解析するために、分子動力学的手法を用いたシミュレーションを行った。短時間（2 ナノ秒）の計算結果から、両ドメインが静電的に相互作用する可能性が示唆されたが、さらに計算を進め解析を続けている。この相互作用が、プリオン立体構造の正常型から異常型への変換に関与するという作業仮説を検討することによりコンフォーメーション病の病因理解を目指す。[大西　和夫、山口　沙由里（非常勤職員）]

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

抗体産生 B 細胞は骨髄内で細胞分化を進め、この過程で抗体遺伝子の再編成を行い、抗原認識多様性を発生させる。ここで生み出される膨大な数の抗原認識特異性を管理する上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、効率的な免疫系を構築する上で不可欠な役割を果たす。この抗原認識特異性管理の分子機構を解明することは免疫系の基本的理解を進めるとともに、ワクチン開発、抗体医薬品作製の新しい技術基盤を与える。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。突然変異を導入したプレ B 細胞受容体の再構築実験から、代替L鎖の機能に関するいくつかの重要な予測を得ているが、それらの分子レベルの裏付けを得るためにホモロジーモデリングおよび分子動力学法による解析を続けている。抗体の抗原認識特異性を飛躍的に高める技術基盤の開発を目指している。[大西和夫、傅　舟一（筑波大学大学院生命環境科学）、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）、野口　保（産業技術総合研究所）]

２．抗体産生Ｂ細胞分化における BILL カドヘリンの機能に関する研究

革新的なワクチン技術の一つの標的は免疫記憶を増強する技術であり、本研究の目的は、抗体産生Ｂ細胞の記憶形成に関与する分子機構を解析し、記憶 B 細胞制御技術を開発することにある。BILL カドヘリン（cadherin-17）は抗体産生 B 細胞分化の過程で spatiotemporal な発現制御を受けており、この分子の遺伝子欠損マウスでは記憶 B 細胞の形成・機能が低下することが示唆されている。また、DNA マイクロアレイの結果から記憶Ｂ細胞にこの分子の mRNA が強く発現していることが示されている。BILL カドヘリンが Ca^{2+}依存性細胞接着因子であることから、この分子が記憶Ｂ細胞の形成・貯蔵ニッチに関与すると考えて研究を進め、ワクチン技術に記憶Ｂ細胞形成促進効果を付与することを目標にしている。[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）、Fritz Melchers（Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国）、小林和夫、大西和夫]

３．腸管上皮細胞に発現するカドヘリン・ファミリー分子と病原体細胞侵入機構に関する研究

腸管は主要な病原体侵入部位の一つであり、腸管上皮には細菌・ウイルスの侵入標的分子が多数局在する。例えば E カドヘリンが、重篤な食中毒を引き起こすリステリア菌の細胞侵入標的分子であることはよく知られる。我々がクローニングしたBILLカドヘリンはEカドヘリン同様腸管上皮細胞頂部に高度に発現することから、病原細菌を含む腸内細菌叢と相互作用している可能性が高い。家畜の Johne 病を引き起こす抗酸菌（*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*）は腸管全面の上皮細胞に接着して細胞内に侵入し、Crohn 病を含む炎症性腸疾患（IBD）との関連が指摘されているが、この菌の腸管上皮細胞への侵入機構ならびに腸管免疫機能との相互作用については不明な点が多い。腸管上皮頂部の BILL カドヘリンを侵入標的とする病原体をスクリーニングする *in vitro* 実験系を既に構築しており、これを用いて腸内病原体侵入機構への関与について Crohn 病との関連を中心に検討している。[傅　舟一・沼田　治（筑波大学大学院生命環境科学）、Fritz Melchers（Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国）、小林和夫、大西和夫]

４．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。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、吸収上皮細胞も腸内環境変化により 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・in situ ハイブリダイゼーション・免疫組織染色による mRNA と蛋白発現解析の結果、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（J. Immunol. 108: 7840-7846, 2008)。[寺原和孝、吉田理人・五十嵐脩・野地智法・Pontes, G.S・後藤義幸・黒河志保・目島未央・高山直子・幸　義和・清野宏（東大医科研)、長谷耕二・大野博司（理化学研究所)、Lowe, A.W.（Stanford 大学、アメリカ合衆国）]

５．マクロファージによる感染初期応答を制御する新規チロシンリン酸化タンパク質の機能解析

生体は病原体の感染を受けると、マクロファージや樹状細胞などの貪食細胞に発現する Toll 様受容体（TLR）ファミリーを介して多様な病原体成分を認識し、炎症性サイトカイン（TNF-α, IL-6）の産生などの宿主応答を行う。本研究では TLR4 シグナルにおけるチロシンリン酸化ネットワークの全体像を解明し、宿主応答の分子機構の理解を深め、その知見を応用した感染応答の制御を目指す。今回我々は、プロテオミクス技術 SILAC（Stable

isotope labeling by amino acids in cell culture）を用いて、RAW264.7 マクロファージ細胞株の TLR4 シグナルにおけるチロシンリン酸化タンパク質の経時的かつ網羅的な同定と、そのリン酸化変動の定量解析を行った。その結果、p38、ERK、SHIP、Fes、Pyk2、PLC-γ2 など既知のタンパク質や、38 個の新規タンパク質候補を含む合計 61 個のタンパク質の同定に成功した。また、同定されたチロシンリン酸化タンパク質について RNAi を用いた機能解析を行い、TNF-αの産生には影響しないが、IL-6 および抗炎症性サイトカイン IL-10 の産生を調節する新規因子を見出した。現在、新規因子が制御するシグナル伝達経路の詳細な解析を進めている。[松村隆之、石川公輔・井上貴史・仙波憲太郎（早稲田大学理工学術院）、尾山大明・秦　裕子・井上純一郎（東大医科研）]

６．TIFA 関連タンパク質 TIFAB の機能解析

Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)-interacting protein with a forkhead-associated domain（TIFA）は TRAF6 を活性化し、細胞の増殖や成熟化に関わる転写因子 NF-κB の活性化を誘導する。TIFA 関連タンパク質 TIFAB は TIFA による NF-κB の活性化を阻害するが、TIFAB を発現する細胞の種類やその細胞での機能はほとんど知られていなかった。今回我々は、①TIFAB が T 細胞よりも B 細胞に発現し、さらに B 細胞よりも樹状細胞やマクロファージにおいて高発現していること、②TIFAB の発現は TRAF6 が誘導する細胞増殖シグナルあるいは成熟化シグナルによって負に制御されていること、③TIFAB は細胞周期の S 期移行を阻害することを明らかにした。以上の結果から TIFAB は、TRAF6 が誘導する B 細胞の増殖およびマクロファージや樹状細胞の成熟化における負の制御因子であると考えられた（論文投稿中）。[松村隆之、仙波憲太郎（早稲田大学理工学術院）、都竹順子・山本　雅・井上純一郎（東大医科研）]

VI. 骨髄造血機構に関する研究

１．骨髄不全症と造血ニッチに関する研究

再生不良性貧血（aplastic anemia）、骨髄線維症（myelofibrosis）、骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndrome、MDS）などの血液難病で観察されるリンパ球減少症（lymphocytopenia）と骨髄不全症（bone marrow failure）は、薬物（抗がん剤や免疫抑制剤）、放射線療法、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）による感染等の外因性要因（続発性免疫不全）と造血細胞の内因的欠損（先天性免疫不全）によって分類される。しかし、それぞれの病因と発症機構の詳細は不明な点が多く、疾患モデル動物実験を基盤にした研究の必要性が高まっている。骨髄不全症を呈する *Translin* 遺伝子欠損（TSN-KO）マウスでは、好中球などの顆粒球のみならず B 細胞やγδT 細胞の成熟停止も観察される。さらに造血幹細胞の増加も骨髄で認められることから、造血幹細胞の複製と各血球細胞への分化振り分け異常が骨髄不全症の原因であると考えられる。また、以上の現象は正常マウスの骨髄を TSN-KO マウスに移植した場合にも観察された。すなわち、TSN-KO マウスの骨髄不全症は、造血幹細胞（Lin-, Sca1+, c-Kit+）によるものではなく、造血幹細胞を取り囲む支持細胞であるニッチの異常に起因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）、齋藤祐美・浅野茂隆（早稲田大学理工学術院）、中原一彦（大学評価・学位授与機構）、葛西正孝]

２．間葉系幹細胞分化と造血制御に関する研究

骨髄ニッチの異常が、造血幹細胞の自己複製と骨髄系前駆細胞への分化振り分けを撹乱して骨髄不全症を誘発するという結論に基づき、TSN-KO マウスの骨髄ニッチを含むストローマで大きく変動する遺伝子を cDNA microarray と miRNA microarray によって解析した。その結果、cDNA microarray で明らかになった遺伝子は、血管内皮細胞と白血球の浸潤等、炎症反応に関係する CD99 であった。また、抗 CD99 抗体を用いた酵素抗体法によって、TSN-KO マウス骨髄に顕著な血管新生が観察されることを明らかにした。さらに、骨髄内に褐色脂肪細胞が蓄積していることを褐色脂肪細胞特異抗体、UCP-1 で同定した。既に報告したように、TSN-KO マウスの骨髄においては、海綿骨や骨芽細胞数の異所的な形成が認められる。加えて、血管新生と褐色脂肪細胞の蓄積が認められたことは、骨芽細胞、血管内皮などの骨髄ニッチを形成する間葉系幹細胞が TSN 遺伝子の標的であることを示唆している。今後、間葉系幹細胞に焦点を当てた研究が、血液難病の効果的な治療法に発展するものと期待される。[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）、中原一彦（大学評価・学位授与機構）、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

A 型肝炎ウイルス（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。これまでに HAV 集団感染に際して収集した IgM 型 HAV 抗体陽性血清パネルに加え、日本赤十字社の協力を得て IgG 型抗 HAV 抗体陽性国内血清を収集し、高品質の検体パネルを作製することができた。急性 A 型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基づき、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. タイ王国の感染症拠点における国際交流

タイ王国感染症拠点の研究者と病原細菌ゲノム情報の共有、および研究者の相互交流を目的として、国際協力室と共同で、国立感染症研究所の細菌研究

者間に横断的研究ネットワークを形成し、マヒドン大学シリラート病院微生物学研究室の研究者との直接交流を通じて、国際研究協力プロジェクトの端緒を形成した。
[阿戸　学、山根一和・堀野敦子（細菌第二部）、大原直也、川端寛樹・大西　真（細菌第一部）、黒田　誠（病原体ゲノム解析研究センター）、堀田明豊・井上　智（獣医科学部）、安藤秀二（ウイルス第一部）、中嶋建介（国際協力室）、Patarachai Kiratisin（マヒドン大学シリラート病院微生物学研究室、タイ王国）]

研修業務

I. 石川県立田鶴浜高等学校研修

医学、獣医学や生物学領域に進学を考えている高校生に、2008 年 7 月 28 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、2008 年 12 月 18 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：エイズ

国立国際医療センター研究所、国立健康・栄養研究所、東京女子医科大学、早稲田大学と共にアウトリーチ活動を行い、その一環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：2008 年度第 2 回箱根山周辺の身近な医療先端科学「エイズ」を 2008 年 11 月 8 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 20 年度細胞自動解析装置の使用は、566 回、1,234 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。新規解析装置の導入に際し、機器操作に関する講習会を開催した。さら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) Chanchamroen1 S, C. Kewcharoenwong1, W. Susaengrat, M. Ato, G. Lertmemongkolchai. 2009. Human polymorphonuclear neutrophil responses to *Burkholderia pseudomallei* in healthy and diabetic subjects. Infect. Immun. 77: 456-463.
2) Yokoyama S, Y. Ito, H. Ueno-Kudoh, H. Shimizu, K. Uchibe, K. Mitsuoka, S. Miyaki, M. Kiso, A. Nagai, N. Fukuda, L. Puri, M. Kasai, Y. Hayashizaki, H. Okado, M. Hashimoto, H. Asahara. 2009. Systems approach reveals myogenesis genome network anchored by transcription repressor Rp58. Dev. Cell In press.
3) Okado H, C. Ohtaka-Maruyama, Y. Sugitani, Y. Fukuda, R. Ishida, S. Hirai, A. Miwa, A. Takahashi, K. Aoki, K. Mochida, O. Suzuki, T. Honda, K. Nakajima, M. Ogawa, T. Terashima, J. Matsuda, H. Kawano, M. Kasai. 2009. The transcriptional repressor RP58 is crucial for cell-division patterning and neuronal survival in the developing cortex. Dev. Biol. 331:140-151.
4) Okabe, M., T. Minamino, K. Imada, K. Namba, and M. Kihara. 2009. Role of the N-terminal domain of FliI ATPase in bacterial flagellar protein export. FEBS Lett. 583: 743-748.
5) Mitsuki YY, K. Ohnishi, H. Takagi, M. Oshima, T. Yamamoto, F. Mizukoshi, K. Terahara, K. Kobayashi, N. Yamamoto, S. Yamaoka, Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. A single amino acid substitution in the S1 and S2 spike protein domains determines the neutralization escape phenotype of SARS-CoV. Microbes Infect. 10: 908-915.
6) Ato M, T. Ikebe, H. Kawabata, T. Takemori, H. Watanabe. 2008. Incompetence of neutrophils to severe invasive group A *streptococcus* isolates is attributed to enhancing expression of plural virulence factors by null-function of a regulatory gene. PLoS ONE 3: e3455.
7) Onodera, T, J. C. Poe, T. F. Tedder, and T. Tsubata. 2008. CD22 regulates time course of both B cell division and antibody response. J. Immunol. 180: 907-913.
8) Naito, M., H. Hirakawa, A. Yamashita, N. Ohara, M. Shoji, H. Yukitake, K. Nakayama, H. Toh, F. Yoshimura, S. Kuhara, M. Hattori, T. Hayashi, and K. Nakayama. 2008. Determination of the genome sequence of *Porphyromonas gingivalis* strain ATCC 33277 and genomic comparison with strain W83 revealed extensive genome rearrangements in *P. gingivalis*. DNA Res. 15: 215-225.
9) Yoshimura, M., N. Ohara, Y. Kondo, M. Shoji, S. Okano, Y. Nakano, Y. Abiko, and K. Nakayama. 2008. Proteome analysis of *Porphyromonas gingivalis* cells placed in a subcutaneous chamber of mice. Oral Microbiol. Immunol. 23: 413-418.
10) Ohnishi, K. 2008. Establishment and characterization of monoclonal antibodies against SARS-CoV. SARS and Other Coronaviruses. Strategies and Protocols (ed. David Cavanagh). The Humana Press Inc., 191-204.
11) Fujiwara, N., and K. Kobayashi. 2008. Chapter IV. Mycobacterial glycolipids and host responses. *Glycolipids: New Research*. Sasaki, D., editor. Nova Science Publishers: New York/USA. 99-116. ISBN: 978-60456-216-3
12) Kitada, S., K. Kobayashi, S. Ichiyama, S. Takakura, M. Sakatani, K. Suzuki, T. Takashima, T. Nagai, I. Sakurabayashi, M. Ito, and R. Maekura. 2008. Serodiagnosis of *Mycobacterium avium*-complex pulmonary disease using an enzyme immunoassay kit. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 177: 793-797.
13) Nakata, N., N. Fujiwara, T. Naka, I. Yano, K. Kobayashi, and S. Maeda. 2008. 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.
14) 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. 2008. Structural analysis and biosynthesis gene cluster of an antigenic glycopeptidolipid from *Mycobacterium intracellulare*. J. Bacteriol. 190: 3613-3621.

２．和文発表

1) 池辺忠義、阿戸　学、小林和夫、渡辺治雄．2009．劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序−菌の特徴と免疫回避機構−．BIO Clinica 北隆館 23: 1321-1326.
2) 鍔田武志、小野寺大志．2008．シグレックによるB細胞のシグナル制御、蛋白質 核酸 酵素 (9月増刊号 : 糖鎖情報の独自性と普遍性 : 古川綱一・遠藤玉夫・岡　昌吾・本家孝一・加藤晃一 編) 53：1636-1640.
3) 大原直也．2008．ハンセン病．微生物の事典（渡邉　信、西村和子、内山裕夫　編）東京：朝倉書店．470-471．ISBN: 978-4-254-17136-5.
4) 大原直也、小林和夫．2008．結核菌．バイオセーフティーの辞典．病原微生物とハザード対策の実際（バイオメディカルサイエンス研究会　編）　東京 : みみずく舎. 194-197. ISBN: 978-4-87211-903-9.
5) 小林和夫、菅原　勇．2008．ミニシンポジウム　I. ワクチン研究の現在と将来. 結核　83：635-640.
6) 松本壮吉、小林和夫．2008．結核ワクチン研究の現状と展望．臨床検査　52：1149-1153.
7) 小林和夫．2008．再興した感染症「結核」の診断・治療・予防法．Biophilia　4：30-34.

II．学会発表

1．国際学会

1) Gotoh, Y., Obata, T., O. Igarashi, K. Terahara, T. Nochi, J. Kunisawa, S. Satoh, M. Sakamoto, T. Matsuki, Y. Umesaki, Y. Benno, and H. Kiyono. 2008. Influence of commensal bacteria on the induction of UEA-1^{+} NKM-16-2-4^{+} cells in small intestine. The 95th Annual Meeting of the American Association of Immunologist (San Diego, CA, USA, 4 月).
2) Ohara, N., M. Okabe, M. Yoshimura, K. Nakayama, and K. Kobayashi. 2008. Contribution of NADPH oxidative activity of thymidylate synthase ThyX to growth of BCG. US-Japan Cooperative Medical Science Program. Forty-third Annual Tuberculosis and Leprosy Conference.（Baltimore, MD, USA, 5 月）.
3) Ami, Y., K. Ishii, Y. Tsunetsugu-Yokota, N. Nagata, H. Hasegawa, and F. Taguchi. 2008. Fatal exacerbated pneumonia of mice induced by co-infection of respiratory bacterium and SARS-CoV. XIth International Symposium on Nidoviruses (Oxford, UK, 6 月).
4) Ishii, K., H. Hasegawa, N. Nagata, Y. Ami, S. Fukushi, F. Taguchi, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. SARS-CoV Spike-reactive neutralizing antibody is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. XIth International Symposium on Nidoviruses (Oxford, UK, 6 月).
5) Kasai M, R. Ishida, Y. Fukuda. 2008. Increased Symmetric Division of Hematopoietic Stem Cells is associated with Cell Cycle Delay in the S/G2/M Phase. The Mount Desert Island Stem Cell Symposium (Salisbury Cove, ME, USA, 8 月).
6) Yamamoto, T., N. Iwamoto, H. Yamamoto, T. Tsukamoto, T. Kuwano, A. Takeda, M. Kawada, Y. Tsunetsugu-Yokota, and T. Matano. 2008. SIV-specific functional T-cell induction after passive neutralizing antibody immunization postinfection. The 8th Awaji International Forum of Infection and Immunity（淡路島、9 月）.
7) Terahara, K., F. Mizukoshi, T. Yamamoto, Y-Y. Mitsuki, T. Tsuchiya, K. Kobayashi, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. HIV-1 Nef dysregulates the innate immune function of macrophages, The 8th Awaji International Forum of Infection and Immunity（淡路島、9 月）.
8) Ikebe, T., M. Ato, K. Kobayashi, H. Watanabe. 2008. Impairment of global regulatory network of Streptococcus pyogenes virulence genes provokes neutrophil incompetence and subsequent streptococcal toxic shock-like syndrome. Forum of the network of research centers on infectious diseases (Hanoi, Socialist Republic of Viet Nam, 10 月).
9) Ato. M. 2008. Escape mechanisms of severe invasive group A *streptococcus* from killing by neutrophils. 4th International Infection Control of Theodor Bilharz Research Institute（Giza, Arab Republic of Egypt, 11 月）.

2．国内学会

1) 大原直也、吉村満美子、岡部真裕子、中山浩次、小林和夫．2008．*thyX* 遺伝子欠損株の作製による抗酸菌チミジル酸合成酵素の解析．第 78 回実験結核研究会（東京、4 月）.
2) 小林和夫、菅原　勇．2008．ワクチン研究の現状と将来（ミニシンポジウム）．第 83 回日本結核病学会総会（東京、4 月）.
3) 松本壮吉、藤原永年、吉村満美子、尾関百合子、西内由紀子、小林和夫. 2008. Mycobacterial DNA-binding protein 1（MDP1）による増殖と細胞壁合成の同調メカニズム．第 83 回日本結核病学会総会（東京、4 月）.
4) 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．2008．ヒアルロン酸の結核病巣における産生と局在．第 83 回日本結核病学会総会（東京、4 月）.
5) 仁木　誠、松本壮吉、和田崇之、小林和夫．2008．抗酸菌の薬剤感受性における MDP1 の調節機構の解析．第 83 回日本結核病学会総会（東京、4 月）.
6) Yamamoto, T., N. Iwamoto, H. Yamamoto, T. Tsukamoto, T. Kuwano, A. Takeda, M. Kawada, Y. Tsunetsugu-Yokota, and T. Matano. 2008. SIV-specific functional T-cell induction after passive neutralizing antibody immunization postinfection. 9th AIDS Seminar in KUMAMOTO（熊本、9 月）.
7) Mitsuki, Y-Y, T. Yamamoto, Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. Selective transmission of R5 HIV-1 over X4 HIV-1at the dendritic cell? T cell infectious synapse is determined by the T cell activation state. 9th AIDS Seminar in KUMAMOTO（熊本、9 月）.
8) 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．2008．*Porphyromonas gingivalis* ECF シグマ因子 PG0162 変異株の性状解析．第 50 回歯科基礎医学会学術大会・総会（東京、9 月）.
9) 山本拓也、光木裕也、水越文徳、寺原和孝、

稲垣好雄、山本直樹、横田（恒次）恭子. 2008. 樹状細胞の抗原提示に伴う感染シナプスを介した R5 型 HIV-1 選択的伝播機構の解析. 第 56 回ウイルス学会学術集会（岡山、10 月）.

10) 岩本　南、山本拓也、山本浩之、塚本徹雄、桑野哲矢、川田真幹、横田（恒次）恭子、俣野哲朗. 2008.　感染急性期の中和抗体受動免疫による細胞性免疫誘導および長期の SIV 複製抑制効果. 第 56 回ウイルス学会学術集会（岡山、10 月）.
11) 高橋宜聖、阿戸　学、二宮　愛、長谷川秀樹、小田切孝人、佐多徹太郎、田代眞人、小林和夫. 2008. H5N1（NIBRG-14）ワクチンの感染防御効果には、抗ヘマグルチニン抗体と抗ノイラミニダーゼ抗体の両者が関与する. 第 12 回日本ワクチン学会学術集会（熊本、11 月）.
12) 水越文徳、山本拓也、光木裕也、寺原和孝、小林和夫、横田（恒次）恭子. 2008. Nef 蛋白質発現に伴うマクロファージの自然免疫機能異常に関する解析。第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会（大阪、11 月）.
13) 吉田理人、寺原和孝、野地智法、GS. Pontes、長谷耕二、大野博司、幸　義和、清野　宏. 2008. 抗原取り込み M 細胞における網羅的遺伝子発現解析–パイエル板 M 細胞における GP2、MLP 遺伝子の特異的発現. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
14) Pontes, G.S.、吉田理人、野地智法、長谷耕二、大野博司、寺原和孝、幸　義和、清野　宏. 2008. Glycoprotein 2 はパイエル板 M 細胞の管腔膜に特異的に発現しているが、絨毛 M 細胞には発現していない. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
15) 阿戸　学、小林和夫. 2008. 劇症型溶血性レンサ球菌の好中球障害機構. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
16) 満栄　勇、小野寺大志、鍔田武志. 2008. Increased Tonic B cell Antigen Receptor Signaling but Reduced Antigen-induced B cell Response in Transgenic B cells Expressing IgG. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
17) Tan, C., H. Yamada, K. Shibata, H. Muta, N. Ohara, W. Wajjwalku, E.R. Podack, and Y. Yoshikai. 2008. CD30L/CD30 signaling by T-T cell interaction augments Th1 responses. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
18) Shuichi Fu, M. Kubota, Y. Takahashi, O. Numata, K. Kobayashi, F. Melchers, K. Ohnishi. 2008. Expression pattern of BILL-cadherin/cadherin-17 on B lymphocytes and immune organs: Search for the linkage between homing ability and B cell function. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
19) 柳橋　努、細野　朗、津田真人、八村敏志、高橋宜聖、伊藤喜久治、高橋恭子、上野川修一. 2008. バクテロイデスは胚中心の形成を促すことで大腸 IgA 産生を強く誘導する. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
20) 小川晋平、倉岡雅征、梅田幸子、高橋宜聖、紅露　拓、高津聖志、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏志. 2008. パイエル板 CD3-IL-2R+ 細胞によるクラススイッチの誘導および IgA 分泌の促進. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
21) 高橋宜聖、小野寺大志、加地友弘、北村　浩、竹森利忠、小林和夫. 2008. IgA+ memory B cells persist in the lung after an intranasal infection with influenza virus. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）.
22) Tomizawa, K., T. Nagao, M. Oshima, K. Kobayashi, and K. Suzuki. 2008. MPO-ANCA specific IgG2b subclass disease by treatment with 15-deoxyspergualin in SCG/Kj mice. 第 38 回日本免疫学会総会・学術総会（京都、12 月）.
23) 鄒　　軍、前原康宏、長尾朋和、戸高玲子、大島正道、小林和夫、志賀由紀、河内正治、中山俊憲、鈴木和男. 2008. The pathological findings of lung involved in cytokine storm from animal model of acute respiratory distress syndrome (ARDS). 第 38 回日本免疫学会総会・学術総会（京都、12 月）.
24) 北里海雄、高塚昌孝、熊　盛、布施隆行、郭朝万、劉　格、大原直也. 2008. MIP-T3 の C 末端は微小管結合と蛋白質の安定性制御に重要である. BMB2008 : 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会（神戸、12 月）.
25) 藤本浩文、傅舟一、泰地真弘人、作　道隆、高田直子、土田耕三、大西和夫. 2008. 分子動力学法を用いたプレ B 細胞レセプター non-Ig 領域の相互作用の解析. BMB2008 : 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会（神戸、12 月）.
26) 松村隆之、池辺忠義、渡邉治雄、小林和夫、阿戸　学. 2009. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株によるヒト好中球ネクローシス誘導機構の解析. 第 7 回感染症沖縄フォーラム（沖縄、2 月）.
27) 大原直也、岡部真裕子、吉村満美子、中山浩次、小林和夫. 2009. BCG におけるチミジル酸合成酵素 ThyX の研究. 第 7 回感染症沖縄フォーラム（沖縄、2 月）.
28) 横田恭子. 2009. ウイルス感染に対する生体防御機能とワクチン. 第 27 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会・スポンサードレクチャー（千葉、2 月）.
29) 阿戸　学、池辺忠義、渡邉治雄、小林和夫. 2009. 劇症型感染分離溶血性レンサ球菌株はストレプトリシン O および接触依存的にヒト好中球を障害する. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.
30) 池辺忠義、阿戸　学、川端寛樹、小林和夫、渡邉治雄. 2009. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株における *csrS* 変異の解析. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.
31) 大西　真、阿戸　学、志牟田健、渡邉治雄. 2009. 腸管外病原性大腸菌の好中球の食菌作用抵抗性. 第 82 回日本細菌学会総会(名古屋、3 月）.
32) 松本壮吉、小林和夫. 2009. Tuberculosis, from biology to development of control strategies（シンポジウム）. From the functions of a protein to

molecular pathogenesis of mycobacteria（国際シンポジウム）. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.

33) 立石善隆、平山幸雄、尾関百合子、西内由紀子、吉村満美子、小林和夫、松本壮吉. 2009. 抗酸菌感染症研究における新たな視点（ワークショップ 15）. 急速な臨床経過に合致した高病原性 *Mycobacterium avium-intracellulare* complex 菌株の同定. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.
34) 平山幸雄、吉村満美子、尾関百合子、菅原　勇、小林和夫、松本壮吉. 2009. 抗酸菌感染症研究における新たな視点（ワークショップ 15）. 結核菌の増殖に対するヒアルロン酸の作用. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.
35) 大原直也、岡部真裕子、吉村満美子、中山浩次、小林和夫. 2009. 抗酸菌感染症研究における新たな視点（ワークショップ 15）. BCG におけるチミジル酸合成酵素 ThyX の意義. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）
36) 岡部真裕子、大原直也、山本三郎、小林和夫. 2009. BCG Tokyo 172-I 型および-II 型株における sliding 能の差異. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.
37) 岡真優子、小林和夫、松本壮吉. 2009. 結核菌感染マクロファージにおける hypoxia-inducible factor-1alpha の作用機構. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.
38) 仁木　誠、吉村満美子、小林和夫、松本壮吉. 2009. 抗酸菌の薬剤感受性における MDP1 の調節機構の解析. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.
39) 尾関百合子、原田　誠、西内由紀子、山本三郎、小林和夫、松本壮吉. 2009. 抗結核薬スクリーニング系の確立と実践. 第 82 回日本細菌学会総会（名古屋、3 月）.
40) 高橋宜聖、小野寺大志、小林和夫. 2008. インフルエンザウイルスの感染防御に寄与するメモリーB 細胞の同定. 日本農芸化学会 2009 年度大会（福岡、3 月）.

III. 特許（公開）

1） Tsubata. T, T. Onodera. “Methods for promoting immune response comprising inhibiting CD22 function in B cells”、公開日 2008 年 7 月 3 日. 国際特許公開番号：(WO/2008/078673) .

９．生物活性物質部

部長　宮﨑 義継

概 要

生物活性物質部では、難治性真菌感染症の制圧、ならびに、感染症制御薬の創薬と有効活用を目標として、研究を推進している。真菌症研究では、昨年度から開始したアスペルギルス症の新規診断と治療法開発に関する研究と、従来からおこなっているカンジダ属の薬剤耐性や病原因子制御に関する研究を中心に、二大深在性真菌症についての基礎研究と応用研究を行っている。創薬研究では、放線菌ゲノム情報を応用した生物活性物質の生合成経路の解明とそれを利用した新規薬剤の開発、及び、シグナル伝達制御による増殖抑制に着目した、抗微生物薬の開発研究を行っている。

第１室では、新見昌一室長の平成１２年着任に始まった本研究所における真菌症研究を継続している。主にカンジダ属を対象として、主要抗真菌薬に対する薬剤耐性機構と病原因子の解明に関する研究を行ってきたが、さらに真菌症研究を発展させるべく、糸状菌感染症の制圧という新たな目標を加え、集約的に取り組んでいる。第２室では、病原真菌や宿主の細胞内シグナル伝達を応用した感染制御に関する研究、並びに、新規薬剤のスクリーニングと構造活性相関についての研究を行っている。第３室では、真菌感染症のレファレンス業務と併行して、難治性真菌症の診断系の開発研究、宿主因子の制御による難治性感染症や難病の治療に関する基礎研究を行っている。第４室では、放線菌ゲノム情報と二次代謝産物を応用した新規感染症制御薬の創薬研究、及び、ノカルジア症の病態解明に関する基盤研究を行っている。

平成２０年度の主要な研究項目は以下の通りである。

Ⅰ．病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発のための基盤的研究と開発研究

ＩＩ．真菌感染症における宿主因子の解明と感染制御に向けた基盤的研究と応用研究

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基盤的研究

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基盤的研究

研究費としては、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、経済産業省地域イノベーション創出研究開発事業の支援を受けた。

昨年度より、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ところであるが、平成２０年度から真菌症の行政検査にも対応している。同様に平成１９年度から開始した品質管理業務については、平成２０年度より後発医薬品等の品質管理業務を独自の体制を確立し稼働するに至っている。

宮﨑は、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務めた。

国際交流としては、米国疾病制御センター（CDC）の派遣事業により米CDC真菌疫学研究部門Dr. Benjamin Parkを招聘し「米国における侵襲性真菌症の疫学調査ストラテジー」に関する感染研セミナーを主宰し疫学研究のプロトコル作成に関する研究討議を行った。また、ヒューマンサイエンス振興財団「外国人研究者招聘事業」によりパスツール研究所真菌症および抗真菌薬レファレンスセンター分子真菌学部門長のDr. Francoise Dromerを招聘して「*Cryptococcus neoformans* の血液脳関門への通過」に関する研究討議を行なった。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「構造に基づくドラッグデザイン」に関する共同研究を行った。

人事異動では、平成２０ 年４ 月１日付で大野秀明が第３室長に着任した。新見昌一第１室長が平成２１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．病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発のための基盤的研究と開発研究

１．病原真菌の新規分子の探索と応用研究

（1）病原真菌 *Asperugillus 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と診断系の作成

特異的かつ感度の高いアスペルギルス属の検出系の確立を目的として研究を進めている。シグナルシークエンストラップ法により同定した真菌由来細胞外蛋白質をコードすると考えられる遺伝子 113 種類から、分泌発現すると予想される 20 個の候補遺伝子を選んだ。それらの遺伝子を *Saccharomyces cerevisiae* に発現させ、10 個の遺伝子について培養上清中に分泌を確認できた。現在、それぞれの遺伝子に対応するマウス Ba/F3 細胞由来 SST クローンをマウスに免役してモノクローナル抗体の作製をしている。そのなかで Y-1 と命名した遺伝子産物に対するモノクローナル抗体 4 種類得ることができ、サンドイッチ ELISA の構築を試みたが、これら抗体は同じエピトープを認識すると考えられたため構築できなかった。そこで、サンドイッチ ELISA の構築に向けて大腸菌で作製した組換え体を用いポリクローナル抗体の作製を行っている。

［山越　智、宮﨑義継、岡部智也（ACTGen 社）、橋本ゆき、大川原明子、大野秀明］

（2）*Candida* 属など主要な病原真菌を用いたシグナルシークエンストラップ法による解析

哺乳類の細胞外蛋白質をコードする遺伝子を網羅的に同定するために確立されたシグナルシークエンストラップ法が真菌にも応用できることが明らかとなったので、他の病原真菌 *Candida albicans, Candida glabrata, Asperugillus niger, Asperugillus flavus, Cryptococcus neoformans , Rhizopus oryzae, Trichosporon asashii*、コントロールとして *Asperugillus oryzae, Aspergillus versicolor, Penicillium expansum* でも新規蛋白質の検索を行い真菌由来細胞外蛋白質をコードすると考えられる遺伝子を同定した。今後、これらの情報を用いて診断薬、治療薬への応用を検討する。

［山越　智、大野秀明、岡部智也（ACTGen 社）、増保安彦（東京理科大学）、掛屋　弘（長崎大学）、小西良子（国立医薬品食品衛生研究所）、宮﨑義継］

（3）*Candida ablicans* の biofilm における hsp90 の役割

Candida albicans は、日和見感染症の重要な原因微生物であり、抗真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。in vitro で、アゾール系抗真菌薬が biofilm に対して無効であること、また、micafungin の作用を弱めることが分かった。その機序として、hsp90 が関連していることが判明し、hsp90 関連因子が新たな治療ターゲットになる可能性を検討している。

［金子幸弘、宮﨑義継］

（4）*Asperugillus fumigatus* の遺伝子破壊

Ku70 遺伝子欠損株 Afs35 を用い pCB1004 のハイグロマイシン耐性遺伝子を含む DNA 断片を選択マーカーとして使い *Asperugillus fumigatus* の 3 つのシデロフォアの合成に関わる *SidA* 遺伝子破壊株を作製した。

［山越　智、大野秀明、田辺公一、宮﨑義継］

（5）バイオフィルムにおける真菌の転写調節の解明

網羅的な *C. albicans* のトランスクリプトームおよびプロモーター活性の解析を開始した。バイオフィルムを形成した状態で抗真菌薬を投与し、投与 4 時間後に *C. albicans* の全 RNA を抽出し、CAGE 法により mRNA の転写開始部位の転写量を測定した。抗真菌薬投与の有無で差を認めたため、詳細を検討中である。

［金子幸弘、宮﨑義継］

２．抗真菌薬耐性機構に関する研究

⑴ ステロールトランスポーターとアゾール系抗真菌薬非感受性化

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、アゾール系抗真菌薬に高感受性となった。当該年度は、*CgAUS1* の発現を制御する転写因子を同定するために、候補となる転写因子を他のモデル生物とのゲノムDNAの比較から絞込み、それらの転写因子をコードする遺伝子の破壊株を作製した。複数の候補遺伝子破壊株のうち、*UPC2B* 破壊株においては血清によるアゾール非感受性化が認められず、*CgAUS1* 遺伝子の発現上昇も認められなかった。以上の結果から、血清の添加は*UPC2B* を活性化し *CgAUS1* 遺伝子の発現上昇を引き起こすというモデルを提唱した。

［田辺公一、中山浩伸（鈴鹿高専・生物応用化学科）、名木　稔、新見昌一］

⑵ 真菌の脂質成分分析法の確立

アゾール系抗真菌薬をはじめとして多くの抗真菌薬はエルゴステロール合成経路を標的としたものが多い。真菌の脂質分析手法を確立することを目的として実験を行った。ステロールの分析に関しては、HPLCと蒸発光散乱検出（Evaporative Light Scattering Detector；ELSD）によって同定・定量を試みた。その結果、cholesterol, ergosterol, lanosterolについてUV吸収では検出できない微量のステロールの同定、定量を可能にした。

［田辺公一、名木　稔、臺　由紀、宮﨑義継、新見昌一］

（3）血清添加による *Candida* 属のアゾール系抗真菌薬非感受性化

Candida albicans は好気条件においては内在性のエルゴステロール合成に依存して成育し、細胞外にステロールが存在しても取り込まないことが知られている。したがって、*C. glabrata* で観察されたような好気条件での血清添加によるアゾール系抗真菌薬非感受性化は起こらないと推測された。しかしながら、*Candida* 属22株（臨床分離株17株および標準株5株）の血清存在下での薬剤感受性を調べたところ、*C. parapsilosis* 以外の全ての *Candida* 属において血清によるアゾール系抗真菌薬非感受性化が認められた。本結果は、血清によるアゾール系抗真菌薬非感受性化が一部の種を除いて *Candida* 属に広く存在することを示している。

［田辺公一、名木　稔、新見昌一］

⑷ *Candida albicans* の血清によるアゾール耐性化メカニズムの解明

C. albicans は合成培地中で血清によってアゾール高感受性化することが明らかにされていた。しかし、この現象は標準株であるSC5314でしか検証されておらず、SC5314以外の *C. albicans* 株は全て血清によるアゾール非感受性化が認められた。そこで血清添加時のアゾール耐性関連遺伝子の発現解析とステロール分析を行った。アゾール耐性関連遺伝子の発現量は血清添加によってほとんど変化しておらず、またSC5314株と他の臨床株との間でも顕著な差は認められなかった。また、細胞内ステロール含量についても各株間で顕著な差は認められなかった。よって、血清によるアゾール非感受性化が既知の薬剤耐性メカニズムとは異なる機構によるものであることが示唆された。

［田辺公一、名木　稔、臺　由紀、宮﨑義継、新見昌一］

（5）カイコ感染実験モデルを用いた *C. albicans* の病原性解析

カイコ感染実験モデルを用いて *C. albicans* プロテインフォスファターゼの病原性解析を行った。プロテインフォスファターゼをコードする28遺伝子のうち、21遺伝子をそれぞれ破壊した欠損株を作製し、カイコ感染実験モデルを用いて親株と病原性を比較した。その結果、*CaPTC1* 破壊株が著しい病原性の低下を示し、マウスモデル感染実験においても再現された。*CaPTC1* 破壊株は寒天培地上で菌糸形成が阻害され、Protease産生能の低下、マウス腎臓への定着率の低下などを示した。 これらが複合して *C. albicans* の病原性の低下につながったと考えられる。さらに、マウスモデル感染実験において病原性の低下が報告されているいくつかのプロテインフォス

ファターゼ欠損株はカイコ感染実験モデルにおいても病原性が低下しており、カイコを用いた *C. albicans* の病原性解析が有効であることが分かった 。

［花岡　希、 高野幸枝、上原至雅（岩手医科大学薬学部・微生物薬品創薬学講座）、 新見昌一、渋谷和俊（東邦大学医学部病院病理）、普後　晋（東京農工大院・連合農学・生物生産）］

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) 輸入真菌症の疫学調査を行い、ヒストプラズマ症例数の持続的増加およびコクシジオイデス症のコンスタントな発生が認められた。肺線維症における抗ヒストプラズマ抗体測定による潜在的ヒストプラズマ症患者の検索では、明確なヒストプラズマ症は認められなかった。ヒストプラズマ症血清診断法の開発について、新規抗原候補タンパク質について可溶化を行ない、有用性の基礎的検討を行った。

(2) 深在性真菌症として頻度の高いカンジダ症の原因真菌のほとんどを占める *Candida* 主要菌種の CHROM agar Candida と血液寒天を組み合わせる簡便な同定方法を確立した。

(3) 新規カンジダ属酵母、新種酵母を記載し、迅速診断のための簡易遺伝子抽出系を考案した。

(4) ホルマリン固定パラフィン切片における *Fusarium* 属および *Histoplasma capsulatum* の検出を目的とした PNA プローブを用いた *In situ* hybridization 法を開発した。

(5) 新聞データベースを用い、真菌感染に関する情報がどの程度提供されているかを調査し、「かび」や「真菌」に関する情報が新聞誌上で扱われることは少ないことが分かった。

(6) 抗真菌薬シーズの開拓と新興感染症トリコスポロン症の分子疫学を行い、*Trichospron asahii* の遺伝子型は日本、タイ、米国株はそれぞれ特徴があった。

(7) 臨床分離 *Candida tropicalis* にみられた micafungin の paradoxical effect について検討した。

［新見昌一、大野秀明、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）、槇村浩一（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）］

ＩＩ．真菌感染症における宿主因子の解明と感染制御に向けた基盤的研究と応用研究

１．*C. albicans* 細胞壁表層のマンナン構造の違いによる初期免疫応答の解析

（1）α型マンノース転移酵素欠失株の解析

ゲノム上にコードされている糖付加酵素　α型のマンノース転移酵素、すなわちα-1,2、α-1,3、α-1,6マンノース転移酵素の遺伝子をそれぞれ単独で欠失すると推定される破壊株を作製し、それらの真菌学的性質、病原性、精製したマンナンたんぱく質刺激によるモノサイト・マクロファージの炎症性サイトカイン産生誘導について解析を行った。親株TUA6と比較して 菌糸形成能が顕著に低下する株を見出したが、病原性については差を認めなかった。一方、初期感染防御に関与するヒトモノサイト、マウスマクロファージを親株、破壊株からそれぞれ精製したマンナンたんぱく質によって刺激してIL-6産生誘導について検討したところ、親株を含むすべての株で産生を誘導したが、それらの産生量に違いは認めなかった。以上の結果より、表層を構成するマンノースの構造が変化していると考えられる *C. albicans* では、コロニーの性質が変化するものがあったが、生体による認識、病原性に直接反映されなかった。病原性について詳細を解析中である。

［大川原明子、山越 智、臺 由紀、橋本ゆき、宮﨑義継、大野秀明］

（2）β型マンノース転移酵素欠失株での宿主反応の解析

C. albicans 細胞壁表層のマンナンの構造は温度、pH などの培養条件、さまざまなストレスによって修飾を受け生物活性が変化することが報告されている。β-1,2 マンノースが付加しない培養条件で培養した菌の培養上清から精製したマンノプロテインβ-グルカン複合体をマウスに投与することによって、川崎病類似の冠状動脈炎が発症することを報告してきた。ゲノム上にコードされている糖付加酵素　β-1,2 マンノース転移酵素の遺伝子を欠失すると推定される破壊株を作製し、真菌学的性質、病原性、精製したマンナンたんぱく質刺激によるモノサイト・マクロファージによる炎症性サイトカイン産生誘導について解析中である。

［大川原明子、山越 智、臺 由紀、橋本ゆき、大野秀明、宮﨑義継］

２．*Cryptococcus neoformans* の潜伏感染機構の解析

C. neoformans はヒトに感染後、生体内で潜伏感染することが数々の報告で明らかとなっている。この潜伏感染のメカニズムを解明するためのアプローチとして、低酸素条件下での培養で *C. neoformans* の遺伝子発現について検討したところ、未同定の遺伝子が多く認められたと同時に糖代謝に関与する遺伝子の発現が多いことを確認した。現在これらの遺伝子の機能について解析をすすめている。

［大野秀明、山越　智、金子幸弘、宮﨑義継］

３．*Cryptococcus neoformans* 感染に対する生体防御における LECT2 の役割

真菌感染における LECT2 の関与を調べるために LECT2 遺伝子欠損マウスを用い *C. neoformans* 感染における感受性を調べた。尾静脈から *C. neoformans* を経静脈的に感染させ、野生型と生存率および脳、肺、肝臓、脾臓における経時的な菌量、病理組織像、各臓器における炎症性サイトカインの mRNA レベルでの比較検討を行った。その結果、LECT2 遺伝子欠損マウスにおいては *C.　neoformans* 感染に感受性を持つことが示唆された。

［大野秀明、奥村彰規、宮﨑義継、山越　智］

４．サイトカイン LECT2 の disulfide bond の解析

LECT2 は、151 個のアミノ酸残基からなり 6 個のシステイン残基を含む。CHO 細胞で分泌発現させた組換え体ヒト、マウス LECT2 を MALDI-TOF マスで解析し、すべてのシステインが結合に関わることがわかり、3 つの disulfide bond の位置を決定することができた。

［奥村彰規、鈴木健裕（理研）、橋本ゆき、大野秀明、宮﨑義継、山越　智］

５．COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究

（1）わが国の慢性壊死性肺アスペルギルス症は、欧米の慢性空洞性肺アスペルギルス症を包括する概念であることが明らかになった。

（2）慢性壊死性肺アスペルギルス症の患者背景が明らかになり、肺結核後遺症、肺炎、非定型抗酸菌症、COPD などが呼吸器系の基礎疾患として頻度が高かった。疾患感受性の指標としてマンノース結合レクチン遺伝子の多型性は欧米の報告と異なる傾向が示唆された。

（3）測定法の改良前後の β-グルカン値の比較で、一定の相関を認めたが、改良前 MK 法の測定値が高い数値になる傾向が認められた。

（4）慢性壊死性肺アスペルギルス症で見られる特徴的な症状は喀血と血痰であることが示唆された。

（5）病理組織と画像の対比では、いずれの症例も上肺肺尖部付近に、菌球を有する空洞を認めた。空洞壁は壊死、器質化、線維性肥厚よりなり、その辺縁部から離れた部位まで、種々の程度の器質化肺炎像が観察された。しかし、アスペルギルス菌糸の組織内への侵襲像は認められなかった。

（6）真菌である *A. fumigatus* 遺伝子をマウス由来細胞に導入した場合でも、糸状菌由来蛋白質のシグナルペプチドによりマウス細胞表面に移送されることが明らかにした。また、TOF-MS を用いた解析から得られた情報を基に、ポリアクリルアミドゲルを用いた二次元電気泳動法、peptide mass fingerprint 法、アミノ酸シークエンスを行い、本タンパクがアスペルギルス由来のユビキチン様タンパクが重症患者の血清中に出現することを明らかにした。

（7）ウシ血清由来 fetuin を終濃度 2mg/ml となるように添加し、*A. fumigatus* 培養結果の解析から、BSA 添加時に比べると明らかに血清添加時に近似した生育形態をとっていることが観察され、血清中の fetuin が生育促進に重要な役割を果たしていることを示した。

(8)変異株の血清型の変化、発育能の変化、コロニー形態の変化を確認した。産生されたバイオフィルムの厚さが野生株と比較して変異株では増加し、変異株において有意なバイオフィルム産生増加を認めた。

［宮﨑義継、山越　智、河野茂（長崎大学）、二木芳人（昭和大学）、小川賢二（国立病院機構東名古屋病院）、安藤常浩（東京日赤医療センター）、泉川公一（長崎大学）、亀井克彦（千葉大学）、渡邊浩（久留米大学）、大野秀明］

６．血液疾患に合併する真菌症の調査・解析

日本成人白血病治療共同研究グループ、東京移植コンソーシアム、Febrile Neutropenia 研究会との合同で「日本人血液疾患患者におけるアスペルギルス属およびその他の糸状菌類に

よる侵襲性真菌感染症についての疫学調査」に Central laboratory として参加し、糸状菌類の同定、薬剤感受性など真菌学的な面から調査・解析を行っている。

［宮﨑義継、大野秀明、大川原明子、山越　智、吉田　稔（帝京大学）］

７．質量顕微鏡を応用した感染病態の解明

C. albicans のバイオフィルム内の分子分布の変化を解析する目的で、質量顕微鏡による解析を開始し、解析条件を検討中である。また、腎症モデルマウスの腎臓内分子分布の解析で、正常と HIGA マウスの腎組織を質量顕微鏡で検討した結果、質量電荷比 844.6、856.7、859.7、868.6 など複数のピークを認め、また、正常と HIGA マウス間で分布に差があることが確認された。今後、これらのピークを同定するとともに、病因との関連を検索する。

［金子幸弘、小畑陽子（長崎大学）、早坂孝宏（浜松医科大学）、瀬藤光利（浜松医科大学）、河野茂（長崎大学）、宮﨑　義継］

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、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用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 243 検体の評価を行った。

［福山まり、矢守隆夫（癌研）、深澤秀輔］

２．新規抗ウイルス薬の探索と作用機序に関する研究

(１)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

JFH1 細胞感染系で天然物関連物質からなる化合物ライブラリーより IC_{50} が約 1.0 mg/ml 以下の HCV 阻害活性のある新規な物質を 7 個見いだした。これらをレプリコン細胞に作用させたところ、5 化合物はレプリコン細胞の NS5A レベルを減少させなかった。さらにこのうち 2 物質は、JFH1 感染系においては感染細胞内の HCV コア蛋白質の発現を低下させ、JFH1 の侵入時の前に添加すると強く阻害するのに侵入後に添加すると阻害作用が大きく減少していた。ウイルスの侵入過程を阻害すると考えられた。また、別の 2 物質は感染細胞内のコア蛋白質量をあまり減少させず、細胞内の HCV RNA も減少させずに細胞外の HCV RNA を減少させた。この 2 物質は主としてウイルス粒子放出過程が標的であると思われる。

［村上裕子、鈴木哲朗・脇田隆字（ウイルス第二部）、深澤秀輔］

（２）SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator)のＣ型肝炎ウイルス(HCV)の侵入阻害作用

既知の化合物ライブラリーより抗 HCV 阻害活性を示すものもいくつか見いだしていたが、このうちタモキシフェンについては、HCV の複製過程の他、侵入過程も阻害していることを見いだしたので、タモキシフェンおよび SERM についてさらに解析を続けている。

［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

持続性感染に関わるウイルスに対する抗ウイルス薬をめざした研究

抗 EB ウイルス剤の探索

昨年に引き続き構築した 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。さらに EMSA 法により 2 次スクリーングを行い阻害効果の高い 2 つの化合物の候補を得た。それらを用い EB ウイルスを保持する培養細胞 AKATA 細胞を用い *in vivo* での作用を検討したが、EBV ゲノムの維持への阻害効果は見ることができなかった。

［山越　智、橋本ゆき、村上裕子、深澤秀輔］

４. *C. albicans* の 14alpha-demethylase (14DM) の結晶化

チトクローム P450 酵素は重要なタンパク群で、真菌においてはアゾール系抗真菌薬の標的酵素であり、ヒトでは多くの

薬剤やプロドラッグの代謝に関与し、また様々な疾患を引き起こす因子にもなっている。14DM を結晶化し、構造に立脚したドラッグデザインの可能性を視野に入れ、出芽酵母細胞 AD1-8u-株に *C. albicans* の 14DM をクローニングして 14DM を過剰発現させた。菌を大量培養し、粗細胞膜を分画可溶化後、Ni-agarose 樹脂を用いてアフィニティー精製し、セファデックスカラムに通して Ca14DM タンパクを精製した。現在、精製 Ca14DM タンパクを種々の緩衝液と組み合わせて Ca14DM タンパクの結晶化に最適の条件を模索している。

［新見昌一、Erwin Lamping, Richard D. Cannon, Brian C. Monk（オタゴ大学）］

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

⑴ 次世代シークエンサーを用いた有用遺伝子の探索

次世代シークエンサーを用いて *Nocardia brasiliensis* IFM 0406 のゲノムスキャニングを行った結果、生物活性物質の生合成遺伝子の一部と考えられるポリケチド合成酵素遺伝子、非リボゾーム性ペプチド合成酵素遺伝子、シトクロム P450 遺伝子などの断片が多数見出され、本法が有用遺伝子探索に有効であることが示された。

［石川　淳、黒田　誠、関塚剛史（ゲノムセンター）］

⑵ Mutasynthesis を用いた nocobactin アナログの生産

Nocardia farcinica IFM 10152 株の生産する nocobactin の生合成遺伝子クラスターのうち、スターターユニットであるサリチル酸生合成遺伝子の破壊株を用いて mutasynthesis を行った。サリチル酸アナログの化合物を添加して培養を行った結果、十数種類の非天然型化合物の生産が確認された。さらに、それらのうち 5 種類のアナログ化合物添加の培養液から非天然型化合物を精製した。今後得られた化合物の生物活性の検討を行う。

［星野泰隆、石川　淳］

⑶ リファマイシン類のリファンピシンモノオキシゲナーゼによる変換

N. farcinica IFM 10152 株のリファンピシンモノオキシゲナーゼ（Rox）を大腸菌にて発現させ、リファマイシン類（リファマイシン SV、リファブチンおよびリファペンチン）の変換反応を行い、HPLC により変換反応が進むことを確認した。リファマイシン SV においては、変換反応によって得られた化合物の質量分析の結果から、分子量が 16 増加しており、1 個の酸素原子が付加されていることが示唆され、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、深井俊夫（横浜薬科大）、石川　淳］

⑷ リファンピシン（RIF）変換物のヒト薬物代謝酵素シトクロム P450 の誘導能

RIF モノオキシゲナーゼ（Rox）によって変換された RIF 変換化合物の、ヒト薬物代謝酵素であるシトクロム P450 の誘導活性の検討を行った。ヒト肝癌由来の細胞株 FLCs（Functional Liver Cells）を用いて RT-PCR により検出を行った結果、RIF 変換化合物およびリファブチンで CYP3A4、CYP2C9 および CYP2C19 を誘導する活性が認められた。今後、mRNA の発現量の比較の検討を行う。

［星野泰隆、石川　淳］

⑸ Nocobactin の病原性への関与

N. farcinica IFM 10152 の野生株は、J774A.1 細胞に対し細胞障害性を示すが、nocobactin 生合成遺伝子（*nbt*）破壊株は細胞障害性が低下することを見出した。そこで、nocobactin の病原性への関与を検討するため、マウス感染実験を行なった結果、*nbtE* 破壊株は野生株で認められたマウス致死性を認めず、*nbtE* 破壊株感染マウスには腎病変すら認められなかった。以上の結果は、nocobactin がノカルジアの病原性に関与することを示しており、nocobactin 生合成経路がノカルジア症治療のターゲットとなる可能性を示唆している。

［石野敬子、平井明香（動物管理室）、石川　淳］

⑹ *N. farcinica* におけるリゾチーム耐性の病原性への関与

Nocardia および近縁細菌はリゾチームに対し高度に耐性であるが、この形質の病原性への関与を解析するために、*N. farcinica* IFM 10152 株のリゾチーム感受性変異株を取得した。変異株は、リゾチームを多く生産することで知られるマウスマクロファージ様細胞 J774A.1 に対する細胞障害性が野生株より約 20%減じていた。一方、低 pH や過酸化水素への感受性

は野生株と同等であった。したがって、変異株の細胞障害性の低下は、リゾチーム感受性化に伴うものと考えられ、リゾチーム耐性をもたらす経路は、*Nocardia* および近縁細菌による感染症の治療薬ターゲットとなる可能性が示唆された。

［渋谷健太、石野敬子、石川　淳］

２．薬剤耐性機構に関する研究

⑴ *N. farcinica* のアリルアミンアセチル化酵素のイソニアジド耐性への関与

N. farcinica IFM 10152 株のアリルアミンアセチル化酵素（Nfa18420）はイソニアジド（INH）をアセチル化することから、本菌の INH 耐性への関与が示唆された。そこで、*nfa18420* 遺伝子の破壊を行ったが、野生株と破壊株の INH 耐性に差はなく、本菌の INH 耐性は Nfa18420 に依らないことが明らかになった。

［藤井匠子、石川　淳］

⑵ *N. farcinica* のリファンピシン（RIF）モノオキシゲナーゼの RIF 耐性への関与

N. farcinica IFM 10152 株の RIF モノオキシゲナーゼ（Rox）は、RIF に酸素付加を行うことから、本菌の RIF 耐性への関与が示唆された。そこで、*rox* 遺伝子の破壊を行ったが、野生株と破壊株の耐性に差はなく、本菌株の RIF 耐性は主に RNA ポリメラーゼβサブユニット遺伝子のパラログである *rpoB2* 遺伝子が担うものと考えられた。しかし、*rpoB2* の破壊株に *rox* 遺伝子を過剰発現させると RIF 耐性を示したことから、*rox* 遺伝子も本菌の RIF 耐性の一翼を担っていることが示唆された。

［藤井匠子、星野泰隆、石川　淳］

⑶ *N. farcinica* の薬剤耐性トランスポーター遺伝子の探索

N. farcinica IFM 10152 株の MFS 型トランスポーター遺伝子のうち、15 遺伝子を *E. coli* で発現させた結果、1 遺伝子がクロラムフェニコールおよびキノロン耐性を付与し、5 遺伝子がアクリフラビン耐性を付与することが明らかとなった。

［石川　淳、斉藤文子、今井　学］

真菌症レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に対する相談業務などを行った。おもな内容として、真菌症疑いならびに診断困難例等の臨床検体からの真菌検出および血清診断が 18 件 38 検体、培養真菌の同定不能例における菌種同定業務など 37 件、環境真菌調査など行政検査 3 件、感染症相談件数 3 件であった。

［大野秀明、金子幸弘、大川原明子、山越　智、宮﨑義継］

品質管理に関する業務

収去検査による抗生物質医薬品の力価試験

今年度は、抗生物質医薬品２品目１６ロット（セフテラムピボキシル錠剤２ロット細粒６ロット、および注射用セフピロム硫酸塩８ロット）について力価試験を担当し、日局各条収載の液体クロマトグラフィー法に準拠した定量法により行った。収去品はすべて規定の含有量を示し「適合」と判定された。

［村上裕子、石野敬子、石川淳、星野泰隆、金子幸弘、深澤秀輔］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kakeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yanagihara K, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis. Antimicrob Agents Chemother. 52: 1868-1870, 2008.

2) Kakeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in a murine model of systemic cryptococcosis. Antimicrob Agents Chemother. 52: 1871-1872, 2008.

3) Izumikawa K, Zhao Y, Motoshima K, Takazono T, Saijo T, Kurihara S, Nakamura S, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Hayashi T, Kohno S. A

case of pulmonary cryptococcosis followed by pleuritis in an apparently immunocompetent patient during fluconazole treatment. Med Mycol. 46: 595-599, 2008.

4) Hirakata Y, Yanagihara K, Kurihara S, Izumikawa K, Seki M, Miyazaki Y, Kohno S. Comparison of usefulness of plasma procalcitonin and C-reactive protein measurements for estimation of severity in adults with community-acquired pneumonia. Diagn Microbiol Infect Dis. 61: 170-174, 2008.

5) Ishimoto H, Yanagihara K, Araki N, Mukae H, Sakamoto N, Izumikawa K, Seki M, Miyazaki Y, Hirakata Y, Mizuta Y, Yasuda K, Kohno S. Single-cell observation of phagocytosis by human blood dendritic cells. Jpn J Infect Dis. 61: 294-297, 2008.

6) Saijo T, Izumikawa K, Takazono T, Kosai K, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Fukushima K, Kohno S. A case of Legionella pneumophila pneumonia followed by invasive aspergillosis. Jpn J Infect Dis. 61: 379-381, 2008.

7) Nakamura S, Higashiyama Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mizuta Y, Kohno S. The roles of the quorum-sensing system in the release of extracellular DNA, lipopolysaccharide, and membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa*. Jpn J Infect Dis. 61: 375-378, 2008.

8) Nakamura S, Yanagihara K, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Miyazaki Y, Suyama N, Kohno S. Severe pulmonary tuberculosis complicating Ileocecal intussusception due to intestinal tuberculosis: a case report. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 7: 16, 2008.

9) Ohno H, Matsuo N, Suyama N, Nagayoshi Y, Kohara N, Kazumi Y, Miyazaki Y, Kohno S. The first surgical treatment case of pulmonary *Mycobacterium malmoense* infection in Japan. Intern Med. 47: 2187-2190, 2008.

10) Lamping E, Ranchod A, Nakamura K, Tyndall JD, Niimi K, Holmes AR, Niimi M, Cannon RD. Abc1p is a multidrug efflux transporter that tips the balance in favor of innate azole resistance in *Candida krusei*. Antimicrob Agents Chemother. 53: 354-369, 2009.

11) Holmes AR, Lin YH, Niimi K, Lamping E, Keniya M, Niimi M, Tanabe K, Monk BC, Cannon RD. ABC transporter Cdr1p contributes more than Cdr2p does to fluconazole efflux in fluconazole-resistant *Candida albicans* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother. 52: 3851-3862, 2008.

12) Hanaoka N, Takano Y, Shibuya K, Fugo H, Uehara Y, Niimi M. Identification of the putative protein phosphatase gene PTC1 as a virulence-related gene using a silkworm model of *Candida albicans* infection. Eukaryot Cell. 7: 1640-1648, 2008.

13) Kikuchi K, Sugita T, Makimura K, Urata K, Someya T, Sasaki T, Kamei K, Niimi M, Hiramatsu K, Uehara Y. Is *Histoplasma capsulatum* a native inhabitant of Japan? Microbiol Immunol. 52: 455-459, 2008.

14) Li Z, Umeyama T, Wang CC. The chromosomal passenger complex and a mitotic kinesin interact with the Tousled-like kinase in trypanosomes to regulate mitosis and cytokinesis. PLoS One. 3: e3814, 2008.

15) Umeyama T, Wang CC. Polo-like kinase is expressed in S/G2/M phase and associated with the flagellum attachment zone in both procyclic and bloodstream forms of *Trypanosoma brucei*. Eukaryot Cell. 7: 1582-1590, 2008.

16) Urano E, Kariya Y, Futahashi Y, Ichikawa R, Hamatake M, Fukazawa H, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi Y, Yamamoto N, Komano J. Identification of the P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 as an inhibitor of HIV-1 replication by functional cDNA library screening in MT-4 cells. FEBS Lett. 582: 4053-4058, 2008.

17) Urano E, Shimizu S, Futahashi Y, Hamatake M, Morikawa Y, Takahashi N, Fukazawa H, Yamamoto N, Komano J. Cyclin K/CPR4 inhibits primate lentiviral replication by inactivating

Tat/positive transcription elongation factor b-dependent long terminal repeat transcription. AIDS. 22: 1081-1083, 2008.

18) Ogasawara Y, Kaya H, Hiraoka G, Yumoto F, Kimura S, Kadota Y, Hishinuma H, Senzaki E, Yamagoe S, Nagata K, Nara M, Suzuki K, Tanokura M, Kuchitsu K. Synergistic activation of the Arabidopsis NADPH oxidase AtrbohD by Ca2+ and phosphorylation. J Biol Chem. 283: 8885-8892, 2008.

19) Okumura A, Nagao R, Suzuki T, Yamagoe S, Iwai M, Nakazato K, Enami I. A novel protein in Photosystem II of a diatom Chaetoceros gracilis is one of the extrinsic proteins located on lumenal side and directly associates with PSII core components. Biochim Biophys Acta. 1777: 1545-1551, 2008.

20) 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. Int J Cardiol. 128: 114-116, 2008.

21) Ohnishi Y, Ishikawa J, Hara H, Suzuki H, Ikenoya M, Ikeda H, Yamashita A, Hattori M, Horinouchi S. Genome sequence of the streptomycin-producing microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350. J Bacteriol. 190: 4050-4060, 2008.

22) Hiratsuka T, Furihata K, Ishikawa J, Yamashita H, Itoh N, Seto H, Dairi T. An alternative menaquinone biosynthetic pathway operating in microorganisms. Science. 321: 1670-1673, 2008.

23) Ishikawa J. Genome analysis system for actinomycetes: development and application. Actinomycetologica. 22: 46-49, 2008.

24)Adachi, H., Kondo, K., Kojima, F., Umezawa, Y., Ishino, K., Hotta K., Nishimura, Y and Akamatsu, Y.: Structure-activity relationship study of 8-amino-2,8-dideoxy-β KDO, a potent CMP-KDO synthetase inhibitor. Lett. Drug. Des. Discov. 5:336-339, 2008.

2. 和文発表

1) 宮﨑義継：総説「深在性真菌症治療と最近の動向」医歯薬出版　Medical Technology 36(7): 691-694, 2008.

2) 宮﨑義継、河野　茂：その他の感染症　1．真菌症, 大関武彦、近藤直実　編, 小児科学第三版, 医学書院, 東京, p8015-817, 2008.

3) 宮﨑義継：国立感染症研究所　生物活性物質部の紹介　深在性真菌症―SFI Forum 第4巻, メディカルビュー社, 東京, p49－50, 2008.

4) 宮﨑義継：この症例に，この処方―各種抗菌薬の実際的な使いかた―　抗真菌薬　Medical Practice 25 巻, 文光堂, 東京, p877-880, 2008.

5) 宮﨑義継：クリプトコッカス症, 山口恵三、戸塚恭一　編, KEY WORD 感染症　第2版, 先端医学社, 東京, p 50-51, 2008.

6) 宮﨑義継：感染症呼吸器疾患　真菌感染症　ニューモシスチス肺炎　別冊日本臨床　新領域別症候群シリーズ　No.8, 呼吸器症候群（第2版）　I　－その他の呼吸器疾患を含めて－　日本臨床社, 東京, p162-164, 2008.

7) 大野秀明、宮﨑義継：ヒストプラズマ症　呼吸器科 15: 57-63, 2009.

8) 田辺公一、新見京子、新見昌一：病原真菌の薬剤耐性に関する新しい分子機構　日本臨床 66, 2008-2012, 2008.

9) 奥村彰規、山越　智：マウスコラーゲン関節炎における LECT2(leukocyte cell-derived chemotaxin 2)の役割の解析. リウマチ科, 41, 71-79, 2009.

10) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会（高嶋哲也、御手洗聡、阿部千代治、大野秀明、桶谷典弘、鎌田有珠、竹山博泰、中島一光、樋口武史、小栗豊子、斎藤　肇、長沢光章、塩谷隆信）：抗酸菌検査の精度保証(6)－抗酸菌検査施設を対象とした結核菌薬剤感受性試験の外部精度評価―. 結核 83: 799-801, 2008.

11) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会（高嶋哲也、御手洗聡、阿部千代治、大野秀明、桶谷典弘、鎌田有珠、竹山博泰、中島一光、樋口武史、小栗豊子、斎藤　肇、長沢光章、塩谷隆信）：抗酸菌検査の精度保証(5)－抗酸菌検査施設を対象とした結核菌薬剤感受性試験の外部精度評価―. 結核 83: 729-730, 2008.

12) 大野秀明：抗酸菌が陽性ならば. レジデントのための呼吸器診療マニュアル（河野　茂、早田　宏編）. 医学書院, p51-63, 東京, 2008.

13) 大野秀明：各種迅速検査法　抗酸菌感染症感染症迅速検査

アップデート. Medical Technology 36: 1371-1378, 2008.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Miyazaki Y. Cryptococcosis in Japan. 7th International Conference on cryptococcus and Cryptococcosis. September 11-14, 2008, Nagasaki.

2) Miyazaki Y. Experiences of Voriconazole Treatment against Pulmonary Cryptococcosis. *Cryptococcus neoformans* AFR2 and MDR1 are ABC-type multidrug efflux transporters able to pump azoles and many other xenobiotics. 7th International Conference on cryptococcus and Cryptococcosis. September 11-14, 2008, Nagasaki.

3) Miyazaki Y. Overview of current invasive fungal infections focusing on aspergillosis, candidiasis, and Japanese situations. 9th Nagasaki-Singapore Medical Symposium on Infectious Diseases, October 10-11, 2008, Nagasaki.

4) Niimi M. Molecular basis of antifungal resistance in pathogenic fungi. 15th Academic Congress of Korean Society for Medical Mycology. June 21, 2008, Seoul, Korea (Invited speaker)

5) Lamping E, Nakamura K, Tanabe K, Niimi K, Holmes AR, Takano Y, Miyazaki Y, Cannon RD and Niimi M. *Cryptococcus neoformans AFR2* and *MDR1* are ABC-type multidrug efflux transporters able to pump azoles and many other xenobiotics. 7th International Conference on *Cryptococcus* and Cryptococcosis. September 11-14, 2008, Nagasaki.

6) Umeyama T and Wang CC: Spatial and temporal regulation of Polo-like kinase in both procyclic and bloodstream *Trypanosoma brucei* 19th Molecular Parasitology Meeting. September, 2008, MA, USA.

7) Hoshino Y., Chiba K., Fukai T., Igarashi Y., Ishino K and Ishikawa J. Identification of two gene clusters for nocobactin biosynthesis in *Nocardia farcinica*. UK-Japan Workshop on Genomics of Antibiotic-producing Actinomycetes: Implications and Applications. October 31-November 1, 2008, Tokyo.

2. 国内学会

1) 宮﨑義継：深在性真菌症のエビデンス、その意義と限界 第82回日本感染症学会総会　平成20年4月17-18日、松江

2) 宮﨑義継：日米ガイドラインからみた重症感染症戦略-真菌症　第48回日本呼吸器学会学術講演会　平成20年6月15-17日、神戸

3) 宮﨑義継：Japanese Practical Guideline for deep-seated fungal infectious diseases-focusing on differences from EORTC/MSG & IDSA　第52回日本医真菌学会総会　平成20年9月10-11日、長崎

4) 宮﨑義継:多様な深在性真菌感染症の現況　衛生微生物技術協議会　第29回研究会　平成20年6月24-25日、東京

5) 宮﨑義継：新しい肺真菌症へのアプローチ　第30回　呼吸器感染症京都セミナー　平成20年9月20日　京都

6) 宮﨑義継：チーム医療で行う感染症学・化学療法学－あるアウトブレイクに対応する－　第57回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第55回日本化学療法学会東日本支部総会　合同学会ベーシックレクチャー　平成20年10月23-24日　大宮

7) 宮﨑義継:薬で治せる肺炎と治せない肺炎－細菌と真菌に対する化学療法の進歩－　慶応義塾大学薬学部公開講座　平成20年10月4日　東京

8) 新見昌一：病原真菌の生物学　衛生微生物技術協議会第29回研究会　平成20年6月24-25日 東京田辺公一、名木　稔、中山浩伸、知花博治、宮﨑義継、新見昌一 病原真菌ステロールトランスポーターの出芽酵母での発現解析　第5回真菌分子細胞研究会　平成20年8月21-22日　千葉

9) 名木　稔、田辺公一、臺由紀、高野幸枝、長沼芽衣、新見昌一、宮﨑義継：血清添加による *Candida albicans* のアゾール剤非感受性化メカニズムの解明 第5回真菌分子細胞研究会　平成20年8月21-22日　千葉

10) 中山浩伸、田辺公一、新見昌一：*Candida glabrata* を用いた抗真菌薬の標的の選出　—真菌のステロール恒常性のメカニズムの解明からのアプローチ—　第2回真菌ワープ研究会　平成20年8月23日、千葉

11) 田辺公一、中山浩伸、山越　智、知花博治、新見昌一、宮﨑義継：*Candida glabrata* ステロールトランスポーターのアゾール剤耐性化における役割　第52回日本医真菌学会総会　平成20年9月10-11日、長崎

12) 新見昌一、田辺公一、新見京子、Erwin Lamping, 高野幸枝, Ann R Holmes, Brian C Monk, Richard D Cannon：薬剤排出ポンプ阻害剤による真菌ABC輸送体の感受性化 第91回日本細菌学会関東支部総会　平成20年10月23-24日、千葉

13) 田辺公一、名木　稔、中山浩伸、山越　智、臺由紀、知花博治、新見昌一、宮﨑義継：*Candida glabrata* ステロールトランスポーターによるアゾール剤耐性化　第31回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会　平成20年12月9-12日、神戸

14) 田辺公一 、名木　稔、中山浩伸、知花博治、新見昌一、宮﨑義継：病原真菌 *Candida albicans* における血清によるアゾール系抗真菌薬耐性化　第 7 回　感染症沖縄フォーラム 平成21年2月12-14日、沖縄

15) 田辺公一、名木　稔、中山浩伸、知花博治、宮﨑義継、新見昌一:病原真菌におけるステロールの取り込みと薬剤耐性 第82回　細菌学会総会　平成21年3月12-14日、名古屋

16) 名木　稔、田辺公一、新見昌一、宮﨑義継:*Candida albicans* の血清添加によるアゾール剤耐性化メカニズムの解明 第82回　細菌学会総会　平成21年3月12-14日、名古屋

17) 新見昌一:耐性カンジダの基礎:抗真菌薬耐性のメカニズム　キャンディン研究会 平成21年3月14日、東京

18) 金子幸弘、柳原克紀、宮﨑義継、河野茂、Singh PK：緑膿菌によるバイオフィルム感染症に対するガリウム治療の試み　第82回日本感染症学会総会　平成20年4月17-18日、松江

19) 金子幸弘、宮﨑義継、柳原克紀、河野茂、Singh PK：難治性緑膿菌呼吸器感染症に対するガリウム治療の試み　第48回日本呼吸器学会学術講演会 平成20年 6月15-17日、神戸

20) 金子幸弘、大野秀明、今村圭文、河野茂、宮﨑義継:*Candida albicans* の biofilm に対するミカファンギンとボリコナゾール、アムホテリシンBとの併用効果　第52回医真菌学会　平成20年9月10-11日、長崎

21) 村上裕子、鈴木哲朗、脇田隆宇、深澤秀輔：細胞感染系を用いたスクリーニングにより見いだされた新規標的を持つ抗 HCV 物質の作用機構　第 56 回日本ウイルス学会学術集会　平成20年10月26-28日、岡山

22) 金子幸弘、柳原克紀、宮﨑義継、河野茂、 Singh PK：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43回緑膿菌感染症研究会（第5回奨励賞みのるメモリアル受賞講演）　平成21年2月6-7日、京都

23) 池田好美、鈴木岳之、深澤秀輔：Resorcylic acid lactone は細胞内で選択的に MEK-ERK 経路を阻害する　日本薬学会第129年会　平成21年3月26-28日、京都

24) 山越　智、橋本ゆき、大川原明子、田辺公一、新見昌一、大野秀明、宮﨑義継：シグナルシークエンストラップ法を用いた *Aspergillus fumigatus* の細胞表層および分泌蛋白質の網羅的同定の試み　第 52 回日本医真菌学会総会　平成20年9月10-11日、長崎

25) 大川原明子、山越　智、橋本ゆき、大野秀明、新見昌一、宮﨑義継：*C. albicans* 細胞壁表層のマンナン構造の違いによる初期免疫応答の解析　第 52 回日本医真菌学会総会　平成20年9月10-11日、長崎

26) 山越　智、橋本ゆき、大川原明子、田辺公一、新見昌一、大野秀明、宮﨑義継：SST-REX (signal sequence trap by retrovirus-mediated expression screening)法を用いた *Aspergillus fumigatus* の細胞表層および分泌蛋白質の網羅的同定　第 8 回糸状菌分子生物学コンファレンス　平成20年11月17-18日、金沢

27) 奥村彰規、大谷功、大川原明子、岩倉洋一郎、鈴木和男、山越 智：Suppressive Role of LECT2 in Mouse Anti-Type-II Collagen Antibody-Induced Arthritis　第38回日本免疫学会総会学術集会　平成 20 年 12 月 1-3 日、京都

28) 大野秀明：伝播に関連した真菌の基礎知識　第 70 回 ICD 講習会（第 52 回日本医真菌学会総会）　平成 20 年9月10-11日、長崎

29) 福島喜代康、江原尚美、掛屋　弘、大野秀明、迎　寛、齋藤　厚、河野　茂：QuantiFERON TB-2G を用いた潜在性結核感染の診断と治療の経験　第 83 回日本結核病学会総会　平成20年4月24-25日、東京

30) 江原尚美、福島喜代康、掛屋　弘、大野秀明、迎　寛、齋藤　厚、河野　茂:肺結核における全血QuantiFERON TB-2G と喀痰 PCR の比較検討　第83回日本結核病学会総会　平成20年4月24-25日、東京

31) 河野仁寿、朝永七枝、北崎　健、神田哲郎、大野秀明、河野　茂：ショック症状をきたした結核性心内膜炎の一例　第 83 回日本結核病学会総会　平成 20 年 4 月 24-25 日、東京

32) 河野仁寿、大野秀明、河野　茂 : 当院におけるクオンティフェロン TB-2G とツベルクリン反応の比較検討　第83回日本結核病学会総会　平成20年4月24-25日、東京

33) 福島喜代康、江原尚美、掛屋　弘、田代将人、大野秀明、迎　寛、齋藤　厚、河野　茂 : 肺抗酸菌症におけるQuantiFERON TB-2Gの臨床的検討　第82回日本感染症学会総会　平成20年4月17-18日、東京

34) 大野秀明 : シンポジウムI　分離された真菌の菌種決定法、衛生微生物研究協議会　第29回研究会　平成20年6月24-25日、東京

35) 石川 淳 : 放線菌のゲノム解析基盤技術の開発とその応用　第23回日本放線菌学会大会　平成20年7月10-11日、山梨

36) 藤井匠子、千葉和宏、石野敬子、星野泰隆、佐藤浩之、石川 淳 : 病原性放線菌 *Nocardia farcinica* におけるアミノ配糖体リン酸化酵素遺伝子の同定　第23回日本放線菌学会大会　平成20年7月10-11日、山梨

37) 平塚知成、降旗一夫、石川 淳、山下治之、伊藤伸哉、瀬戸治男、大利 徹 : 微生物に見出されたメナキノン新規生合成経路の解明　第23回日本放線菌学会大会　平成20年7月10-11日、山梨

38) 林 豊、松浦信康、戸嶋浩明、伊藤伸哉、石川 淳、三上 襄、大利 徹 : Brasilicardin A 生合成遺伝子群の取得　第23回日本放線菌学会大会　平成20年7月10-11日、山梨

39) 高木 海、高橋俊二、浦本昌和、橋爪大輔、豊田 敦、石川 淳、榊 佳之、長田裕之 : 放線菌 *Streptomyces reveromyceticus* 代謝物の系統的解析　第23回日本放線菌学会大会　平成20年7月10-11日、山梨

40) 石川 淳 : 放線菌のゲノム解析基盤技術の開発とその応用　平成20年度北里研究所学会賞受賞者特別講演会　平成21年1月30日、東京

41) 石川 淳、黒田 誠、関塚剛史、星野泰隆、三上 襄 : 次世代シークエンサーによる *Nocardia terpenica* のゲノム解析の試み　第3回日本ゲノム微生物学会年会　平成21年3月5-7日、東京

42) 平塚知成、降旗一夫、石川 淳、山下治之、伊藤伸哉、瀬戸治男、大利 徹 : 微生物に見出されたメナキノン新規生合成経路の解明　第3回日本ゲノム微生物学会年会　平成21年3月5-7日、東京

43) 渡邉ゆみ、市川夏子、中村早苗、片野葉子、來住絵美、小俣せいは、五味純子、笹川真稚、藤浪 俊、川越 暁、小口晃央、矢代 勲、安海明百、福井重広、橋本芳実、鎌田 幸、乙黒美彩、谷河 聡、池田治生、石川 淳、堀之内末治、大西康夫、早川正幸、仁平卓也、木谷 茂、葛山智久、有澤 章、野本史樹、三浦広美、高橋洋子、藤田信之 : 放線菌 *Kitasatospora setae* NBRC 14216^{T} のゲノム解析　―系統的位置関係と二次代謝産物関連遺伝子―　第3回日本ゲノム微生物学会年会　平成21年3月5-7日、東京

44) 石野敬子、千葉和宏、星野泰隆、石川 淳 : 病原性放線菌ノカルジアのシデロフォア生合成遺伝子の細胞障害性への関与　第82回日本細菌学会総会　平成21年3月12-14日、名古屋

45) 平塚知成、石川 淳、瀬戸治男、大利 徹 : 微生物に見出されたメナキノン新規生合成経路の解明 ―遺伝子探索と破壊実験―　日本農芸化学会2009年度大会　平成21年3月27-29日、福岡

１０.細胞化学部

部長　花田　賢太郎

概　要

細胞化学部の目的は､｢感染症その他の特定疾病に関する細胞化学的及び細胞生物学的研究に関することをつかさどる」ことであり、細菌、ウイルス、プリオン等の病原体による感染症の発症要因をその宿主細胞の面から解析する方向で研究に取り組んでいる。特に、病原体の感染とその生体防御の様々な局面において重要な役割を担っている宿主細胞膜の機能解明を当部の研究主軸にしている。更に、感染症の分子レベルからの基礎研究の成果に立脚して、疾病の予防、診断、治療のための応用研究も行っている。

当部での主要研究課題としている高等動物細胞の膜構造とその機能解析の遺伝生化学的･細胞生物学的研究は、感染症研究を含む医学・生物学分野での幅広い応用面を有する課題である。本年度も、志賀毒素の細胞感受性に関わる研究、志賀毒素とその受容体との相互作用に関する研究、オートファジーに関する研究、細胞内脂質輸送に関する研究、インフルエンザ感染と抗炎症性脂質に関する研究など、幅広い分野で成果を挙げた。

培養細胞系でのC型肝炎ウイルス感染において、高度不飽和脂肪酸酸化物のいくつかがウイルス生産を阻害し、また、コレステロール合成に関わるスクワレン合成酵素の阻害剤もウイルス産生を阻害することを見出した。

プリオン病に関する研究では、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から CRMP-2のC末端領域を欠失したアイソフォームが異常型プリオン PrP^{Sc} の蓄積に伴って増加することを明らかにし、それは翻訳後のタンパク質分解により生じることを示唆した。また､近交系マウスへの非定型ウシ海綿状脳症 (BSE) プリオン接種実験から非定型ウシ PrP^{Sc} は定型 PrP^{Sc} に比べてマウスへの感染力が低いことを明らかにした。なお当部では、平成 13 年 12 月からウェスタンブロティング法による BSE の行政検査を担当している。

また、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。

花田は、(独) 医薬品医療機器総合機構が行う医薬品 GLP 査察および医療機器 GLP 査察に対する評価委員の任もはたした。

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ウシ海綿状脳症 (BSE) プリオンの伝達

従来型および非定型BSEプリオン（*Jpn. J. Infect. Dis*., 60, 305 (2007)）の近交系マウス (C57、SJL、RIII) への感染実験を行った。初代伝播の結果、従来型BSEプリオン接種群は、接種後 260ー730 日目に脳などにおいて PrP^{Sc}が検出されたが、非定型接種群では長期観察後も PrP^{Sc}は検出できなかった。従来型BSEプリオンの２代目伝播では、潜伏期の短縮・収束が進み、プリオン株のマウスへの馴化が認められた。一方、非定型接種群の脳ホモジネートを２代目に'blind passage'したが、現在のところPrP^{Sc}は検出されていない。このように、非定型BSEプリオンは従来型と明らかに異なる。

［萩原健一、山河芳夫、原　英之、大内史子; 佐藤由子、佐多徹太郎（感染病理部）］

（２）ヒト変異型 CJD (vCJD) の霊長類モデルの研究；カニクイザルへの BSE の伝播に関する研究

BSE 罹患ウシ (BSE/JP6) の脳乳剤をカニクイザルに脳内接種 (３頭) した。その結果、２頭が約 28 ヶ月、１頭が 50 ヶ月後に驚愕、過敏などの神経症状を呈し、3ー６ヶ月の臨床期を経て起立不能となった (安楽殺)。いずれの個体にも BSE プリオンの PrP^{Sc} 糖鎖型の特徴 (＝４型糖鎖) を示す PrP^{Sc} が脳、脊髄に多量に認められ、座骨神経や正中神経などの末梢神経にも微量の PrP^{Sc} が検出された。脳の免疫組織化学所見では、PrP^{Sc} の一部が vCJD に特徴的な花弁状プラークとして蓄積していた。しかし、vCJD 患者で PrP^{Sc} 陽性となる脾臓、盲腸、扁桃およびリンパ節には PrP^{Sc} は認められず、この差異は感染ルート (脳内接種と経口感染) の違いによる可能性がある。

［山河芳夫、萩原健一; 佐藤由子、下ノ原望、飛梅実、佐多徹太郎（感染病理部）; 小野文子（予防衛生協会）;

寺尾恵司、柴田宏昭（基盤研　霊長類センター)］

（３）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) を接種したマウスの脳内プロテオーム解析を進め、CRMP-2 のＣ末端領域を欠失したアイソフォーム (CRMP-2-ΔC) が PrP^{Sc} の蓄積に伴って増加することを明らかにしてきた。今回、ノザンブロット分析を行った結果、CRMP-2-ΔC は遺伝子転写レベルでの alternative splicing ではなく翻訳後のタンパク質分解により生じると考えられる結果を得た。さらに、CRMP-2-ΔC、リン酸化型 CRMP-2 (不活性型)、非リン酸化型 CRMP-2 (活性型) を神経細胞 (初代培養) にそれぞれ強制発現させて比較したところ、CRMP-2-ΔC は非リン酸化型 CRMP-2 と同様に多分岐の神経突起を生じさせた。

［大内史子、萩原健一、山河芳夫］

（４）PrP^{C}→PrP^{Sc} 構造変換に関与する部位の探索

マウス・プリオンタンパク質（moPrP）のオクタペプチドリピート近傍（アミノ酸９残基）をニワトリ・PrP の対応配列で置換したキメラ PrP は、プリオン持続感染細胞 ScN2a に強制発現させても Proteinase K (PK) 抵抗性の PrP^{Sc} に変換されない。そこで、この９残基を置換した 18 種類の moPrP 変異体を作製し、PrP^{Sc} への変換に必須なアミノ酸を探索した。その結果、１残基の置換により PK 抵抗性が完全に消失することはなかったが、変換に重要な最小鎖長（３残基)を同定した。この３残基を含む領域は PrP^{Sc} の構造中で PrP 分子間の相互作用に関わることが以前より示唆されており、興味深い。この領域に存在する荷電アミノ酸の静電的相互作用が構造変換に関与している可能性が考えられ、現在、その詳細を解析中である。

［原英之、中村優子、萩原健一］

（５）プリオンへの感染におけるガングリオシドの役割の解析

複合ガングリオシドの欠損がプリオン病の病態に如何なる影響を与えるかという点を検討するため、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、観察を続けた。その結果、野生型マウスの潜伏期間と比較して、２系統のノックアウト・マウスでの潜伏期は同程度あるいはやや短期であることがわかった。GM2/GD2 合成酵素ノックアウトマウスでは、終末期の小脳顆粒細胞層の空胞化が目立った。

［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）ミエリン糖脂質の欠損マウスでのプリオン病の病態解析

ミエリンはガラクトシルセラミド（GalCer）などの糖脂質に富み、遺伝子改変によりGalCerを欠くマウスはミエリン−軸索間の相互作用の異常をきたすことが知られている。プリオン感染動物では神経細胞から神経細胞へ軸索を経由して病原体が伝わり感染細胞が増大すると考えられているが、この過程でのミエリンの関与については不明な点が多い。そこでこの疑問に対するヒントを得るべく、GalCer合成酵素ノックアウト・マウスにスクレイピー病原体（Obihiro I株）を接種し、現在、経過を観察中である。

［原英之、萩原健一、山河芳夫、大内史子、花田賢太郎］

（７）血液のプロテオーム解析のためのタンパク質の簡便な分画法と定量法の検討

アルブミンや免疫グロブリンなど血液に多量に常在するタンパク質群は、血液のプロテオーム解析の妨げとなる。本年度は、複数の抗体を充填した multi-affinity column (Proteome Lab: Beckmann) による常在タンパク質の除去と液相等電点電気泳動 (zoom IEF Fractionator) を組み合わせた血清タンパク質の簡便な分画方法を検討した。また、ペプチド C−末端 O^{18} 導入試薬 (Proteome Profiler O Enymatic Labeling Kit: SIGMA) を用いるタンパク質の半定量法についても検討した。その結果、これらの方法は血清のプロテオーム解析に有効であることがわかった。

［大内史子、萩原健一、山河芳夫］

（８）異常型プリオンタンパク質（PrP^{Sc}）の細胞間伝播におけるイノシトールリン脂質の役割の解明

イノシトールリン脂質群は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。我々はイノシトールリン脂質群の変動が PrP^{Sc} の細胞間伝播に及ぼす影響を解析する目的で、今年度は共培養系を用いて PrP^{Sc} を効率的に伝播する *in vitro* 実験系を開発した。本実験系では PrP^{Sc} 持続感染株 ScN2a 細胞から N2a 細胞への PrP^{Sc} 伝播が 7 日で検出可能である。現在はイノシトールリン脂質代謝酵素群を中心として様々なエフェクター分子群の発現・阻害を分子生物学的手法によって行い、これらが PrP^{Sc} 伝播に与える影響を検討している。

［田中正彦、前濱朝彦、原英之、萩原健一、花田賢太郎］

II．オートファジーに関わる研究

（1）ヒトケラチノサイト形成におけるオートファジー因子 LC3-II の変化

ヒトにおいて、正常な表皮形成は感染症を含む様々な外界因子にたいする第 1 次生体防御に必須である。そこで、ヒト培養ケラチノサイトを用いて、ケラチノサイト成熟におけるオートファジー因子 LC3 の修飾について調べた。その結果、ケラチノサイトが成熟し、脱核していく過程で、LC3-II が著しく上昇している事が明らかになった。ヒト正常上皮組織と、乾癬患者上皮組織について、抗 LC3 抗体を用いた免疫染色をおこなうと、正常皮膚では顆粒層に LC3 が陽性となり、乾癬患者皮膚では、LC3 の量が著しく減少していた。

［春名邦隆、須賀康（順天堂大院医）；谷田以誠、花田賢太郎］

（2）新規カテプシン L 阻害剤のオートファジーにおける役割

カテプシンはリソソームにあるプロテアーゼであり、カテプシン B, D, L がリソソーム内タンパク分解をになう。オートファジー誘導時にも最終段階でのタンパク分解にはこれらカテプシンが関与している。これまでカテプシン L に特異的な阻害剤がなく、カテプシン L によるオートファジーによるタンパク分解の寄与は不明であった。新規カテプシン L 阻害剤、CAA0225、を用いて、オートファジーのマーカータンパク質の分解に関与していることを示した。

［高橋 勝幸、上野　隆、木南英紀（順天堂大院医）；谷田以誠］

（3）腫瘍抑制因子 PTEN とオートファジーの解析

PTEN は腫瘍抑制因子であり、肝臓特異的 PTEN ノックアウトマウスは脂肪肝になり、最終的には腫瘍形成が促進される。HCV による脂肪滴の重要性、およびＣ型肝炎による腫瘍形成機序を考えると PTEN 欠損による脂肪滴形成促進の機序を解明することは非常に意義深い。PTEN の下流には mTor キナーゼ、オートファジーが関与していることから、今回 PTEN ノックアウトによるオートファジー制御の破綻について解析した。その結果、PTEN 欠失肝細胞においてはオートファジーがおこらず、興味深いことに、オートファジーマーカーの LC3-II の脂質化はおこっていた。

［上野　隆、渡辺純夫、木南英紀（順天堂大院医）；小松雅明（臨床研）；谷田以誠］

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）志賀毒素耐性遺伝子に関する研究

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、最終的に細胞死を引き起こす。前年度は HeLa 細胞を親株として志賀毒素に耐性を示す遺伝子のスクリーニングを行い、2 種類の耐性遺伝子を得ることに成功している。そのうち 1 つは複数回膜貫通タンパクの C 末端側をコードしており、今年度はさらにこの遺伝子の作用機構解明を進めた。この遺伝子は哺乳動物細胞においてホモログがいくつか存在し(ファミリーを形成)、それぞれ全長と C 末端をそれぞれ発現させたところ、いくつかの遺伝子あるいはその C 末端において Gb3 の合成低下とそれに伴う志賀毒素に対する耐性を示した。また Gb3 合成酵素の mRNA の低下は見られなかったことより、この作用点は転写以降であることが示唆された。

[山地俊之、花田賢太郎; 西川喜代孝（同志社大・生命医科学）]

（2）局在プラズモン共鳴法による糖鎖と毒素の相互作用解析

局在プラズモン共鳴法(localized surface plasmon resonance; LSPR)を用いた糖鎖と毒素との結合反応検出のモデル系としてグロボトリアオシルセラミド(Gb3)型糖鎖と志賀毒素 B サブユニット(SLT-B)を用いて検証を行った。様々な条件を検討後、LSPR 解析で得られた Gb3 型糖鎖と SLT-B との Kd 値は、Biacore SPR 解析から得られた Kd 値と同じオーダーであった。よって、LSPR デバイスは糖鎖と毒素の相互作用を解析するのに有用と考えられる。

［今井智子、山地俊之、花田賢太郎；岩城正昭（細菌第二部）］

２．Ｃ型肝炎ウイルス(HCV)に関する研究

（１）HCV 粒子産生におけるオートファジーの関与

HCV 感染・粒子産生におけるオートファジーの関与について、解析をおこなった。HCV 感染後、オートファジーに必須の遺伝子、Atg7 および Beclin1、を RNAi 法でノックダウンしたところ、細胞外に放出された HCV 粒子の量が有意に減少していた。このときに、細胞内の HCV mRNA，NS5A，NS3, core 蛋白質の量、および細胞の生存率はノックダウン細胞とコントロール細胞で差がなかった。また、アルブミンの分泌にも影響がなかった。このことから、オートファジーは HCV 粒子のアセンブリあるいは産生に関与していることが示唆された。

［谷田以誠、深澤征義、花田賢太郎；脇田隆宇（ウイルス第二部）］

（２）HCV 感染細胞の脂肪滴へのオートファジー因子 LC3 の局在性について

オートファジーの際に、オートファゴソームに局在する LC3-II（LC3−リン脂質結合体）は、近年、脂肪滴にも局在することが報告された。HCV 感染した Huh-7 細胞においては脂肪滴形成がおこり、脂肪滴は HCV 粒子の感染性に関与する。オートファジー活性の減少が HCV 粒子産生を低下させることから、HCV 感染による脂肪滴に LC3-II が局在するかどうかを調べた。その結果、HCV 感染により LC3-II の形成は促進されるが、細胞内 LC3-II が脂肪滴、HCV core、NS5A いずれとも共局在しなかった。部分的な共局在の可能性があるので今後の検討を要する。

［谷田以誠、深澤征義、花田賢太郎；脇田隆宇（ウイルス第二部）］

（３）HCV に耐性を有する Huh7.5.1 由来細胞株の分離

HCV に高感染性を示す Huh7.5.1 細胞を親株として、HCV に感染しない宿主細胞変異株の分離を試みた。スクリーニングには、HCV（JFH1 株）の宿主細胞に対する細胞障害能を利用した。複数の株が樹立され、CD81 欠損株、claudin1 欠損株が含まれていることがわかった。また、欠損分子が未知のものも存在している。これら分離された HCV 非感染細胞株を詳細に解析することで、細胞内での HCV ライフサイクルに重要な新規宿主因子・メカニズムが明らかにされるものと考えている。

［深澤征義、花田賢太郎；西島正弘（医薬品食品衛生研）；鈴木哲朗、脇田隆宇（ウイルス第二部）］

（４）HCV 産生の高度不飽和脂肪酸酸化物による阻害

HCV 感染に対する治療薬はインターフェロン（インターフェロン＋リバビリン）のみが現在用いられ、効果・副作用の観点から新たな治療薬の開発が求められている。我々は培養細胞を用いた HCV 感染系において、各種高度不飽和脂肪酸代謝物の効果を検討した結果、8,15-diHETE、11,12-EpETE 等が有意に HCV 産生を阻害することを見いだした。

［深澤征義、花田賢太郎；西島正弘（医薬品食品衛生研）；鈴木哲朗、脇田隆宇（ウイルス第二部）；有田誠（東大・薬）］

（５）　スクワレン合成酵素を標的とした HCV 産生阻害

我々は、HCV の増殖過程におけるコレステロール生合成経路の重要性についての手がかりを得る目的で、コレステロール生合成系を担うスクワレン合成酵素（SQS）の阻害剤が HCV の増殖に及ぼす効果を解析した。その結果、SQS 阻害剤が培養細胞における HCV の産生を有意に阻害することを見出した。SQS 阻害剤がどの HCV 増殖過程を阻害するのかについて、解析を進めている。

[齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎；鈴木哲朗、相崎英樹、脇田隆宇（ウイルス第二部）；西島正弘（医薬品食品衛生研）]

（６）　HCV NS4B 蛋白質発現誘導細胞の構築

HCV の NS4B 蛋白質は、ウイルス RNA 複製の場と考えられている membranous web という膜構造を誘導する蛋白質である。我々は、NS4B 蛋白質が membranous web を誘導する機構についての手がかりを得るために、同蛋白質に結合する細胞因子の同定を目指している。ドキシサイクリン発現誘導ベクターを用いて、HA タグを付加した NS4B 蛋白質(HA-NS4B)の cDNA を Huh7 細胞に導入した。発現が誘導された蛋白質を抗 HA 抗体により免疫沈降して質量分析を行い、HA-NS4B 蛋白質であることを確認した。今後、同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、大内史子、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）mTOR 活性化制御機構の解明

細胞は外環境の変化、特に栄養素状態を感知して、変

化に応答した細胞機能の調節を行っている。mTOR は細胞の栄養素感知において重要な役割を担うキナーゼであるが、その活性制御機構には不明な点が多い。今回我々は遊離アミノ酸に応答した mTOR 活性化に細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇およびカルモジュリンの存在が必須であることを見いだした。また、Mn^{2+}および Zn^{2+}が細胞外栄養素に依存せずに mTOR を活性化すること、この mTOR 活性化がカルモジュリンに依存することを新たに見いだした。現在は、細胞外栄養素に応答した細胞内 Ca^{2+}濃度上昇の分子機構の解析およびCa^{2+}による mTOR 活性制御機構の解析を行っている。

［前濱朝彦、花田賢太郎］

Ｖ．細胞内セラミド輸送に関する研究

（１）CERT のリン酸化制御

セラミド輸送蛋白質 CERT は、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る。この現象はスフィンゴミエリン量を回復させるためのフィードバック機構であると理解されているが、その詳細については不明な点が多い。スフィンゴミエリナーゼ処理時に CERT の各種変異体のリン酸化状態を調べたところ、ホスファチジルイノシトール４−一リン酸(PI4P)への結合能を欠いた G67E 変異体で、脱リン酸化が起こりにくくなっていることが判明した。また、この時、細胞内の PI4P の量は変動していなかった。CERT が脱リン酸化されるためには PI4P への結合能が必要であることが明らかとなった。

［熊谷圭悟、花田賢太郎］

（２）CKIγ2 による CERT のリン酸化

小胞体からゴルジ体へのセラミド輸送を担う蛋白質 CERT が、CKIγ2 高発現 CHO 細胞では多重リン酸化状態になる。CKI はプライミングリン酸化を受けたセリン・スレオニン残基または酸性アミノ酸クラスターの３アミノ酸下流のセリン・スレオニン残基をリン酸化する。哺乳動物細胞で発現させ免疫沈降法で精製した CKIγ2 およびプライミングリン酸化が起こると考えられるセリンをアスパラギン酸３つに置き換えた変異体 CERT を大腸菌で発現させ精製したものを ATP 存在下に保温すると CERT が効率よくリン酸化された。よって、CERT は CKIγ2 の基質であると考えられた。

［冨重斉生、花田賢太郎］

（３）CKIγ2 のノックダウンと CERT のリン酸化

HeLa S3 細胞において、RNA 干渉法により内在性の CKIγ2 mRNA レベルを低下させると CERT の多重リン酸化型が低リン酸化型へと移行した。CKIγ2 の他のアイソフォームである CKIγ1 および CKIγ3 のノックダウンでは CERT のリン酸化状態にほとんど変化がなかった。これらの結果から、CKIγ2 は少なくとも HeLa 細胞において CERT の機能を負に制御する多重リン酸化に関わることが明らかとなった。

［冨重斉生、花田賢太郎］

ＶＩ．インフルエンザ感染と抗炎症性脂質に関する研究

（１）n-3 脂肪酸がインフルエンザ感染に与える影響

炎症後期に n-3 系列脂肪酸から合成される炎症性脂質メディエーターには抗炎症的に作用する分子が多いことが知られている。線虫の fat-1 遺伝子を組み込んだトランスジェニック（TG）マウスは体内で n-3 脂肪酸が著しく増加するが、この TG マウスをインフルエンザウイルスに感染させ、通常マウスとの違いを解析した。通常マウスは感染１０日目前後で回復を始めるが、TG マウスは回復することなく死亡した。過剰な量の n-3 脂肪酸がインフルエンザウイルスの除去を妨げると推測された。

［熊谷圭悟、花田賢太郎；山本紀一（免疫部）；有田誠（東大・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：　平成２０年４月１日ー平成２１年３月３１日

検体数：　ウシ１件４検体（うち０検体陽性）

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 132 時間 (Voyager-DE STR) および約 144 時間 (AXIMA-QIT) であった。

［大内史子、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) Okemoto-Nakamura, Y., Yamakawa, Y., Hanada, K. Tanaka, K., Miura, M., Tanida, I., Nishijima, M., Hagiwara, K..: A synthetic fibril peptide promotes clearance of scrapie prion protein by lysosomal degradation. Microbiol. Immunol. 52, 357-365, 2008

2) Masujin, K., Shu, Y., Yamakawa, Y., Hagiwara, K., Sata, T., Matsuura, Y., Iwamaru, Y., Imamura, M., Okada, H., Mohri, S., Yokoyama, T.: Biological and biochemical characterization of L-type-like bovine spongiform encephalopathy (BSE) detected in Japanese black beef cattle. Prion 2, 123-128, 2008

3) Katadae, M., Hagiwara, K., Wada, A., Ito, M., Umeda, M., Casey, P. J., Fukada, Y.: Interacting targets of the farnesyl of transducin γ-subunit. Biochemistry 47, 8424-8433, 2008

4) Takahashi, K., Ueno, T., Tanida, I., Minematsu-Ikeguchi, N., Murata, M., Kominami, E.: Characterization of CAA0225, a novel inhibitor specific for cathepsin L, as a probe for autophagic proteolysis. Biol. Pharm. Bull. 32, 475-479, 2009

5) Haruna, K., Suga, Y., Muramatsu, S., Taneda, K., Mizuno, Y., Ikeda, S., Ueno, T., Kominami, E., Tanida, I., Hanada, K.: Differentiation-specific expression and localization of an autophagosomal marker protein (LC3) in human epidermal keratinocytes. J. Dermatol. Sci. 52, 213-215, 2008

6) Tanida, I., Ueno, T., Kominami, E.: LC3 and Autophagy. Methods Mol. Biol. 445, 77-88, 2008

7) Ueno, T., Sato, W., Horie, Y., Komatsu, M., Tanida, I., Yoshida, M., Ohshima, S., Mak, T.W., Watanabe, S., Kominami, E.: Loss of Pten, a tumor suppressor, causes the strong inhibition of autophagy without affecting LC3 lipidation. Autophagy 4, 692-700, 2008.

8) Yamaji, T., Kumagai, K., Tomishige, N., and Hanada, K.: Two sphingolipid transfer proteins, CERT and FAPP2: Their roles in sphingolipid metabolism. IUBMB Life 60, 511-518, 2008

9) Nitahara-Kasahara Y, Fukasawa M, Shinkai-Ouchi F, Sato S, Suzuki T, Murakami K, Wakita T, Hanada K, Miyamura T, Nishijima M.: Cellular vimentin content regulates the protein level of Hepatitis C virus core protein and the Hepatitis C virus production in cultured cells. Virology 383, 319-327, 2009

10) 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.: Critical role of virion-associated cholesterol and sphingolipid in hepatitis C virus infection. J. Virol. 82, 5715-5724, 2008

11) Maehama, T., Tanaka, M., Nishina, H., Murakami, M., Kanaho, Y., and Hanada, K.: RalA functions as an indispensable signal mediator for the nutrient-sensing system. J. Biol. Chem. 283, 35053–35059, 2008

12) Tsuda, K., Furuta, N., Inaba, H., Kawai, S., Hanada, K., Yoshimori T., and Amano, A.: Functional analysis of α5β1 integrin and lipid rafts in invasion of epithelial cells by *Porphyromonas gingivalis* using fluorescent beads coated with bacterial membrane vesicles. Cell Struct. Funct. 33, 123-132, 2008

13) Okemoto, K., Hanada, K., Nishijima, M., and Kawasaki, K.: The preparation of a lipidic endotoxin affects its biological activities. Biol. Pharm. Bull. 31, 1852-1954, 2008

14) Tomishige, N., Kumagai, K., Kusuda, J., Nishijima, M., and Hanada, K.: Casein kinase Iγ2 down-regulates trafficking of ceramide in the synthesis of sphingomyelin. Mol. Biol. Cell 20, 348-357, 2009

15) Hanada, K., Kumagai, K., Tomishige, N., and Yamaji, T.: CERT-mediated trafficking of ceramide. Biochim. Biophys. Acta in press

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Ogawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Matsutani, M., Uchiyama, T., Hagiwara, K., Hanada, K., Kurane, I., and Kishimoto, T.: Shotgun proteomics of Orientia Tsutsugamushi. 5th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases, 2008.5.18-20, Marseille, France

2) Masujin, K., Shu, Y., Yamakawa, Y., Hagiwara, K., Sata T., Matsuura, Y., Iwamaru, Y., Imamura, M., Kurachi, M., Shimizu, Y., Kasai, K., Okada, H., Mohri, S., Yokoyama, T.: Biological and biochemical characterization of L-type BSE prion detected in Japanese beef cattle. Prion 2008,

2008.10.8-10, Madrid, Spain

3) Furuoka, H., Horiuchi, M., Yamakawa, Y., Sata, T.: Cerebellar pathology in guinea pig infected with bovine spongiform encephalopathy. Prion 2008, 2008.10.8-10, Madrid, Spain

4) Tanida, I., Yamasaki, M., Komatsu, M., Ueno, T., Kominami, E., Hanada, K.: New functional domain in an autophagy-related E1-like enzyme, Atg7. 48th Annual meeting of the American Society for Cell Biology, 2008. 12.13-19, SanFrancisco, CA, USA

5) Fukasawa M, Nakamura S, Nitahara-Kasahara Y, Shimotohno K, Suzuki T, Wakita T, and Nishijima M, Mashino T: Anti-HCV activity of novel Fullerene Derivatives, The 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2008.10.7, San Antonio, USA

6) Maehama, T.: Identification of a Ras-family GTPase as an indispensable signal mediator for nutrient sensing and mTORC1 activation, 8th International Conference on Protein Phosphatases, 2008.11.12-14, Maebashi

２．国内学会

1）小川基彦、大内史子、内山恒夫、松谷峰之介、萩原健一、花田賢太郎、倉根一郎、岸本寿男：Oreintia tsutsugamushi発現蛋白質の網羅的同定、第15回リケッチア研究会、2008. 11. 1-2、岐阜

2）小川基彦、大内史子、内山恒夫、松谷峰之介、萩原健一、花田賢太郎、倉根一郎、岸本寿男：Oreintia tsutsugamushi発現蛋白質の網羅的同定、 第56回日本ウイルス学会、2008. 10. 26-28、岡山

3）谷田以誠、山崎学、小松雅明、上野隆、木南英紀、花田賢太郎：Novel essential domain of mammalian Atg7, an E1-like enzyme, for autophagy. 第３１回日本分子生物学会年会・第８１回日本生化学会大会合同大会、2008. 12. 9-12、神戸

4）谷田以誠、山崎学、小松雅明、上野隆、木南英紀、花田賢太郎： Amino-terminal domain in Atg7, an autophagy-related E1-like enzyme essential for two Atg-conjugations. The 15th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience, 2008.12.2-3、東京

5) Ito, S., Ito, N., Tsuchida, A., Tokuda, N., Yagi, H., Kato, K., Mitsuki, M., Yamaji, T., Hashimoto, Y., Crocker, P.R., and Furukawa K.： Binding specificity of siglec-7 prepared from various animal cell lines、 第３１回日本分子生物学会年会・第８１回日本生化学会大会合同大会、2008. 12. 9-12、神戸

6) 前濱朝彦: mTOR の制御に関与する新たな G タンパク質の同定、第７回生命科学研究会、2008.5.29-30、大分

7) 前濱朝彦: 細胞の栄養素感知システムに関わるGサイクル制御因子、Gタンパク質特定領域・膜輸送複合体特定領域合同若手ワークショップ2009、2009.1.29–31、神戸

9) 花田賢太郎：セラミドの細胞内選別輸送、第19回フォーラム・イン・ドージン、2008. 11. 28、熊本

10) 花田賢太郎：脂質セラミドの細胞内選別輸送、順天堂大学大学院・第25回環境医学研究所・第16回研究推進委員会合同セミナー、2009. 3. 6、浦安

１１．昆虫医科学部

部長　小林　睦生

概　要

平成 20 年，当該部の研究は，定員８名（部長を含む）以外に，客員研究員８名，協力研究員５名，流動研究員１名，研究生２名，実習生２名，臨時職員４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３室で行われている。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、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。このウイルス感染症は多種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、我が国に分布するアカイエカ種群やヒトスジシマカではウイルスの増殖が顕著に認められている。また、今までに行った蚊類の吸血源動物の解析において、特にアカイエカ種群は野鳥（スズメ、カモ類）と人から吸血することが明らかにとなり、ウエストナイル熱が我が国に侵入した場合に、容易に流行が拡大することが予測される。一方、2005-2006 年にインド洋島嶼国、インド、スリランカなどでチクングニヤ熱の大きな流行が起こり、全体で 170 万人以上が感染し、多数の死亡例も報告されている。アフリカ大陸で流行していたウイルスのエンベロープタンパク質の１個のアミノ酸に変異が起こり、ヒトスジシマカ体内での増殖活性が 100 倍以上高まった。この事が、北イタリアでのチクングニヤ熱の突然の流行に関係したと言われている。その後も、東南アジア諸国で流行地域が拡大しており、患者も多数発生している。地球規模での温暖化の影響が、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などにすでに認められ始めている。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ことが、我が国のヒトスジシマカの東北地方での分布域拡大に顕著に表れており、継続した調査が必要と考えられる。また、野外から捕集されたコガタアカイエカから日本脳炎ウイルスの分離を継続して行っているが、地域によっては毎年、高率にウイルスが分離される。このことは、依然としてこのウイルスの活動が西日本を中心に活発に活動していることを示しており、我が国ではワクチン接種や蚊に刺されない防御等の予防的な処置が現在でも必要であることが理解できる。我が国の媒介蚊の分布調査、防除対策等の基本的な問題、媒介昆虫に関する生態、生理・生化学的な解析等の研究体制は、決して充分とは言えない状況であり、取り組むべき課題も多い。衛生昆虫類の野外調査から、分類、遺伝子解析まで幅の広い基礎的、応用的研究を行うことがより求められており、世界をリードする研究業績も出始めてきている。社会的な貢献として、我が国の子供達に流行しているアタマジラミの殺虫剤抵抗性の問題をより広範に取り上げ、効果的な駆除対策への情報を発信することも行っている。今後、媒介蚊類から検出、分離された新しいフラビウイルスが人に病原性のあるウイルスの生態に

どのような影響を与えているのか、媒介蚊の越冬生態の詳細な解明、近縁種の簡便な分子分類法の確立、コガタアカイエカなど媒介蚊の長距離飛翔の解析、媒介昆虫からの迅速な病原体の検出法の確立、媒介蚊の効率的な防除法の確立、防除に関する住民への啓発など多くの課題が存在する。少数精鋭でこれらの難関を乗り越え、我が国の媒介昆虫対策に貢献できる体制を構築したいと考えている。

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)渡り鳥飛来地に生息するイナトミシオカの生態的研究１．幼虫の発育に対する温度の影響

イナトミシオカ幼虫を 6 つの異なる温度で飼育して求めた幼虫･蛹期の発育零点は､雌で 8.75℃、雄で 9.51℃、発育を完了するのに要する温量は、雌 270 日度、雄 208 日度と推定された。気温と幼虫発育および成虫の吸血活動の関係から、日最高気温が 18℃以上の日を活動可能日として、活動可能期間および年間世代数を推定した。釧路では、年間活動期間 76 日、1.75 世代であった。生息地の緯度が低くなるほど、活動可能期間は長く年間世代数は多くなり、青森 142 日、3.88 世代、新潟 183 日、6.33 世代、東京 208 日、7.64 世代と推定された。

[津田良夫、片野理恵、斉藤康秀（麻布大学）]

(2)ヤマトクシヒゲカの吸血源動物同定と鳥マラリア原虫の検出

2007 年 4 月から 12 月まで東京都内の公園で sweeping によって採集されたヤマトクシヒゲカの吸血蚊サンプルの吸血源動物を同定し、合わせて鳥マラリア原虫の遺伝子検出を行った。本種の吸血源の 87%は野鳥で、吸血源とされた野鳥種はシジュウカラ、シロハラ、ハシブトガラス、スズメ、ヤブサメの 5 種であった。鳥マラリア原虫は、シジュウカラ、シロハラ、ハシブトガラスを吸血していた 3 個体から検出された。検出された鳥マラリア原虫の系統は 3 つあり、そのうち 2 系統は海外の調査で報告されているものと一致したが、残りの 1 系統はこれまで報告のない独自の塩基配列であった。

[津田良夫、金京純（岐阜大学大学院）]

(3)東京都の公園で観察されたコガタアカイエカの集団飛来と越冬

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。９月末と 10 月初めに実施した夜間の人囮採集では、吸血に来る個体は全く採集されなかった。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。同じ調査地で 2008 年 1 月から 4 月に越冬から覚めた個体と思われるコガタアカイエカ雌成虫が計 10 個体捕獲された。[津田良夫, 金　京純（岐阜大学大学院）]

(4)捕虫網による林内の吸血蚊の採集

サギ類の集団営巣地（サギ山：島根県平田市）および千葉県立野鳥の森で、吸血蚊の sweeping 採集を試みた。サギ山では 2008 年 5 月～8 月に、17 種類 287 個体（雌 200、雄 87）の蚊が捕獲された。このうち吸血蚊はアカイエカ群など 10 種類 45 個体であった。千葉県立野鳥の森で 8 月に実施した sweeping 採集では、17 種 190 個体（雌 93、雄 97）が捕獲された。このうち吸血蚊が得られたのは、コガタクロウスカ 14 個体とフトオビツノフサカ 7

個体の 2 種のみであった。吸血蚊が採集された場所は、樹木によって覆われ直射日光が差し込まない環境で、斜面にできた窪みの天井付近であった。
［津田良夫；金　京純（岐阜大学大学院）］

(5)渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊調査（島根県出雲平野）

宍道湖西岸の出雲平野と丘陵地を対象として、2008年5月から10月に疾病媒介蚊調査を実施した。CDC 型ドライアイストラップにより 16 種類 4,941 個体が捕獲された。コガタアカイエカが優占種で雌全体の 77%を占めていた。丘陵地の採集場所で希少種のコガタキンイロヤブカ、Ae. bekkui、が2個体採集された。斐伊川河川敷と水田地帯の種類構成は類似しており百分率類似度は 85%であった。丘陵地に散在する溜池周辺の採集地では種類構成はかなり異なり、斐伊川河川敷と 36%、水田地帯とは 34%の百分率類似度を示した。また溜池周辺でのみ捕獲された種類が4種類あった。

［津田良夫；金　京純（岐阜大学大学院）］

(6)医学上重要な疾病媒介蚊の分子分類システムの構築

蚊媒介性病原体の侵入経路の一つとして、航空機や船舶に便乗・侵入する蚊の検査が行われている。損傷が激しく形態分類による同定が難しい蚊サンプルを、分子分類学的手法によって分類するシステムの構築を目的とした研究をはじめた。本邦産マラリア媒介蚊の中で hyrcanus group に属し形態的な分類が難しい種類、日本脳炎ウイスル媒介蚊の中から vishnui complex に属する種類、本邦産デング熱ウイルス媒介蚊を選び，主として ITS 領域の塩基配列を読んでそのバリエーションをもとに種特異的なプライマーを試作した

。［津田良夫，沢辺京子；當間孝子（琉球大学），比嘉由起子（長崎大学），金　京純（岐阜大学大学院）］

(7)無弁翅ハエ類の分類学的研究

人糞に集まるフンコバエの 1 属、Paralimosina 属について、タイ・マレーシア産の標本を調べた。16 種を記録し、内 8 種が新種で、それらの記載を行った。この属は東南アジアではあまり調べられておらず、タイ・マレーシアからは従来記録されていなかった。

［林　利彦］

(8)家畜糞を利用するハエ類の由来に関する研究

動物糞に集まるハエ類は衛生状態の良好でない地域では消化器系感染症の媒介に関与することがある。本来生息していない場所に家畜を移入した場合、その家畜糞から発生するハエ類はどこからやってくるのかを生物相の異なるインドネシアのいくつかの島で調査した。生物地理学上東洋区とオーストラリア区に属する島とその中間に位置する島で牛糞に集まるハエ類を調査した結果、本来生息する種類相はかなり異なっているにもかかわらず、見られるハエ類はほとんど同じであった。このことより牛糞から発生するハエ類は家畜と共に移入され分布を広げてきたものと推定された。
［林　利彦；大原昌宏（北海道大学博物館）；Sri Hartini（インドネシア科学院）］

(9)輸入ハエ症に関する研究

ナミビアから帰国した旅行者のヒトクイバエ幼虫寄生例を経験した。ヒトクイバエによるハエ症例は日本ではまだ報告が少ないため症例報告を行った。本症例は19個体もの幼虫が寄生している点で非常に希な症例であった。これらの幼虫は全て背中に寄生しており、外科的に取り除かれた。幼虫は形態的観察および DNA ベースで同定を行った。幼虫は飼育を試みたが、蛹まで発育した後、死亡した。予後は良好であった。

［林　利彦、栗原　毅;藤崎竜一(帝京大学病院)］

(10) アカイエカ種群蚊の屋内侵入性に関する研究

チカイエカの媒介蚊としての重要性を評価する目的で，アカイエカ種群の屋内侵入性を調査した。昨年までの調査で蚊の屋内捕集率が高かった民家の庭に CDC 型ドライアイストラップを 5 月から 7 月までの間設置し（週一回)，捕集された蚊の分子分類を行った。その結果，3 ヶ月間に屋外で捕集されたチカイエカとアカイエカの比は 27 匹対 46 匹であった。一方，シーズンを通して屋内で捕集されたアカイエカ種群は全 29 匹で，うちアカイエカは 1 月に捕集されたわずか 1 匹で，残りは全てチカイエカだった。このことから，チカイエカはアカイエカに比べてより屋内侵入性が高く，ヒト親和性が高い種であることが推測された。

［葛西真治，二瓶直子，津田良夫，小林睦生］

(11)本州におけるかつてのマラリア浸淫地におけるマラリア媒介蚊の景観生態学的解析

温暖化などの環境変化に伴い、マラリアの本州への侵入と定着の可能性が議論されている。戦後本州で土着マラリアの多発したいわゆるマラリア５県におけるマラリア媒介蚊の種類について、近年全く調査されておらず、媒介蚊の種類や季節消長を明らかにすることは重要である。1950 年に最後の土着マラリア患者が確認された彦根市を中心に、過去の患者やハマダラカの生息調査の資料を収集し、空中写真、地形図、衛星画像などを利用して環境を復元して、マラリアの浸淫状況を検討している。さらに湿地や牛舎などでトラップをかけて成虫を採集し、その周辺で幼虫を捕獲し、過去の資料と比較しながら、現在の媒介蚊の種類、その季節消長や生息環境の特徴を空間解析して、媒介蚊の疫学的特徴を検討している。

［渡辺　譲，二瓶直子，津田良夫，小林睦生；米島万有子，中谷友樹（立命館大）］

(12)セアカゴケグモ動態調査と増加する咬症被害の把握

1996 年に大阪府で輸入毒グモであるセアカゴケグモの定着が確認されて以来、本研究部はその毒性、分布と拡散、駆除および予防に関わってきた。しかし対象市町村によりその対応に差があり、近畿地方の諸府県では分布が拡大しただけでなく、中国・九州地方の港湾地域や新興住宅団地にも拡大している状況が報告されるようになった。特に大阪府におけるセアカゴケグモの分布、拡散、密度分布、咬症分布などの図を地理情報システム GIS を用い正確に作成し重ね合わせると、咬症例が、侵入定着の古い市町に発生し、公共施設だけでなく民家の敷地や家屋内で、幼児から高齢者にいたるまで増加していることが明らかとなった．この結果から監視だけでなく、防除対策を速やかに検討する必要があることが指摘された。

［二瓶直子，小林睦生，駒形　修；吉田政弘（いきもの研究者）；金田弘幸（パスコ中部事業部）］

(13)陸域観測技術衛星(ALOS)データを利用した、動物媒介性疾患の監視体制整備のための基礎研究

国産陸域観測技術衛星(ALOS)の利用に関する独立行政法人宇宙航空研究開発機構と本研究所の共同研究契約に基づいて、ALOS、Jers-1 などの衛星画像データを、セアカゴケグモの拡散地域の発見、甲府盆地・中国長江流域・フィリピンルソン島・ミンドロ島などの日本住血吸虫症の監視体制の確立、本州特に琵琶湖周辺のマラリア媒介蚊の生息環境の解析などに用い、迅速かつ広域の環境解析や監視体制の構築を試みている。

［二瓶直子，駒形　修，小林睦生；斉藤康秀（麻布大）；太田伸生（東医歯大）；望月貫一郎（パスコ・

研究開発センター）

(14) 都市部における幼虫対策の重要性と防除費用算出の試み.

兵庫県西宮市の人工島（西宮浜）における雨水枡の幼虫調査において、アカイエカとヒトスジシマカが発生していることを確認した。道路、公共施設、マンション等の雨水枡ではヒトスジシマカが優先種であり、公園および府営住宅内の雨水枡ではアカイエカが優占種であった。島全体の雨水枡約 7 千個に幼虫発育制御剤を処理し、防除効果を評価すると同時に、この作業に必要な経費を算出し、より大規模な防除対策の費用の算出のための基礎的資料とした。

[小林睦生，二瓶直子，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）]

(15)東北地方におけるヒトスジシマカの分布域拡大と成虫密度調査

2008 年の東北地方でのヒトスジシマカの調査では内陸平野の盛岡市では依然として同蚊の定着が認められないこと、太平洋岸の八戸市、久慈市においもヤマダシマカは分布しているが、ヒトスジシマカは確認されなかった。一方、宮古漁港で始めてヒトスジシマカが確認された。始めてヒトスジシマカが侵入した東北地方の都市のうち、数年で市内全域に分布が拡がる場合と、一部の地域に限局している場合がある。密度の評価法も含めて、今後、これらの分布を制限する要因、拡散をもたらす要因を明らかにしたい。

[小林睦生，駒形　修、二瓶直子，斉藤一三、津田良夫]

16）景観解析によるコガタアカエイカ捕集数の地域差の検討

日本脳炎媒介蚊コガタアカイエカの消長や日本脳炎ウイルスの検出は、主として牛･豚などの畜舎にライトトラップをかけて捕集して検討してきた。2007 年富山市の田園地帯の牛舎および人家周辺で CDC ドライアイストラップで捕集して，捕集数の地域差を土地利用など景観解析で検討した。これと比較しながら 2008 年 8 月から 10 月にかけて、滋賀県琵琶湖周辺の湿地や内湖など常時コガタアカイエカなどの発生源がある地域で同様に CDC ドライアイストラップで蚊相を明らかにし、土地利用などの環境要因と捕集数の関係を空間解析した。さらに石川県かほく市でも同様な解析を始めている。

[渡辺　譲，二瓶直子，津田良夫，小林睦生；米島万有子，中谷友樹（立命館大）]

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) 2007 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と系統解析

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ウイルスの分離と検出を行っている．2007 年は 4 月から 10 月にかけて，九州地区（長崎県，熊本県，鹿児島県）の養豚場を含む畜舎周辺，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）においてコガタアカイエカを捕集し，合計 3,673 個体 192 プールをウイルス分離に供した．その結果，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，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．各分離株の遺伝子解析から，それらは全て 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はあるが，塩基配列上新たな特徴を有する分離株の存在が示唆された．

［伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，金　京純，津田良夫，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）；川田均，角田隆，大橋和典，前川芳秀，高木正洋（長崎大）；高崎智彦，小滝徹，倉根一郎（ウイルス第1部)］

(2) ベトナム国における蚊媒介性アルボウイルスの分離状況とウイルス分離株の遺伝子構造解析

日本を含むアジア諸国において，蚊媒介性ウイルス感染症に対する新たな調査・研究の必要性が増している．それら蚊媒介性ウイルスのベトナム国内での分布状況を知るために，2006-2008年の3年間にベトナム北部から南部にかけて広範囲に蚊を捕集し，合計5属16種13,452個体をウイルス分離に供した．その結果，コガタアカイエカ，オビナシイエカ，ネッタイイエカから4種類の既知のウイルス（日本脳炎ウイルス，ナムディンウイルス，バンナウイルス，Culexフラビウイルス）が分離された．また，培養細胞に細胞変性効果(CPE)が確認された蚊プールも確認されたが種の同定はできなかったことから，今回対象としたウイルス以外の新規ウイルスの存在も示唆された．ベトナムにおいては，コガタアカイエカだけではなくオビナシイエカも日本脳炎ウイルスの媒介種であること，また，検出されるウイルス種も多様であることも明らかになった．

［澤邉京子，鍬田龍星，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，小林睦生；Nguyen Thi Yen, Phan Thi Nga（ベトナム国立衛生疫学研究所）；比嘉由紀子，高木正洋（長崎大・熱研)］

(3) TaqManプローブ法による日本脳炎ウイルスおよびウエストナイルウイルスサーベイランスへの応用

TaqManプローブ法による日本脳炎ウイルスおよびウエストナイルウイルスのゲノムRNAを検出する方法は，主に哺乳類や鳥類の血液あるいは唾液等の検体を対象に広く使用されている．我々は，本法を蚊およびダニ類等の節足動物からのウイルス検出に応用するために，種々の条件検討を行った．その結果，蚊の磨砕液、および細胞培養上清からの日本脳炎ウイルスとウエストナイルウイルス両方のゲノムRNA検出を可能にした．本改良法を用いて，上述した日本およびベトナム由来の野外捕集蚊を対象に，両ウイルスのサーベイランスを実施した。

[佐々木年則，鍬田龍星，星野啓太，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生]

(4) 塹壕熱病原体 *Bartonella quintana* 遺伝子の迅速検出システムの開発

塹壕熱はシラミの媒介によって感染する再興感染症であり，最近では欧米のホームレスをはじめ世界各地で問題となってきている．その病原体*Bartonella quintana*を検出するための培養には1－3か月を要し，PCRを用いた遺伝子検出法においては遺伝子配列を解析する必要があり煩雑である．よって両方法ともに迅速診断には適さない．そこで，TaqManプローブ法を用いた遺伝子検出システムの開発を試みた．その結果，ITS1領域の遺伝子が10コピー以上あれば検出可能になることが判明し，さらに，近縁のネコひっかき病病原体B. henselaeには反応しない特異的検出法であることも確認できた．このシステムにより，塹壕熱病原体遺伝子の迅速かつ大量の検出が可能であると考えられた．

［佐々木年則，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生］

2．生理学的基礎研究

(1) アカイエカ種群野外捕集蚊における脂肪含量と脂肪酸組成の季節変動

フラビウイルス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極めて重要である．脂肪酸分析から，アカイエカ越冬個体においてはシス型パルミトオレイン酸（C16:1）含量が全体の50%近くを占めていることが明らかになった．そこで，周年捕集調査で得られたアカイエカ種群蚊の脂質含量および脂肪酸組成を調べた結果，アカイエカの脂質含量は 5 月上旬から下旬にかけて徐々に低下したが秋から冬にかけて再び増加し，その増減に伴いパルミトオレイン酸含量も変動することを確認した．室内実験においてもアカイエカは，低温・短日の環境変化に向けてパルミトオレイン酸含量を増加させることが確認され，低温下での生存に脂肪酸が有利に働いていいる可能性が示唆された。

［森林敦子，澤邉京子，津田良夫，葛西真治，伊澤晴彦，林利彦，金　京純，小林睦生］

(2) アカイエカ種群の寿命と脂質に関する考察

アカイエカおよびチカイエカの成虫における種々の温度・日長条件下での生存日数を比較したところ，すべての飼育条件においてアカイエカはチカイエカよりも長命であった（雌 1.4～1.9 倍，雄 2.6～8 倍）．この寿命の違いを脂質含量および脂肪酸組成から検討した結果，アカイエカでは低温（10℃）条件下で羽化 20 日目以降シス型パルミトオレイン酸の占める割合が全体の 50%以上になり、体重に占める脂質含量が 2 倍以上に増加することが分かった．一方，チカイエカでは羽化時のパルミトオレイン酸含量 20%はその後もほとんど変動せず，脂質含量の増加も見られなかった．アカイエカに見られるパルミトオレイン酸含量の増加は，冬季に活動時期を迎えるクロバエ類においても確認されたことから，この脂肪酸合成系が働くことによって，アカイエカの低温下での生存が可能になると考えられた．

［澤邉京子，森林敦子，津田良夫，葛西真治，小林睦生］

(3) オオクロヤブカ由来細胞系樹立の試み

蚊媒介性病原微生物の研究に有用な新規蚊由来細胞系の樹立を目的として，オオクロヤブカ Armigeres subalbatus の初代培養を試みた．無菌的に孵化させた新生幼虫を切断した移植片を用いて，5 種類の昆虫細胞培養用培地およびこれらの混合物による初代培養を行った．適宜培養液の更新を行いながら観察を続けたところ，移植片から多様な形態の細胞の遊出が認められ，これらのうち Schneider’s および VP-12 を培養液とした実験区において，付着性細胞の顕著な増殖が確認された．これらの細胞を split ratio 2-4 で継代を繰り返したところ，ほぼ安定して維持することが可能となった．

［伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，澤邉京子，小林睦生］

3. 殺虫剤の有効性と抵抗性機構に関する研究

(1)フェノトリン抵抗性アタマジラミの全国調査（2008 年）

全国各地から送られてきたアタマジラミについて，フェノトリン抵抗性遺伝子(kdr)の保有状況を改良型 QProbe 法を用いて調査した。2008 年は 188 コロニー，467 個体を解析し，うち 11.2%にあたる 21 コロニー由来の 62 匹から kdr 遺伝子が検出された。過去3年間で抵抗性コロニーの割合は4.8，6.2，11.2%と推移しており，抵抗性アタマジラミによる被害の拡大が懸念された。また，抵抗性の個体が確認された都道府県は 13 に上り，被害は全国に広がっていることも明らかになった。

［葛西真治，石井則久（ハンセン病研究センター），駒形　修，小林睦生，冨田隆史］

(2) アタマジラミのナトリウムチャンネル遺伝子のDIIS5領域における単独アミノ酸置換突然変異

日本，米国，英国，オランダでこれまで同定されてきたアタマジラミのピレスロイド抵抗性のナトリウムチャンネル(SC)遺伝子は，DIIS5（ドメイン II－膜貫通セグメント 5）領域に T952I-L955F 置換をもたらす二重突然変異をコードしていた。インドのムンバイ市で2008年に採取されたシラミから， 38コロニー中3つに，これら2座位に関してF955変異のみをもつ遺伝子がヘテロまたはホモ接合体として新たに同定された。この単独突然変異を保有するシラミに対するピレスロイド系駆除剤の有効性に今後興味がもたれる。

［冨田隆史，葛西真治，駒形　修，小林睦生，Gode V（Marico. Ltd.）］

(3) フェノトリン抵抗性アタマジラミの遺伝子診断法の改良

昨年確立したアタマジラミのフェノトリン抵抗性解析法では，作用点ナトリウムチャネル(SC)のT929とL932がI929とF932へと共変異したタイプを検出する目的でデザインされた。しかし，この方法ではI929-L932とT929-F932をもつSC遺伝子を互いに区別することができない。そこで，この問題を克服するために，QProbe 法に用いるプローブの改良を試みた結果，すべての変異体遺伝子およびそのヘテロ接合体を判別することが可能になった。また，プライマーとプローブの濃度条件をさらに詳しく検証し，ヘテロ接合体を判別する場合のシグナルをほぼ均等に検出できるよう改良を行った。

［葛西真治，駒形　修，小林睦生，冨田隆史］

(4) 殺虫剤代謝性シトクロムP450の異種細胞発現系の構築

ピレスロイド剤抵抗性ネッタイイエカ系統で過剰発現するシトクロムP450の機能解析を行う目的で，この酵素タンパク質の異種細胞発現系を構築した。P450遺伝子と電子伝達酵素シトクロムb5の両遺伝子をpMT-DEST48ベクターを介してショウジョウバエ培養細胞S2の核ゲノム中に導入した。抗生物質ブラストサイシンで形質転換細胞を数世代淘汰した結果，細胞中にネッタイイエカ P450 の mRNA の発現が検出されたことから，目的とするP450 遺伝子の導入が確認された。同様の手法により抵抗性への関与が疑われる3種P450のタンパク質発現系を確立した。

［駒形　修，葛西真治，冨田隆史］

(5) ピレスロイド剤抵抗性ネッタイイエカで高発現するシトクロムP450のペルメトリン代謝

CYP9M10，CYP4H34，CYP6Z10はピレスロイド剤抵抗性系統で2.7～365倍高発現しているシトクロムP450 であり，殺虫剤抵抗性への関与が疑われる。これら3種P450のピレスロイド剤代謝性を確認するために，S2 細胞でそれぞれの酵素タンパク質を発現させ，in vitro 代謝試験を行った。RI標識したペルメトリンと酵素を反応させたところ，補酵素NADPH依存的に代謝が認められ,その活性はP450の阻害剤であるピペロニルブトキシドの添加によって抑制された。また，薄層クロマトグラムの二次元展開により，主要な代謝物はペルメトリンのフェノキシベンジル基の 6 位が水酸化されたものであると予想された。代謝活性が認められたことから，3種P450の殺虫剤抵抗性への関与が証明された。

［葛西真治，駒形　修，正野俊夫，冨田隆史］

(6) 殺虫剤抵抗性ネッタイイエカで高発現する

CYP9M10 遺伝子の構造解析

ピレスロイド抵抗性 JPal-per 系統(JPP)の幼虫では，シトクロム P450 の活性増大がピレスロイド解毒代謝の主要因となっており，P450 の一つの分子種である CYP9M10 は 終齢幼虫期に感受性系統と比べて 300 倍の mRNA レベルを示す。この高発現には遺伝子増幅とシス作動性転写調節変異の双方が関わっている。JPP の CYP9M10 構造遺伝子には周辺配列だけが異なる 2 種類の増幅単位があり，これら 2 種の増幅単位と感受性系統の CYP9M10 遺伝子周辺配列の間には，互いに異なる特徴的な挿入／欠失部位があることを明らかにした。

［糸川健太郎，政田正弘（千葉大院），葛西真治，駒形修，岡村佳香，冨田隆史］

(7) アジアのコガタアカイエカ集団における殺虫剤抵抗性アセチルコリンエステラーゼ遺伝子(p-Ace)の分布(II)

p-Ace 遺伝子のアシルポケット座位 F455 (TTT)のアミノ酸置換突然変異 W (TGG)は，本種蚊の有機リン剤抵抗性の主要因である。F455 座位を含む 600 塩基の周辺配列に基づく遺伝子ハプロタイプを，2006 年度までに解析済みの 11 地点（本州 5 地点，諫早市，南大東島，沖縄本島，西表島，タイ，インドネシア・ジャワ島）に加え，新たに 10 地点（南九州市，石垣島，台湾，ベトナム，ラオス，スリランカ 5 地点）での採集試料を用い決定した。ラオスとジャワ島を除き，W455 をコードする抵抗性遺伝子が感受性遺伝子に比べほとんどの地点に高頻度で存在していた。抵抗性遺伝子には互いに 7 塩基座位で異なる 2 種のハプロタイプがあり，石垣島，西表島，台湾ではそれらが併存するが，他地点では一方のタイプのみであった。

［冨田隆史，駒形修，葛西真治，津田良夫，比嘉由紀子，澤邉京子，小林睦生，Weerasinghe IS (Med. Res. Inst., Sri Lanka), Wang H-C (Ctr. for Disease Control, Taiwan)］

レファレンス業務

衛生動物同定検査報告

平成 20 年 4 月から平成 21 年 3 月までの間、13 件 134 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、ヌカカ等）であった。ヒトへの被害例ではタカサゴキララマダニ、シュルツェマダニの咬着例が各 1 例、コナヒョウヒダニによる急性アレルギー症例が 1 例、ニクバエによる消化器系ハエ幼虫症が 1 例あった。依頼者は大学、医療機関、公的研究機関、民間企業、個人等であった。［林　利彦、津田良夫、倉橋　弘、栗原　毅］

研修業務

(1)津田良夫．蚊の分類実習．日本環境衛生センター 平成 20 年度疾病媒介蚊防除対策実技講習会．2008 年 7 月 31 日．川崎市．

(2) 冨田隆史．駆除剤抵抗性アタマジラミの出現とその対策．第 9 回江東区医師会皮膚科医会．2008 年 11 月 22 日．東京都江東区．

(3) 冨田隆史．殺虫剤概論．第 44 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，2008 年 11 月 27 日，川崎市．

(4) 冨田隆史．アタマジラミの殺虫剤抵抗性問題．第 43 回ペストコントロール・フォーラム．2009 年 2 月 19 日．横浜市．

(5) 冨田隆史 ピレスロイド系駆除剤抵抗性アタマジラミの対策と分子検査法．平成 20 年度稀少感染症診断技術研修会．2009 年 2 月 24 日．感染症研究所．

(6) 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，2008 年 12 月 12 日．国立感染症研究所．

(7)小林睦生．　蚊媒介性感染症の現状と防除対策の重要性、品川区職員研修、2008 年 8 月 29 日、品

川区役所.

(8)小林睦生. Recent Topics of Vector-borne Diseases and Vector Biology in Japan JICA 研修、2008 年 2 月 4 日、感染症研究所.

(9)小林睦生. 感染症に関する最近の話題：研究の立場から、PCO 感染症対策研修、2008 年 9 月 26 日、東京.

欧文発表

1)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(2): 203–205, 2008.

2)Murata K, Nii R, Yui S, Sasaki E, Ishikawa S, Sato Y, Matsui S, Horie S, Akatani K, Takagi M, Sawabe K, Tsuda_Y. Avian haemosporidian parasite infection in wild birds inhabiting Minami-Daito Island of the northwest Pacific, Japan. J. Vet. Med. Sci. 70: 501-503, 2008.

3)Tsuda Y, Kim KS. Sudden autumnal appearance of adult *Culex tritaeniorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae) at a park in urban Tokyo -First field evidence for pre-diapause migration. J. Med. Entomol. 45: 610-616, 2008.

4)Tsuda Y, Komagata O, Kasai S, Hayashi T, Nihei N, Saito K, Mizutani M, Kunida M, Yoshida M, Kobayashi M. A mark-release-recapture study on dispersal and flight distance of *Culex pipiens pallens* in an urban area of Japan. J. Am. Mosq. Control Assoc. 24: 339-343, 2008.

5)Kobayashi M, Kasai S, Sawabe K, Tsuda Y. Distribution and ecology of potential vector mosquitoes of West Nile Fever in Japan. Glob. Envir. Res. 12: 27-33, 2008.

6)Ejiri H, Sato Y, Sasaki E, Sumiyama D, Tsuda Y, Sawabe K, Matsui S, Horie S, Akatani K, Takagi M, Omori S, Murata K, Yukawa M. Detection of Avian *Plasmodium* spp. DNA Sequences from Mosquitoes Captured in Minami Daito Island of Japan. J. Vet. Med. Sci. 70(11): 1205–1210, 2008.

7)Park MH, Choochote W, Kim SJ, Somboon P, Saeung A, Tuetan B, Tsuda Y, Takagi M, Hoshi D, Ma Y, Min G.S. Nonreproductive isolation among four allopatric strains of *Anopheles sinensis* in Asia. J. Am. Mosq. Control Assoc., 24: 489-495, 2008.

8)Hayashi T. Taxonomic studies on the Oriental species of the genus *Paralimosina* Papp (Diptera, Sphaeroceridae) excluding *eximia* species group. II. New species and new records from Malaysia. Jpn. J. Syst. Ent., 14: 157-164, 2008.

9)Hayashi T. Taxonomic studies on the Oriental species of the genus *Paralimosina* Papp (Diptera, Sphaeroceridae) excluding *eximia* species group. I. The species from Thailand. Jpn. J. Syst. Ent., 14: 17-27, 2008.

10)Fujisaki R, Makimura K, Hayashi T, Yamamura M, Yamaoka T, Shiraishi K, Ishibashi S, Kawakami S, Kurihara T, and Nishiya H. Exotic myiasis caused by 19 larvae of *Cordylobia anthropophaga* in Namibia and identified using molecular methods in Japan. Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg., 102: 599-601. (2008)

11)Moribayashi A, Hayashi T, Taylor D, Kurahashi H, Kobayashi M.: Different responses to photoperiod in non-diapausing colonies of the flesh fly, *Boettcherisca peregrina*.

Physiol. Ent., 33, 31-36, 2008.
12) Kasai S, Komagata O, Tomita T, Sawabe K, Tsuda Y, Kurahashi H, Ishikawa, T, Motoki, M, Takahashi T, Tanikawa T, Yoshida M, Shinjo G, Hashimoto T, Higa Y, Kobayashi M. PCR-based identification of *Culex pipiens* complex collected in Japan. Jpn. J. Infect. Dis,. 61: 184-191, 2008.
13) Komagata O, Kasai S, Obara I, Motoyama N, Tanaka I, Kobayashi M, Tomita T. Concomitant identification of subspecies of subspecies and insecticide resistance-associated mutations in the mosquito *Culex pipiens* complex by primer extension-based genotyping. Med. Entomol. Zool., 59: 33-46, 2008.
14) Kasai S, Ishii N, Natsuaki M, Fukutomi H, Komagata O, Kobayashi M, Tomita T. Prevalence of *kdr*-like mutations associated with pyrethroid resistance in human head louse populations in Japan. J. Med. Entomol., 46: 77-82, 2009.
15) Kasai S, Komagata O, Okamura Y, Tomita T. Alternative splicing and developmental regulation of glutathione transferases in *Culex quinquefasciatus* Say. Pestic. Biochem. Physiol., 94: 21-29, 2009
16)Kobayashi M, Komagata O, Nihei N. Global warming and vector-borne infectious diseases. J. Disas. Res. 3:105-112, 2008.
17) Nihei N, Komagata O, Kobayashi M, Saitoh Y, Mochizuki K, Nakamura S. Spatial analysis and remote sensing for monitoring systems of *Oncomelania nosophora* following the eradication of schistosomiasis japonica in Yamanashi Prefecture, Japan, Jpn. J. Infect. Dis., 62, 125-132, 2009.

和文発表

1)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.
2)倉橋弘，林利彦，津田良夫.鹿児島県トカラ列島からのオオクロバエの記録.はなあぶ 25：1-2, 2008.
3)多賀賢一郎，打田憲一，野田孝治，平井正志，横田勉，川田 均，津田良夫. BG-SentinelTM トラップと CDC ライトトラップの比較検討. 日本検疫医学会誌 10：33-37, 2008.
4)澤邉京子.昆虫が媒介する動物･植物の病気.「微生物の事典」(渡邉信 ・西村和子 ・内山裕夫 ・奥田徹 ・加来久敏 ・広木幹也 編)，朝倉書店，東京，p.752．2008.
5) 冨田隆史．アタマジラミ症の現状と対策．保育と保健ニュース，通巻 42 号：4，2008.
6) 冨田隆史．アタマジラミの流行．ラジオ日経 Medical Library, http://medical.radionikkei.jp/premium/entry-157515.html?login&ctl=login-remind, 2008.
7) 葛西真治，駒形 修，冨田隆史．蚊のピレスロイド剤接触忌避性．殺虫剤研究班のしおり，通巻 79 号：25-30，2008.
8) 葛西真治，駒形 修，二瓶直子，冨田隆史，澤邉京子，津田良夫，小林睦生．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．有害生物，通巻 6 号：67-83，2009.
9)小林睦生、葛西真治、佐々木年則、駒形 修、冨田隆史、関なおみ．シラミと感染症．感染症、38:207-215，2008.
10)小林睦生．地球温暖化が媒介昆虫に与える影響.獣医疫学雑誌 12:7-12，2008.
11)小林睦生．気候変動と媒介蚊． 資源環境対策 44:24-28，2008.
12)二瓶直子、小林睦生、吉田政弘．近畿地方にお

けるセアカゴケグモの分布拡散と今後の課題、生活と環境、53(12):44-49, 2008.

13)小林睦生. 生物多様性と外来生物、生活と環境、53(9):3

14)小林睦生。敵を知るー疥癬虫とはー、疥癬対策パーフェクトガイド（分担)、南光弘子　編集、秀潤社、東京、2008.

15）二瓶直子，駒形　修，吉田政弘，水谷正時，金田弘幸，小林睦生．西宮市におけるセアカゴケグモ *Latrodectus hasseltii* (Araneae:Theriidae) の防除対策が発生動態に与えた影響. Med. Entomol. Zool., 59, 153-162, 2008.

学会発表

国際学会

1)Tsuda Y. A mark-release-recapture study on flight distance of *Culex pipiens pallens* at an urban area in Japan, 42nd Annual U.S.-Japan Parasitic Diseases Panel Meeting, January 16 – 18, 2008, Davis.

2)Kobayashi M, Komagata O, Nihei N, Kurihara T, Tsuda Y. Expansion of northern distribution of *Aedes albopictus* in the Tohoku district of Japan and future prospect of the distribution by global warming. 42th Annual U.S.-Japan Parasitic Diseases Panel Meeting, January 17-18, 2008, Davis, California.

3)Tsuda Y, Matsui S, Saito A, Akatani K, Sato Y, Takagi M, Murata K. Landscape analysis of spatial distribution of mosquitoes as a part of avian malaria study on Minami-Daito Island, Japan. 17th International Congress for Tropical Medicine and Malaria, September 29 – October 3, 2008, Cheju.

4)Kim KS, Tsuda Y, Sasaki T, Kobayashi M, Hirota Y. Analysis of blood-fed mosquitoes for the study of avian malaria in wild bird community. 17th International Congress for Tropical Medicine and Malaria, September 29 – October 3, 2008, Cheju.

5) Nihei N, Komagata O, Nakamura S, Mochizuki, K. Kobayashi M.. Establishments of monitoring systems of schistosomasis japonica using spatial analysis of population density of the intermediate snail host. 17th International Congress for Tropical Medicine and Malaria, September 29 – October 3, 2008, Cheju..

6) Tomita T, Komagata O, Kasai S. Insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens* complex. 4th Pan-Pacifc Conference on Pesticide Science, June 1-5, 2008, Honolulu.

7) Kasai S, Ishii N, Natuaki M, Komagata O, Kobayashi M, Tomita T. Monitoring of kdr-mediated pyrethroid resistance in Japanese colonies of head lice. 4th Pan-Pacifc Conference on Pesticide Science, June 1-5, 2008, Honolulu.

8)Sawabe K, Higa Y, Tsuda Y, Nihei N, and Kobayashi M. Current distribution and molecular identification of anopheline mosquitoes in Japan. 43rd Annual U.S.-Japan Joint Conference on Parasitic Diseases, January 7-8, 2009, Tokyo.

9)Kobayashi M, Komagata O, Nihei N. Future prospect of expansion of the northern distribution of *Aedes albopictus* in Japan by global warming. 42th Joint Working Conference on Viral Diseases and Satellite Meeting, May 26-28, 2008, Nagasaki.

10)Kobayashi M. Global warming and Vector-Borne Infectious Diseases: Future Prospect of Northern Expansion of Vectors. 20th Meeting of Federation of Asian & Oceania Pest Managers

Association (FAOPMA), November 4-6, 2008, Tokyo.

11)Kobayashi M. Northern Expansion of Dengue Vector Distribution in Japan by Global Warming. The 2nd Korea-Japan-China Forum on Communicable Disease Control and Prevention, October 15, 2008, Seoul Korea.

12)Kobayashi M. Establishment of Medical Entomology Research Network. Taiwan -Japan Symposium on TB and International Collaboration, September 10-13, 2008, Taipei, Taiwan.

国内学会

「第 60 回日本衛生動物学会大会，2008 年 4 月 17 日～4 月 19 日，下野市」

1) 二瓶直子、駒形　修、津田良夫、吉田政弘、水谷正時、望月貫一郎、小林睦生．西宮市における蚊幼虫発生状況の地域差について．

2) 津田良夫，金　京純．東京都の公園で秋に観察されたコガタアカイエカの集団飛来．

3) 津田良夫，金　京純，二瓶直子，斉藤一三，小林睦生．渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊の発生状況調査．

4)吉田政弘，小林睦生，津田良夫，二瓶直子，水谷正時，国田正忠．西宮市における蚊幼虫防除の評価．

5) 小林睦生，二瓶直子，津田良夫，吉田政弘，水谷正時．都市部における幼虫対策の重要性と防除費用算出の試み．

6) 津田良夫，駒形　修，葛西真治，林　利彦，二瓶直子，斉藤一三，水谷正時，国田正忠，吉田政弘，小林睦生．都市環境におけるアカイエカの飛翔距離．

7) 沢辺京子，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．日本産アカイエカ種群蚊の越冬に関する研究(1)．野外捕集蚊における脂質含量と脂肪酸組成の季節変動．

8) 森林敦子，沢辺京子，津田良夫，葛西真治，小林睦生．日本産アカイエカ種群蚊の越冬に関する研究(2)．

9) 伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，津田良夫，金京　純，簗瀬　徹，今田忠男，川田　均，角田隆，大橋和典，前川芳秀，高木正洋，小林睦生．2007 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遺伝解析．

10) 小林睦生，駒形　修，二瓶直子，斉藤一三，津田良夫．東北地方におけるヒトスジシマカの分布拡大と成虫密度調査の重要性．

11) 林　利彦，Sri Hartini，大原昌宏．インドネシアにおいて牛糞上に見られるフンコバエ類（双翅目）の生物地理．

12) 佐々木年則，小林睦生．塹壕熱病原体 *Bartonella quintana* 遺伝子の迅速検出システム．

13) 伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，澤邉京子，小林睦生．オオクロヤブカ由来細胞系樹立の試み．

14) 駒形修，葛西真治，小林睦生，冨田隆史．オオクロバエに対するピレスロイド含有網の室内試験による評価．

15) 葛西真治，石井則久，夏秋　優，福富裕之，駒形修，小林睦生，冨田隆史．ピレスロイド剤抵抗性アタマジラミの分子診断法．

16) 冨田隆史，石井則久，夏秋　優，福富裕之，駒形修，小林睦生，葛西真治．アタマジラミのピレスロイド抵抗性遺伝子の保有率．

17)吉田政弘、小林睦生、津田良夫、二瓶直子、水谷正時、國田正忠．西宮市における蚊幼虫防除の評価

18)米島万有子、渡辺　護、二瓶直子、小林睦生．富山市の田園地帯におけるドライアイストラップにおけるコガタアカイエカの捕集調査

「第 60 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2008

年 10 月 18 日，栃木県」
1）津田良夫，金　京純．東京都内の公園で行った捕虫網による吸血蚊の採集結果とヤマトクシヒゲカの吸血源動物．
2）津田良夫，金　京純．捕虫網による林内の吸血蚊の採集．

「第 60 回日本衛生動物学会大会殺虫剤研究班研究集会，2008 年 4 月 17 日，下野市」
1）冨田隆史．殺虫剤忌避性を利用する害虫防除．
2）葛西真治．蚊のピレスロイド剤接触忌避性．

「第 43 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2008 年 5 月 30 日～31 日，観音寺市」
1）澤邉京子，伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，金　京純，津田良夫，小林睦生．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と遺伝子解析．
2）津田良夫，金　京純．東京都の公園におけるコガタアカイエカの集団飛来と越冬．
3)小林睦生，二瓶直子，水谷正時，吉田政弘，津田良夫．我が国の都市部におけるヒトスジシマカの幼虫発生状況と成虫密度評価法について．

「第 49 回日本熱帯医学会大会・第 23 回日本国際保健医療学会学術集会合同大会，2008 年 10 月 25－26 日，東京」
1）澤邉京子，比嘉由紀子，Nguyen Thi Yen，Phan Thi Nga，伊澤晴彦，星野啓太，鍬田龍星，佐々木年則，高木正洋．2006～2008 年ベトナム国内捕集蚊における蚊媒介性ウイルス保有状況．

「第 7 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム，2008 年 10 月 10－11 日，松山市」
1）佐々木年則，星野啓太，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生．オオクロヤブカ体液中に含まれるシアル酸特異的レクチンの質量分析による解析．

「第 61 回日本寄生虫学会・第 58 回日本衛生動物学会南日本支部合同大会　2008 年 11 月 1－2 日，那覇市」
1）川田　均，比嘉由紀子，Yen NT，Son TH，Thuy HN，駒形修，葛西真治，冨田隆史，高木正洋．ベトナム全土における古タイヤに発生する蚊類の生態調査(3)　ネッタイシマカのピレスロイド抵抗性に関する要因解析と kdr 遺伝子頻度の解析（予報）．

「第 346 回日本皮膚科学会新潟地方会，2008 年 7 月 21 日，新潟市」
1）藤田　繁，葛西真治，冨田隆史．頭ジラミのフェノトリン感受性遺伝子検査結果．

「日本農薬学会第 34 回大会，2009 年 3 月 17 日－19 日，東京都文京区」
1）葛西真治，駒形　修，正野俊夫，糸川健太郎，冨田隆史．ネッタイイエカのピレスロイド剤代謝性シトクロム P450 の同定．

「日本農芸化学会 2009 年度大会，2009 年 3 月 27 日－29 日，福岡市」
1）松谷武嗣，丹羽隆介，葛西真治，冨田隆史，三田和英，片岡宏誌．昆虫前胸腺におけるエクジソン生合成酵素遺伝子の探索．

「日本応用動物昆虫学会第 52 回大会，2009 年 3 月 28 日～30 日，札幌市」
1）星野啓太，岩淵喜久男．ブドウトラカミキリ血液細胞における遺伝子発現の内分泌学的解析．
2）鍬田龍星，原田祐樹，吉田睦浩，近藤栄造，吉賀豊司．日本産 Steinernema 属線虫と共生関係をもつ Xenorhabdus 属細菌の同定．

3) 糸川健太郎，駒形　修，葛西真治，岡村佳香，政田正弘，冨田隆史．殺虫剤抵抗性ネッタイイエカで高発現しているピレスロイド代謝性P450遺伝子の発現機構に関する研究．2009.
4) 冨田隆史，駒形　修，葛西真治，津田良夫，比嘉由紀子，小林睦生，Weerasinghe，IS，Wang，H-C.アジアのコガタアカイエカ集団における殺虫剤抵抗性アセチルコリンエステラーゼ遺伝子(Ace2)の分布(II).
5) 駒形　修，葛西真治，正野俊夫，糸川健太郎，冨田隆史．ネッタイイエカのpermethrinを代謝するシトクロムP450分子種.

「第24回日本ペストコントロール学会大会、2008年10月16-17日、大阪市」
1) 小林睦生．温暖化と感染症、シンポジウム
2) 吉田政弘、山下敏夫、小原豊美、二瓶直子、小林睦生．　蚊成虫の休息場所の検討
3) 吉田政弘、山下敏夫、小原豊美、二瓶直子、小林睦生．　ますます拡がるセアカゴケグモ　―大阪都心部への分布拡大―

「第９回日本比較３学会合同シンポジウム、2008年８月26日、東京」
小林睦生．媒介蚊の分布域拡大とリスク：疾病対策に比較免疫学は貢献するか

調査
1) 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．2008 年 6 月 12 日－22 日，ベトナム.
2) 伊澤晴彦．疾病媒介蚊に対する効果的な微生物防除資材（蚊病原性微生物）の収集・性状調査，ならびに蚊病原微生物のライブラリ―構築に関する共同研究．2008年11月8日－12日，ベトナム.
3) 澤邉京子．フィリピンにおける日本脳炎に関する共同研究打ち合わせと野外調査．2009年1月11日－14日，フィリピン.
4) 葛西真治．　シンガポールのデング熱およびチクングニヤ熱媒介蚊の防除対策に関する情報収集、現地調査．　2009年3月11-14日、シンガポール.
5) 小林睦生．　シンガポールのデング熱およびチクングニヤ熱媒介蚊の防除対策に関する情報収集、現地調査．　2009年3月11-14日、シンガポール.

１２．獣医科学部

部 長　山 田 章 雄

概　要

平成 20 年度は獣医科学部として急な対応を必要とするような突発的な感染症の発生は認められず、比較的落ち着いた環境で研究業務等に集中できたと思われる。獣医科学部が動物由来感染症に関する研究に特化することで新たにスタートを切って以来努力を続けてきた外部との協力関係の構築もスムーズに進んできている。なかでも衛生微生物技術協議会のレファレンスセンターのなかに人獣共通感染症レファレンスセンターが設立されたことの意義は大きい。また、感染研と海外研究機関の連携が進み、ソウルで開催された日・中・韓シンポジウムにおいても人獣共通感染症を話題の一部として取り上げていただき、One Health の考えのもとさまざまな機関の連携について議論を深めることができた。またベトナム衛生疫学研究所とも同様の枠組みの中で共同研究をすすめることが合意され、共同研究がスタートした。また、厚生労働科研費（研究代表者：渡邊副所長）の補助により中国､フィリピンとも共同研究が進められている｡一方、岐阜大学連合獣医学研究科との連携機関であることからモンゴル出身の留学生を受け入れたことがきっかけで、モンゴルとの協力関係も深まり、モンゴル国立感染症疫学センターと獣医科学部の間で共同研究に関する覚書が交わされた。これら以外にも活発な所内の各研究部や外部の様々な研究機関とも分野ごとに共同研究がすすめられた。このように国内外の研究機関との協力関係が深まったことにより、人獣共通感染症の理解と制御に欠かせない One Health コンセプトを実現してゆく上で重要な一歩を進めることができたと考えられる。

業　績

調査・研究

I. 動物由来感染症に関する研究

１．*Brucella* 特異的抗体検出法の開発に関する研究

試験管内凝集反応（TAT）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､市販の免疫クロマト法（IC）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｡IC 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。ELISA 法及び in-house の免疫クロマト法に用いる組換えタンパクの作成を行い､検証を進めている。[木村昌伸、鈴木道雄、今岡浩一]

２．*Brucella canis* 感染症例とその背景、事後対応

イヌ繁殖業者 2 名が *B. canis* に感染・発症したことを受けて、その背景の解析と事後対応への協力を行った。繁殖施設のイヌ、患者及び関係者の抗体検査、遺伝子検出、菌分離などを行った。また、発症の 8 ヶ月前にさかのぼり、すでに販売されていた抗体陽性犬の産仔の追跡調査を行った。患者からは *B. canis* が分離された。施設のイヌは 37 頭のうち、10 頭が抗体陽性、9 頭から PCR 陽性、また 6 頭の血液から *B. canis* が分離された。抗体陽性犬から死産した仔犬を処理したことが、感染原因と推定された。患者家族、病院検査室職員、獣医師は陰性であった｡厚生労働省より､各自治体､日本獣医師会等、関係機関に注意喚起が行われた。国内の犬繁殖施設等では *B. canis* 感染流行がしばしば報告されており、また、国内のイヌの 2～5%が *B. canis* に感染歴を持っている。犬取扱業者や一般飼育者に対して予防に関する指導が必要である。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄（感染研・獣医科学部）、野村篤史、志水英明（中部労災病院・腎臓内科）今西一（中部労災病院・感染管理室）]

３．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

昨年度に続き、国内の野生イノシシおよびシカの血液サンプルを入手し、ブルセラ属菌に対する抗体の保有状況を検討した。家畜ブルセラ菌に対する抗体は昨年度と同様検出されなかった。しかしながら、イヌブルセラ菌に対する抗体を検討したところ、溶血の影響を除外しても､2008-9 年シーズンのサンプルで 4/77 のイノシシ及び 1/52 のシカで凝集が認められた。イヌブルセラ菌は国内に定着しているが、今回、イノシシ及びシカで陽性反応

が見られたことについては、非特異的反応や他の細菌との交差反応の可能性など、さらに詳細に検討していく必要がある。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、山田章雄]

４．カプノサイトファーガ属菌およびパスツレラ属菌に関する疫学的調査・研究

カプノサイトファーガ属菌はイヌやネコの口腔内に常在するグラム陰性桿菌であり、ヒトがイヌやネコに咬傷、掻傷を受けた際に傷口から感染することなどによって種々の症状を呈し、発症した場合の死亡率は30%程度と比較的高い。これまでに、日本国内のイヌ・ネコともに90%以上の高率でカプノサイトファーガ属菌を保有していることを明らかにしてきた。本年度は臨床症例の調査に努めるとともに、収集した臨床分離株について、イヌ・ネコからの分離株と合わせて薬剤感受性試験を行った。*C. canimorsus* はアミノグリコシド系に対しては概ね耐性（あるいは中間）で、クリンダマイシンやエリスロマイシンに対しても耐性（あるいは中間）株があった。クロラムフェニコールやセフォタキシムは *C. canimorsus* および *P. multocida* ともにほぼすべての株が感受性であった。以上のことから、β ラクタマーゼ産生の影響を受けにくいβラクタム系の抗生物質およびテトラサイクリン系、セフェム系の抗生物質がイヌ・ネコ咬傷感染症の治療に有効である事を明らかにした。

今後も継続して、各症例における特徴的な所見など情報の収集と、得られた菌株の解析、カプノサイトファーガ属菌の感染・発症メカニズムについて解明してくことも重要である。[鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄、今岡浩一]

５．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

狂犬病は現在国内で発生していないが、海外からの侵入が憂慮される動物由来感染症であることから国内に侵入した感染動物を早期に察知するためには診断技術向上に有効な実習用モデル・教育訓練教材等が必要不可欠である。狂犬病の診断技術向上のために必要な解剖手技習得モデル・教材として（１）解剖手順習得モデル、（２）実技取得モデル、（３）脳モデルのプロトタイプを作成し、自治体関係機関の現場担当者等とともに教材として実際的な使用を行うために必要な改良点や課題点について検討を行った。[井上　智、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄（獣医科学部）、千葉　操、志村　薫（アペックスバイオサイエンス研究所）、川田　睦、王寺　隆（ネオ・ベッツ VR センター）、織間博光、長谷川大輔（日本獣医生命科学大学）、佐藤　克（狂犬病臨床研究会）、宗村佳子（東京都動物愛護相談センター）、沼田一三、川島　朗、神田　郁、齋藤竜彦（兵庫県動物愛護センター）、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）、堀元栄詞（富山県衛生研究所）、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）、木山真大（鳥取県生活環境部公園自然課）、川瀬　遵（島根県健康福祉部）、松本尚美（鳥取県衛生環境研究所）]

（２）狂犬病の臨床診断に必要な教材開発に関する研究

獣医師および自治体の狂犬病予防員等による狂犬病の疑われるイヌの臨床判断が容易とするために、狂犬病を発症したイヌの臨床診断カルテの素案をタイの赤十字研究所狂犬病診断部（QSMI）および狂犬病臨床研究会との共同研究により作成した。現在、狂犬病診断部（QSMI）とともに狂犬病を発症したイヌの症例映像記録を利用してカルテの妥当性について分析をおこなっている。[佐藤克（狂犬病臨床研究会）、Veera Tepsumethanon（QSMI）、井上　智（獣医科学部）]

（３）アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

アジアの CDC 機能を持つ国立の研究機関等との連携による狂犬病ウイルスの最新のゲノムデータベース構築とこれを活用した分子疫学的解析手法の開発、新しい診断法の開発を目的とした。

a）狂犬病ウイルスの分子疫学に関する研究

アジアで流行している狂犬病ウイルスの分子疫学的解析をフルゲノムで可能とするために必要となる増幅プライマーの設計とこのプライマーを利用した実験株（CVS-11 株）と野外株（フィリピン由来株）のフルゲノムシークエンスを行った。現在、委託研究を行っているフィリピンの熱帯医学研究所（RITM）、ベトナムの国立衛生疫学研究所（NIHE）、中国の疾病制御センター（China CDC）の狂犬病研究部とともにゲノムデータを利用した診断用プライマーの設計、分子疫学データベース構築についてラボラトリーネットワークの強化を行っている。[井上　智、杉浦尚子、Boldbaatar Bazartseren、野口　章、山田章雄（獣医科学部）、黒田　誠、関塚剛史（病原体ゲノム解析研究センター）、Jun R.C. Orbina、Catalino Demetria、Daraia L. Manalo、Plebian Medina、Beatriz Quiambao（RITM）、Nguyen Thi Kieu Anh（NIHE）、Qing Tang（China CDC）]

b）狂犬病ウイルスの迅速抗原検出系に関する研究

狂犬病ウイルスの迅速抗原検出法「dRIT 法（a direct, rapid immunohistochemical test）」を、実験株（CVS11 株）由来の組換えN蛋白をウサギに免疫して得られた抗N蛋白 monospecific-polyclonal Abs（mpAbs）を利用して確立した（mpAbs-dRIT 法）。検出用 mpAbs をビオチン標識後、Streptavidin-Peroxidase と AEC 基質による発色系で狂犬病ウイルス N 抗原の検出を行った。狂犬病ウイルス感染マウス脳の塗沫標本を陽性検体として N 抗原の検出を mpAbs-dRIT 法で行ったところ、市販の蛍光標識診断用抗体と遜色なく抗原を検出できることが示された。なお、mpAbs-dRIT 法の特異性等については、フィリピンの熱帯医学研究所（RITM）狂犬病診断チームと連携して野外での調査等を委託研究で行った。[朴　天鎬、小嶋大亮（北里大学）、Beatriz Quiambao、Catalino Demetria（RITM）、Boldbaatar Bazartseren、杉浦尚子、野口　章、井上　智（獣医科学部）]

c）狂犬病ウイルスの迅速遺伝子検出系に関する研究

新しい迅速遺伝子検出法として「RT-LAMP 法（reverse transcription loop-mediated isothermal amplification）」を CVS11 株（固定毒）とフィリピン由来 Kyoto 株（街上毒：2006 年の輸入狂犬病症例）を利用して確立した。現在、ベトナムの国立衛生疫学研究所（NIHE）と連携して野外検体を利用した RT-LAMP 法の検出感度と特異性について協同研究を進めている。[Boldbaatar Bazartseren、野口章、山田章雄、井上　智（獣医科学部）、Jun R.C. Orbina、Catalino Demetria、Daraia L. Manalo、Beatriz Quiambao（RITM）、Nguyen Thi Kieu Anh（NIHE）]

（４）狂犬病の免疫グロブリンに関する研究

我が国ではこれまでにRIGの生産も輸入も行われていないため、免疫グロブリン（RIG: rabies immunoglobulin）についての知見等が蓄積されていない。昨年と同様に Aventis Behring 社から輸入した RIG の力価について、冷蔵状態（4℃）で長期保存後の安定性を確認した。結果、有効期限を３年経過した状態でもRIGの中和抗体価は昨年と同様に製品表示の基準値と遜色のない力価が維持されていることが示された。[野口 章、井上　智（獣医科学部）、倉根一郎（ウイルス一部）]

（５）ELISA を利用したイヌ血清中抗狂犬病ウイルス中和抗体測定代替法の検討

狂犬病ワクチン接種犬の中和抗体測定に生ウイルスを使用しない安全で簡便な方法として ELISA を利用した代替法の検討を行っている。現在、中和法（RFFIT）と ELISA 法で高い相関が示されたが、陽性率で若干の差異が認められたため感度と精度を高めるために試薬・反応系の改良を行っている。[野口 章、加来義浩、奥谷晶子、井上　智（獣医科学部）、松本尚美（鳥取県衛生環境研究所）、小川知子（千葉県衛生研究所）]

（６）狂犬病の診断法確立に関する研究

より安価に特異抗体を生産可能な方法として、免疫グロブリン V_H 鎖、V_L 鎖の抗原結合領域だけから構成される小型の抗体様分子である「single chain variable fragment (scFv)」を利用した狂犬病の抗原診断法の確立を試みた。今回、狂犬病ウイルス（CVS-11）P 蛋白質に対する４種類のヘテロなクローン「scFv」（No.19、38、80、115）の作出に成功した。蛍光標識した 4 つのクローンはいずれも感染細胞中の狂犬病ウイルス（CVS-11）抗原に特異的に反応することが確かめられた。作出した scFv の反応性と特異性については検討の余地が残されているが、標識-抗 RV-P scFv が狂犬病ウイルスの抗原検出系に利用できることが示された。[加来　義浩、野口 章、井上　智（獣医科学部）]

（７）狂犬病野外ブラジル株を用いた In vivo 接種試験

狂犬病野外株の馴化のメカニズムを解明するために、州立サンパウロ大学(ブラジル)の協力のもと、食虫コウモリおよび家畜（ウシ・ヒツジ）より分離された株をマウス脳内で 4～11 代継代した。継代数の増加につれ潜伏期間は短縮していく傾向を見せ、末梢感染後の死亡率も上昇した。現在、継代前／継代後で見られた表現系の違いがウイルスの遺伝子変異に基づくものかについてゲノム解析等を行っている。[佐藤　豪、杉浦尚子、井上　智（獣医科学部）、朴　天鎬、小嶋大亮（北里大学）、伊藤琢也、酒井　健夫（日本大学）、Ito H. Fumio（州立サンパウロ大学）]

（７）狂犬病対策システムの構築に向けて（提言）

日本学術会議生産農学委員会獣医学分科会の審議結果を取りまとめて、狂犬病の予防や速やかな治療の実現及び我が国への侵入の阻止のために以下を提言した。

（１） 厚生労働省及び農林水産省は、国外における発生状況や流行様式の実態を正しく把握し、国民に向けた正しい狂犬病の知識と予防法の普及・啓発を行うとともに、飼育犬に対するワクチン接種率の向上を図る。

（２） 厚生労働省及び地方自治体は、国内で狂犬病が疑われた、もしくは発生した場合に備え、行政機関における対応マニュアルの作成や検査システム、医療用ワクチンの確保等の事前準備の充実を図る。（３） 動物由来感染症である狂犬病の予防対策には、医学領域

と獣医学領域の専門家及び行政の感染症担当者による相互理解と連携が重要であることから、三者を含めた情報交換システムを構築する。（４） 我が国におけるリスク要因の適切かつ継続的な調査を実施するとともに、発生源であるアジアを中心とする近隣諸国との連携による国際的な狂犬病対策に関する共同研究を推進する。[唐木英明、土井邦雄、赤堀文昭、西原眞杉、春日文子、林 良博、矢野秀雄、廉澤 剛、汾陽光盛、喜田 宏、佐々木伸雄、佐藤れえ子、高島郁夫、眞鍋 昇、森 裕司、八神健一、山根義久、井上 智（日本学術会議生産農学委員会獣医学分科会）]

６．炭疽に関する研究

（１）MLVA 25 loci を利用した国内分離株の系統解析

国内で動物とヒトから分離された炭疽菌 12 株を MLVA25 カ所（染色体 23 ヶ所とプラスミド 2 ヶ所）についてフラグメント解析を行った所、いずれもクラスターA3a と A3b に分類された。 [奥谷晶子、井上 智(獣医科学部)、関塚剛史、黒田誠 (病原体ゲノム解析研究センター)]

（２）国内分離株の病原性プラスミドの網羅的 SNP 解析

B. anthracis BA103 株および BA104 株の病原性プラスミド（pXO1 と pXO2）の全塩基配列を決定してウェブデータベース上の外国由来 17 菌株とともに網羅的 SNP 抽出を行い、系統解析を行ったところ MLVA 25 loci を利用した系統解析によるクラスター分類と一致することが明らかとなった。[関塚剛史、黒田誠 (病原体ゲノム解析研究センター)、奥谷晶子、井上智 (獣医科学部)]

（３）LAMP 法による炭疽菌遺伝子検出法の検討

山形県庄内食肉衛生検査所で、当部より分与した抽出 DNA 溶液（*B.anthracis*10 株、*B.cereus*3 株、*B.thuringiensis*3 株 *B.subtilis*1 株、*Escherichia coli* 1 株）を利用してリアルタイム濁度検出装置(LA-320C)を用いた LAMP 法による迅速炭疽菌検査法の検討を行った。その結果、DNA 量 10ng/tube で 30 分以内に濁度上昇が認められ既報（60 分）よりも迅速であり、検出感度は 1fg～10fg/tube で、制限酵素処理による増幅産物の特異性確認も可能であった。現在、検査対象である臓器等での検出感度について検討を行っている。[高杉幹男(山形県庄内食肉衛生検査所)、池田陽子(山形県内陸食肉衛生検査所)、奥谷晶子、井上智 (獣医科学部)]

７．ヘニパウイルス感染症に関する研究

（１）ニパウイルス（NiV）の抗原 capture ELISA の開発

近年、現行の診断用プライマーでは増幅できないヘニパウイルス株の出現が報告されている。そこで、ウイルス遺伝子のプライマー相当領域が変異した株でも検出できるよう、capture ELISA による抗原検出系の開発を行った。昨年度までに作製した抗 NiV-F, G ウサギ抗血清から IgG を精製して固相化用／検出用抗体として用いた。NiV-F/G 発現シュードタイプをウイルス抗原として capture ELISA を行った結果、検出限界は 1.3×10^3 infectious unit であった。現在、BSL4 施設を有する豪州家畜衛生研究所で感染性 NiV を使用した capture ELISA との比較検討を計画している。 [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

NiV、ヘンドラウイルス（HeV）抗体の血清スクリーニングには ELISA が行われているが、動物種によっては非特異反応が確認されている。確定診断には感染性ウイルスを用いた中和試験が望ましいが、BSL4 施設以外では実施できない。そこで、BSL2 以下での試験を可能とするために、NiV-F, G 蛋白を発現した VSV シュードタイプ（感染細胞で蛍光蛋白質 GFP を発現する）を用いた中和代替法の開発を行った。ヒト、ブタ、オオコウモリ、ウマ、ネコ、ウサギの NiV 感染／免疫血清に対して、上記シュードタイプによる中和試験を行い、現行の感染性ウイルスによる中和試験と反応性を比較した結果、現行法よりも高感度に中和抗体を検出できた。[加来義浩、野口 章、奥谷晶子、山田章雄、井上 智]

行政検査および関連の問い合わせ

レファレンス関連マテリアルの分与等

・狂犬病ウイルス検査の陽性対照品

平成 20 年 6 月（神奈川県衛生研究所）：陽性対照 RNA、サイズマーカー、N タンパク発現固定細胞

・炭疽菌検出の陽性対照品

平成 20 年 6 月：福島衛生研究所、陽性対照遺伝子（抽出ゲノム DNA、PCR 増幅遺伝子（pGEM-Pac1、pGEM-CAPc3））

平成 21 年 2 月：さいたま市健康科学研究センター、PCR 増幅遺伝子（cap と pag 遺伝子の全長）

電話対応

・狂犬病に関する問い合わせ

一　般： 5 件（咬傷被害への対応等）
医　師： 2 件（咬傷被害への対応等）
自治体： 2 件（咬傷被害への対応等）
取材等： 3 件（資料提供等）

・炭疽に関する問い合わせ
自治体： 1 件（検査法）

８．野兎病に関する研究

（１）野鼠における野兎病菌の保有調査

環境中の野兎病菌の存在様式の解明を目的に、野兎病罹患ノウサギが発見された地点を中心に約 1km 以内に生息する野鼠を捕獲し野兎病菌の有無を調査した。ハタネズミ 31、アカネズミ 13、ヒメネズミ 9、ヒミズ 3 およびトガリネズミ 1 の計 57 匹が捕獲された。それら動物から血液、脾臓、肝臓および外部寄生虫（ダニ、ノミ、ツツガムシ）を採取した。野兎病菌に対する抗体の検出を試みたが陽性検体は認められなかった。脾臓、肝臓ならびに外部寄生虫について野兎病菌の特異的遺伝子の増幅は認められず、菌分離もされなかった。これより当地域が野兎病菌に重度に汚染されている事実はないと考えられた。

〔堀田明豊、藤田　修、宇田明彦、山本美江、棚林　清〕

（２）自然界における野兎病菌の維持様式に関する研究

野兎病菌は自然界において野生げっ歯類やノウサギなどと吸血性節足動物間で維持されていると考えられているが、現実的にこれらが巡り会う機会は非常に少ない。今回我々は、自然界における野兎病の維持様式を調べるため、野兎病に自然感染し斃死した野生ノウサギが発見された牧野において様々な自然環境材料を採取し、これらから抽出した DNA について野兎病菌ゲノムの検出を試みた。その結果、牧野に点在する池の水より分離培養したアメーバ種、斃死ノウサギが発見された場所付近の土壌、そしてダニの一部より特異的遺伝子もしくは類似菌の DNA が検出された。しかし、野兎病菌の分離はできず、さらに調査が必要と考えられる。

〔藤田　修、堀田明豊、宇田明彦、山本美恵、棚林　清〕

（３）斃死ノウサギの剖検および野兎病菌分離

秋田県内で発見された斃死ノウサギを剖検した。脾臓に多数の針頭大の白点が認められた以外、肉眼的に著変は認められなかった。脾臓、肝臓、肺および腎臓から野兎病菌特異的遺伝子断片が、また蛍光抗体法により野兎病菌抗原が検出された。これら臓器から微小灰白色コロニーが分離され、野兎病菌と同定された。脾臓、肝臓、肺で 10^{7-8}/g、腎臓で 5×10^{4}/g の菌が検出された。これより自然感染ノウサギにおける病理像が確認でき、新規の野兎病菌株（NVF1）を確立できた。また斃死ノウサギ材料において当研究室の野兎病検査法が有効であることが示された。一方当地域で近年捕獲された健常ノウサギの 56 羽の血清抗体、脾臓、肝臓、体表付着ダニについて検査したがいずれからも異常は認められなかった。

〔堀田明豊、藤田修、山本美江、宇田晶彦、棚林清〕

（４）野兎病患者血清中抗体価の推移

同一時に感染したと考えられる野兎病患者 2 名（患者 A、B）の血清抗体価を経時的に測定した。患者 A は 8 日目に発症し、野兎病のチフス型と診断された。患者 B は無症状で抗体価の上昇のみ認められた。両者から計 5 回（推定感染源との接触後 23 日、30 日、37 日、67 日、192 日目）採血し、それぞれの抗体価を測定した。微量凝集反応試験にて、患者 A は 40、160、160、80、40 倍と、患者 B は 40、160、160，160、40 倍と、推移した。これにより、野兎病患者は発症の有無に関わらず感染後 1 ヶ月後から 2 ヶ月程高い抗体価が維持され、また 6 ヶ月程で低下することがあると示された。

〔堀田明豊、藤田修、山本美江、宇田晶彦、棚林清〕

（５）市販と自家製のチョコレート寒天培地における *Francisella* 属菌の増殖性の比較

Francisella 属菌 Yama、Schu、LVS、38 および U112 菌液について自家調製の緬羊脱線血加 Eugon チョコレート寒天培地と BBL 社チョコレート（II）寒天培地における菌数を比較した。Schu および U112 の CFU は市販培地で自家製培地の 2 倍程多い傾向があった。他 3 株では自家製培地が 1.2 倍程多かった。自家製培地における Schu の菌数は培養 3 日後と 6 日後の測定で 10^{2} の差があったが市販培地では培養 3 日後から大きな変化はなかった。これら寒天培地間では野兎病菌の増殖性は培養 6 日後では著しい差は無く、菌分離の成績には差は少ないと考えられた。また市販のチョコレート寒天培地は培養 3 日からの安定した CFU 測定に有用と考えられた。

〔堀田明豊、藤田修、山本美江、宇田晶彦、棚林清〕

９．鳥インフルエンザに関する研究

（１）鳥インフルエンザウイルスゲノムの高感度検出法の比較検討

高病原性鳥インフルエンザの検査においてウイルスゲノム検出法として WHO の推奨する 2 種類の RT-PCR 法と 3 種類のリアルタイム RT-PCR 法で 5 株のインフルエ

ンザウイルス株〔WSN(H1N1)、PR8(H1N1)、A/Mallard/Miyazaki/MZ5/2007(H1N3)、A/duck/Hyogo/35/01(H5N１)、A/Blowfly /Kyoto/I93/2004(H5N1)〕との反応性や検出感度並びに操作性の検討を行った。鳥由来インフルエンザウイルス RNA の検出ではいずれも感度については良好な結果がえられたが所要時間についてはリアルタイム RT-PCR 法が短く、作業量も少ない事がわかった。

〔山本美江、宇田晶彦、堀田明豊、藤田修、棚林清〕

その他

網羅的病原体検出法に関する研究

（１）網羅的病原体マイクロアレイによる廃棄された牛および豚臓器に含まれる病原体の検出

食肉処理場で廃棄された牛および豚臓器に含まれる病原体を調査する為に、自作病原体検出用マイクロアレイを用いて網羅的病原体同定を行った。採取した 32 検体は、ホモジネートした後、SepaGene にて核酸抽出し、Alexa546 で蛍光標識した。これらの標識核酸を病原体検出用マイクロアレイと一晩ハイブリダイゼーションを行い、洗浄後、マイクロアレイスキャナーで病原体プローブと相補したサンプル核酸の蛍光強度を読み取った。この結果、2 検体から放線菌ゲノムの陽性反応が検出された。同様に、この 2 検体は PCR でも陽性反応が確認され、一部の臓器には放線菌由来核酸が含まれている可能性が示唆された。

〔宇田晶彦、藤田修、堀田明豊、山本美江、棚林清〕

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Kimura,M., Imaoka,K., Suzuki,M., Kamiyama,T. and Yamada,A. Evaluation of a microplate agglutination test (MAT) for serological diagnosis of canine brucellosis. J. Vet. Med. Sci., 70:707-709, 2008

2) Nakagomi,D., Deguchi,N., Yagasaki,A., Harada,K., Shibagaki,N., Kimura,M., Imaoka,K. and Shimada,S. Rat-bite fever identified by PCR detection of *Streptobacillus moniliformis* DNA. J. Dermatol., 35:667-670, 2008

3) Inokuma H., Seino N., Suzuki M., Kaji K., Takahashi H., Igota H., and Inoue S. 2008. Detection of Rickettsia Helvetica DNA from Peripheral Blood of Sika Deer (Cervus Nippon yesoensis) in Japan. J.Wild.Dis. 44:164-167.

4) Nishizono A., Khawplod P., Ahmed K., Goto K., Shiota S., Mifune K., Yasui T., Takayama K., Kobayashi Y., Mannen K., Tepsumethanon V., Mitmoonpitak C., Inoue S. and Morimoto K. 2008. A simple and rapid immunochromatographic test kit for rabies diagnosis. Microbiol.Immunol. 52:243-249.

5) 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. 52:270-276.

6) Hotta K., Bazartseren B., Kaku Y., Noguchi A., Okutani A., Inoue S. and Yamada A. 2008. Effect of cellular cholesterol depletion on rabies virus infection. Virus Res. 139:85-90.

7) Kojima D., Chun-Ho P., Yusuke S., Inoue S., Noguchi A. and Toshifumi O. 2008. Pathology of the Spinal Cord of C57BL/6J Mice Infected with Rabies Virus (CVS-11 Strain). J.Vet.Med.Sci. 71:319-324.

8) Sato G., Kobayashi Y., Motizuki N., Hirano S., Itou T., Cunha E. M., Ito F. H., Sakai T. 2009. A unique substitution at position 333 on the glycoprotein of rabies virus street strains isolated from non-hematophagous bats in Brazil. Virus Genes. 38:74-79.

２． 和文発表

1) 今岡浩一. 人獣共通感染症としてのブルセラ症. Info Vets, 11(8): 12-16, 2008

2) 今岡浩一. ブルセラ症の治療選択における重要な指針. MMJ, 4(9): 774-775, 2008

3) 鈴木道雄. イヌ・ネコの咬傷に伴うパスツレラ症及びカプノサイトファーガ症とその検査. in : 感染症検査実習マニュアル, 日本獣医師会, 86-94, 2008

4) 今岡浩一. ブルセラ病とその検査. in : 感染症検査実習マニュアル, 日本獣医師会, 95-108, 2008

5) 今岡浩一. ブルセラ. in : バイオセーフティの事典 (バイオメディカルサイエンス研究会 編), みみずく舎/医学評論社, 169-171, 2008

6) 今岡浩一. 犬ブルセラ症の現状と課題. 日本獣医師会誌, 62(1): 5-12, 2009

7) 今岡浩一. ブルセラ症の最近の話題. モダンメディア, 55(3): 76-85, 2009

8) 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（Journal of Veterinary Medicine）。61 ：184-187、2008

9) 井上 智、佐藤 克、梅田浩史、衛藤真理子。狂犬病（Rabies）。JRA 特別振興事業（ウエストナイルウイルス感染症等特別対策事業）。社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会。2008

10) 井上 智。＜一口メモ＞人獣共通感染症。産業保健

ハンドブック VI 職場の感染症対策（予防管理・発生時対策・臨床・補償のすべて）。監修：和田　攻。日本医師会推薦。財団法人産業医学振興財団。p32、2008

11)　井上　智。＜一口メモ＞動物由来感染症。産業保健ハンドブック VI 職場の感染症対策（予防管理・発生時対策・臨床・補償のすべて）。監修：和田　攻。日本医師会推薦。財団法人産業医学振興財団。p32-33、2008

12)　井上　智。狂犬病の診断技術向上のためのイヌの頭部解剖手技の習得モデルと教材開発の紹介。ラボテック（技術紹介）。LABIO 21。34：33-35、2008

13)　井上　智、野口　章。トピック：リッサウイルス感染症。検査と技術。36：1465-1467、2008

14)　井上　智。人獣共通感染症が侵入・発生した場合の動物側の対応。特集：海外からの人獣共通感染症の侵入危機とその対策。獣医畜産新法（Journal of Veterinary Medicine）。61　：901-907、2008

15)　井上　智。（７）狂犬病ウイルス、8-4 ウイルス、第 8 章病原微生物の特性と対策。バイオセーフティの辞典：病原微生物とハザード対策の実際。編集：バイオメディカルサイエンス研究会。医学評論社。p258-259、2008

16)　井上　智。世界・日本の現状と獣医師の役割。再考：狂犬病（Interview 1 狂犬病研究の視点から）。MVM（Journal of Modern Veterinary Medicine）、110:6-7、2008

17）棚林　清：野兎病　感染症 38, 18-23、2008。

II. 学　会　発　表

1. 国際学会

1)　Kaku, Y., Noguchi, A., Okutani, A., Hotta, K., Bazartseren, B., Yamada, A. and Inoue, S. Inhibition of rabies virus growth by intrabody against phosphoprotein in mouse neuroblastoma cells.　42nd joint working conference on viral diseases and satellite meeting. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 26-28 May, 2008. Nagasaki, Japan.

2)　Medina, P.B., Acosta, L.P., Jarilla, B., Demetria, C.S., Malbas, F., Inoue, S. and Manalo, D.L. Development of local rabies fluorescent isothiocyanate conjugate (FITC) for direct antigen detection by fluorescent microscopy (FAT) (Preliminary results). Asian DFederation of Laboratory Animal Science. 27-29 September, 2008. China.

２．国内学会

1) 木村昌伸，中込大樹，谷川力，鈴木道雄，今岡浩一，山田章雄．鼠咬症原因菌（*Streptobacillus moniliformis*）の検出方法の確立と，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．第 82 回日本感染症学会総会，松江，2008 年 4 月

2) 鈴木道雄，鈴木葉子，木村昌伸，今岡浩一，山田章雄．*Capnocytophaga canimorsus* の検出法の開発と敗血症・多臓器不全を呈したイヌ咬傷感染症例における菌の同定．第 82 回日本感染症学会総会，松江, 2008 年 4 月

3) 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．PCR 法にて *Streptobacillus moniliformis* DNA を検出した鼠咬症の一例．第 107 回日本皮膚科学会総会，京都, 2008 年 4 月

4)　奥谷晶子、井上　智、今岡浩一、山田章雄。Pyrosequencing による炭疽菌、ペスト菌およびブルセラ属菌の迅速同定法の確立。第 146 回日本獣医学会、2008 年 9 月、宮崎

5)　加来義浩、野口　章、Marsh Glenn、McEachern Jeni f fer、奥谷晶子、堀田こずえ、Bazartseren Boldbaatar、福士秀悦、山田章雄、井上　智、Wang Linfa。VSV シュードウイルスを利用したニパウイルス中和試験法の確立。第 146 回日本獣医学会、2008 年 9 月、宮崎

6)　Bazartseren Boldbaatar、加来義浩、野口　章、奥谷晶子、堀田こずえ、井上　智、山田章雄。Rapid detection of rabies virus by RT-LAMP。第 56 回日本ウイルス学会、2008 年、10 月、岡山

7)　加来義浩、野口　章、奥谷晶子、堀田こずえ、Bazartseren Boldbaatar、福士秀悦、井上　智、山田章雄。VSV シュードウイルスを利用した迅速ニパウイルス中和試験法の研究。第 56 回日本ウイルス学会、2008 年 10 月、岡山

8)　堀田こずえ、加来義浩、奥谷晶子、野口　章、井上　智、山田章雄。細胞膜コレステロールの枯渇が狂犬病ウイルス感染に与える影響について。第 56 回日本ウイルス学会、2008 年 10 月、岡山

9)　奥谷晶子、関塚剛史、黒田　誠、井上　智、山田章雄。日本で分離された炭疽菌の分子遺伝学的解析。第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋

10)　芹澤昌邦、関塚剛史、奥谷晶子、井上　智、黒田　誠。セレウスグループに属する各菌種における SNP の網羅的探索と種間比較におけるその利用。第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋

11)　関塚剛史、井上　智、黒田　誠。動物腸管内の細菌叢および原生動物叢の検出。第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋

12）宇田晶彦、棚林清、永田典代、山本美江、藤田修、堀田明豊、巽正志、長谷川秀樹、松田潤一郎、山田章雄。SARS コロナウイルス感染に高感受性なウイルス受容体発現マウスの作出。第 56 回日本ウイルス学会学術集会 2008 年 10 月　岡山市

３．セミナー・講演等

1) 内田幸憲, 鎌倉和政, 後藤郁夫, 杉本昌生, 福士秀人, 丸山総一, 岸本壽男, 今岡浩一, 吉川泰弘. 動物病院勤務者の人獣共通感染症にかかわる健康調査. 第 8 回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 2008 年 11 月

2) 今岡浩一. ブルセラ症とは？―ヒト・家畜・イヌ―: 教育講演. 第 8 回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 2008 年 11 月

3) 今岡浩一. ブルセラ症とその対応: 特別講演. 横浜市獣医師会研修会, 横浜, 2008 年 12 月

4) 今岡浩一. 家畜伝染病等の食品媒介感染症―ブルセラ症の公衆疫学的側面を例として―: シンポジウム「食品の家畜伝染病起因菌等汚染と検査の問題」. 平成 20 年度日本獣医師会年次大会, 盛岡, 2009 年 1 月

5) 今岡浩一. ブルセラ症の現状. 平成 20 年度希少感染症診断技術研修会, 東京, 2009 年 2 月

6) Inoue, S. Rabies in Japan. Session 4: Country reports on rabies surveillance, prevention and control, legislation and policies developed, IEC, multi-sectoral collaborations and community-based model in human and animals. Workshop on strengthening cooperation and sharing information on rabies among ASEAN plus three countries. The ASEAN plus three Emerging Infectious Diseases Programme. 23-25 April 2008, Ha Long, Vietnam.

7) Inoue, S. and Bazartseren,. B. Rabies in Japan. Meeting Salon of The State Central Veterinary Laboratory (SCVL). 22 September 2008, Ulaanbaatar, Mongol.

8) Inoue, S. Rabies in Japan. Diagnostic skill and advanced methods (2nd technical conference). 26 September 2008, Ulaanbaatar, Mongol.

9) 井上　智。狂犬病の発生事例から知るその課題と備えについて。兵庫県動物愛護管理推進計画策定記念研修会「狂犬病について～その発生に備えて」（平成 20 年度動物愛護監視員（狂犬病予防員）研修会）。兵庫県。2008 年、7 月 4 日、神戸市

10) 井上　智。狂犬病を通して知る公衆衛生の中の獣医（獣医は動物由来感染症の専門家でありリスクグループの代表）。第 264 回獣医学科セミナー。北里大学獣医学部。2008 年、10 月 2 日、十和田市、青森県

11) Orbina, J.R.C., Bajaro, J.D.P., Kamigaki, T., Noguchi, A., Inoue, S., Manalo, D.L., Demetria, C.S., De Guzman, A.S., Quiambao, B.P., Segubre-Mercado, E.M., Saito, M., Suzuki, A., Lupisan, S.P., Olveda, R.M., and Oshitani, H. Molecular epidemiology of rabies in the Philippines. Establishment of methods and preliminary results. The launching of the Tohoku University-RITM collaborating research center for emerging and reemerging infectious diseases. RITM Auditorium. 20 October 2008, Manila, Philippines.

12) 井上　智。疑似狂犬病検体採取の方法。職場研修：疑似狂犬病検体採取。動物愛護相談センター城南島出張所。2008 年 10 月 30 日、東京都

13) 井上　智、松本尚美。海外における狂犬病トピックス：諸外国での狂犬病対応事例とタイでの狂犬病研修報告。平成 20 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。2008 年 10 月 31 日、北里大学薬学部コンベンションホール、東京都

14) 井上　智。海外で起きた犬等の輸入狂犬病について：我が国に必要とされる狂犬病対策の取り組み。平成 20 年度 狂犬病予防注射指定獣医師等研修会。社団法人岩手県獣医師会。2008 年 11 月 7 日、盛岡市（いわて共済ビル）、岩手県

15) 井上　智。狂犬病について。３：世界における狂犬病の発生と対策の現状。人と動物の共通感染症講習会。社団法人徳島県獣医師会。2008 年 12 月 11 日、徳島市（ホテルグランドパレス徳島）、徳島県

16) 井上　智。狂犬病予防：発生を想定した取り組み。教育講演-狂犬病と取り組む。日本小動物獣医学会。平成 20 年度日本獣医師会、学会年次大会。2009 年 1 月 24 日、盛岡市（アイーナ/マリオス）、岩手県

17) 井上　智。狂犬病発生時の対応（解剖について）。全国動物管理関係事業所協議会中国・四国ブロック会議。倉敷市保健所。2009 年 1 月 30 日、倉敷市、岡山県

18) 井上　智。狂犬病の現状について。宮崎県食品衛生監視員・食肉衛生検査所・公衆衛生獣医師協議会、獣医師会（4 者合同研修会）。宮崎県総合保健センター。2008 年 2 月 7 日、宮崎市、宮崎県

19）棚林　清。霊長類(non-human primates)を介して感染する疾病について。平成 20 年度予防衛生協会バイオセーフティ講習会。医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター　2008 年 7 月 28 日 つくば市

20）棚林　清。動物由来感染症について。平成 20 年度獣医師高度技術研修事業。東京大学動物医療センター　2009 年 1 月 9 日　東京

21）棚林　清。野兎病の現状。平成 20 年度希少感染症技術研修会。国立感染症研究所　2009 年 2 月 25 日 東京

22）棚林　清。狩猟と動物由来感染症（野兎病、鳥インフルエンザなど）。秋田由利連合猟友会研修会。2009 年 3 月 7 日 由利本荘市

23）堀田明豊。ノウサギにおける野兎病の調査―これま

での結果と今後にむけて―
秋田由利連合猟友会研修会。2009 年 3 月 7 日 由利本荘市

研修実績

1) 平成 21 年 2 月～(4 月)
海外からの短期研究生の受け入れ
研修生：1 名、Kurukshetra University, Haryana, India より
担当教官：今岡浩一
研修内容：ブルセラ属菌の取扱と検出法について

１３．血液・安全性研究部

部 長　山口　一成

概要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定および標準品の整備、またこれらの業務に関連した科学的調査･研究を行っている。当部は４室で構成されており、第１室（血液製剤室）は血液製剤に関わる業務、第２室（輸血病態室）は輸血関連病態に関わる業務、第３室（物理化学室）は物理化学に関わる業務、第４室（ワクチン・血液室）は安全性（毒性試験など）に関わる業務を担当している。

2008 年度の国家検定関連試験実施数はのべ 1400 検体であり、前年比ほぼ横ばいであるが、新規ワクチンの承認に関連した試験実施数が増加している。新規ワクチンには新しい製法が取り入れられているため、様々な試験の対応が要求される。試験を担当する側には、腕の見せ所であるが、試験の持つ意義を明確にしつつ、試験精度のさらなる向上を追求する姿勢が必要とされる。一方でこのような状況下では国家検定のスリム化は喫緊の課題である。当部ではその対策の一つとして、国家検定実施における問題点の検討や新しい技術を導入した安全性試験の開発・導入にむけた開発研究を行っている。とくに後者のもたらすメリットとして、既存の試験項目の集約化が見込めることである。また、血液製剤についても、これまでの動物を用いる安全性試験から試験管内試験に置き換えが可能な製剤については、積極的に試験法の代替を検討し実施している。

また血液の安全性に関連して、これまで当部において血液製剤に関するウイルス検査のための標準品の整備を進めてきたが、新しい試みとして、血液製剤に関連する病原体検出法の新規開発、血液製剤に含まれるウイルスの不活化法開発、血液製剤の副反応に関するモニタリングの基盤整備も行っている。いずれも血液製剤の安全性に非常に重要な項目ではあるものの、改良、改善の余地は残されていることから、今後とくに力を入れていきたい。なお、これら血液の安全性に関する研究の他に、ワクチンの品質管理および開発に関する研究も厚生労働省科学研究費および文部科学省科学研究費により着実に遂行されている。

平成２０年度は当部において、大きな変化があった。平成１６年より部長として国家検定業務、研究の指揮を執ってこられた山口一成先生が平成２１年３月３１日で、定年退官された。同４月１日に第４室室長であった浜口功が部長に昇任した。この他に、平成２０年７月１日に琉球大学准教授、大隈和が第三室室長に着任した。平成２０年９月に第二室、大坪寛子研究員が東京慈恵会医科大学に転出した。また平成２１年２月より水上拓郎主任研究官が英国オックスフォード大学に海外長期出張している。さらに平成１９年より当部に在籍していたリサーチレジデントの伊藤昌彦は平成２１年４月、山口大学医学部に転出した。

山口一成前部長の在任期間は５年間であったが、血液・安全性研究部の国家検定業務および科学的研究の両者において卓越した指導力を発揮された。とくに研究活動においては目覚ましい発展がみられた。今後新しい体制での更なる発展を目指す。

業　績

調査・研究

Ⅰ．血液製剤の安全性に関する研究

1. プリオンに関する研究

血液を介したプリオン病の感染を防止するために除去法が検討されているが、血液に類似した適当な評価系がないことである。我々が作製した BSE 感染ウシ脳乳剤を用いて感染させたヒト細胞株は培養上清中に異常プリオンを産生する。しかし、定量性に問題があり安定した評価系ではなかった。脳乳剤では凝集が生じ易いことから培養液中でも同様な凝集が起こっていると推定し、培養液にキレート剤を添加した。その結果、定量性が安定化し、除去法の評価に有用な系になったと考えられる。

［岡田義昭、水澤左衛子、野島清子、山口一成］

2. HCV 感染と B 細胞リンパ腫との関連に関する研究

（1）AID、cyclin D の関与

HCV 感染と非ホジキン型 B 細胞リンパ腫発症との関連が強く示唆されている。しかし B 細胞に HCV が感染し、さらには増殖するかについては不明である。本研究では HCV 慢性感染患者末梢血 B 細胞における HCV 感染･増殖を検討し、さらに HCV 感染と B 細胞リンパ腫発症との関連を検討した。その結果、HCV 慢性感染患者においては末梢血 B 細胞に HCV が感染していること、また HCV 蛋白の発現が見られることから、HCV が B 細胞内で増殖していることが示された。HCV 慢性感染患者の末梢血Ｂ細胞では、DNA に変異を誘導することで知られている AID や、cyclin D などの腫瘍化関連遺伝子の発現に変動が起きており、B 細胞リンパ腫の発症との関連が強く示唆された。

［伊藤昌彦、村上恭子（ウイルス第２部）、鈴木哲朗（ウイルス第２部）、益見厚子、持田恵子（細菌第２部）、鈴木美穂（埼玉医大）、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、水落利明］

（2）IRF、RIG-Ⅰの関与

日赤から得た正常血液と病院から得た感染者由来抹消血液から CD19+細胞を採取した。CD19+細胞における核酸及びタンパクレベルで HCV 感染により変動するいくつかの宿主因子を比較して、RNA センサーとして知られる RIG-I が上昇していることを見いだした。さらに CD19+細胞において IFN 制御転写因子（IRF）の上昇がタンパクレベルで顕著に認められ、この因子と RIG-I 上昇との関連を調べている。

［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、持田恵子（細菌第二部）、山口一成］

（3）マウスモデルを用いた HCV 感染による B 細胞リンパ腫発症機序の解析

近年、肝臓の慢性疾患を惹起するウイルスである HCV が、B 細胞リンパ腫発症にも関与することが示唆されているが、その機序は明らかでない。我々は、ヒト、チンパンジーにしか感受性のない HCV の感染病態解析モデルとして、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による *in vivo* 評価系を構築した。現在、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出し、HCV 病原遺伝子の B 細胞リンパ腫発症機序への寄与を解析すべく、検討を行っている。

［百瀬暖佳、浜口 功、滝澤和也、水落利明、岡田誠治（熊本大）、山口一成］

3. エイズの制御に向けた新規治療薬及びヒト化マウスモデルの開発

ヒト免疫不全ウイルス１型(HIV-1)感染/エイズに対する多剤併用療法には、副作用や多剤耐性ウイルスの出現による治療効果の減弱等の問題点があるため、新規薬剤の開発が急務である。我々は、HIV-1 受容体及び OX40L 分子を発現する組換え水疱性口内炎ウイルスを作製し、この組換えウイルスの *in vitro* における治療効果を検討している。また、ヒトの免疫機構を構築したヒト化マウスを用いた感染実験動物モデルとして、ヒト IL-4 を産生するヒト化マウスを作製した。このマウスが X4 HIV-1 の優れた動物モデルであることが分かったので、その開発研究も進めている。

［大隈　和、田中勇悦（琉球大学）、山本直樹（エイズ研究センター）］

4. 血液を介するウイルス検出システムの開発

血液製剤検査の精度向上のため、病原体特異的なプライマーとミニアレイチップを組み合わせることによって、既存のシステムより簡便で高感度、かつ経済的に病原体のスクリーニングが行えるシステムを開発を行っている。昨年度作製した HIV、HBV、HCV の３種のウイルスを検出するためのアレイチップは、標準検体中のウイルスを NAT 検査と同程度、もしくはそれ以上の感度で個別に検出することが可能であることが確認された。また合成 DNA による評価から、このチップが各ウイルスの全ての遺伝子型を有効に検出することが可能であることも示唆された。現在、更に PvB19 と WNV を加えた５種のウイルスを同時に検出するためのアレイチップを作製し、ウイルス検出能力の検証を行っている。

［滝澤和也、水上拓郎、倉光 球、水谷哲也（ウイルス 1 部）、遠藤大二（北海道大学）、古田里佳（日赤）、中島龍生（日本パーカーライジング）、半田 誠（慶大）、浜口 功、山口一成］

5. 血液製剤製造所が実施している肝炎等ウイルスの核酸増幅試験の実状把握のための研究

（1）血液製剤のＣ型肝炎ウイルス核酸増幅試験(HCV-NAT)の感度に関するコントロールサーベイの実施

血漿分画製剤製造販売業者等（分画メーカー）においては、原料血漿を製造した際の検査として HBV, HCV 及び HIV の NAT の検出感度の目標を４課長通知に基づき 100IU/mL とし、その精度管理が求められている。各施設が実施している試験が目標を達成していることの確認と

実状を明らかにすることを目的として昨年度の厚労科研費研究班で HCV-NAT と HIV-NAT のコントロールサーベイを実施した。HCV-NAT の結果を今年度に解析した。分画メーカー、衛生検査所、試薬メーカー及び公的機関の合計 15 機関 18 施設が参加して延べ 23 セットの測定を実施した。分画メーカーの全施設において HCV-NAT は目標とする感度 100IU/mL を達成していることが確認された。

［水澤左衛子、水落利明、岡田義昭、種市麻衣子、野島清子、斎賀菊江、山口一成］

（2）血液製剤のエイズウイルス核酸増幅試験(HIV-NAT)の感度に関するコントロールサーベイの実施

昨年度実施した HIV- NAT コントロールサーベイの結果を今年度解析した。合計 8 機関 11 施設が参加し、のべ 15 セットの測定を実施した。NAT ガイドラインでは目的とする感度の 3 倍濃度の陽性コントロールを用いて試験法の精度管理を行うことを推奨している。本サーベイの結果、目的とする検出感度の 3 倍濃度に相当する 300IU/mL の検体の検出率は全体で 44/45（98%）であった。一回だけ陰性となった当該施設の 300IU/mL と 100IU/mL の検体の検出率はいずれも 2/3 検出だった。よって、全施設において NAT の感度の精度管理が適正に実施されていることが確認できた。

［水澤左衛子、水落利明、岡田義昭、種市麻衣子、野島清子、斎賀菊江、山口一成］

6. 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検討している。

（1）加圧処理における血漿分画製剤の機能維持の検討

血漿中の病原体を不活化するためには、300MPa の加圧処理が必要である。そこで、様々な血液製剤に 300MPa の加圧処理を行い、その機能維持を検討した。第８因子は加圧処理により機能が低下し、特にフォンビルブランド因子を含む製剤では著しい活性低下が認められた。ATⅢは病原体が不活化される 300MPa の加圧処理でも活性を充分に保っていた。グロブリン製剤は 400MPa を超えると凝集体が産生されることが確認された。これまでの結果より、加圧処理で病原体を不活化した血漿を原料とした場合、第Ⅷ因子製剤以外の血液製剤の製造に応用可能であることが示された。

［野島清子、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）加圧処理における病原体不活化「増強法」の検討

これまで検討したウイルスの多くは 3000 気圧の加圧処理によって有効な不活化効果を得ることができたが、血漿タンパク質や血球への影響を考慮すると低圧で同等の不活化効率が得られる「増強法」を開発する必要がある。今回、酸性条件下に加圧処理を行なったところ、これまで不活化効果が認められなかった 2000 気圧の加圧処理によっても中性 3000 気圧と同等の不活化効果が得られた。酸性での加圧によって血液製剤へどのような影響が出るのか検討中であるが、これまで加圧効果を増強するような方法の報告はない。

［野島清子、岡田義昭、山口一成　笹川秋彦(越後製菓総合研究所)］

7. 日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究

2007 年 11 月に輸血製剤による副作用全数把握に向けてのサーベイランスシステムを構築し、オンライン登録による副作用収集の体制づくりの検討を行っている。7 つの大学病院によるパイロットスタディは順調に進行し、2007 年と 2008 年の各年の結果を「輸血製剤副反応動向」として報告した。そして、これらのまとめを 2009 年 6 月に日本輸血・細胞治療学会のホームページに掲載した。今後全国網羅のシステムの構築を目指すための基盤作りとして、300 床以下の 6 病院が 2009 年度よりパイロットスタディに参加することとなった。

［浜口 功、大坪寛子、岡田義昭、種市麻衣子、小高千加子、大隈　和、山口一成］

8. 本邦における HTLV-1 感染及び関連疾患の実態調査と総合対策

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型(HTLV-1)は、難治性疾患である成人 T 細胞白血病の他に、HTLV-1 関連脊髄症、HTLV-1 関連ブドウ膜炎等を引き起こし、本邦では今でもその感染率が高いため、系統的な対策が必要である。しかし、2000 年代に入ってからこれらの疾患やキャリア数の把握のための全国的な実態調査は行われていなかった。そこで、日本赤十字社の協力を得て平成 18、19 年の全国の HTLV-1 キャリア数の把握を行ったところ、約 108 万人

であることが明らかとなり、20 年以上前に報告された約 120 万人に比べ、減少はみられるものの、引き続き多くの感染者が存在していることがわかった。またこれについては、地域別割合を解析し、以前の報告と比較したところ、感染者が九州から全国へ拡散している可能性が示唆された。

［大隈　和、山口一成］

Ⅱ．品質管理に関する業務、研究

1. WHO による第八世代人血液凝固第 VIII 因子国際標準品制定のための collaborative study への参加

第八世代の人血液凝固第 VIII 因子国際標準品制定のための collaborative study に参加し、候補品の力価測定を行った。17 カ国 38 研究機関のデータを集積し NIBSC が解析を行い、今後第八世代人血液凝固第 VIII 因子国際標準品の力価が決定されることになっている。

［種市麻衣子］

2. 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

昨年度に引き続き国立感染症研究所国内標準パネルの整備を行った。本年度においては HIVAg 検体パネルに引き続き HBsAg, HCVAb, HCV RNA, HBV DNA, HAVAb の国内標準パネル整備が完了した。また国立感染症研究所国内標準パネル運営委員会規程（案）が作成され、今後のパネル管理及び譲渡申請に関する審査等の事項を適正かつ円滑に実施するために標準パネル運営委員会を置くこととなった。

［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）、大西和夫（免疫部）山口一成］

3. 重合物否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションついての研究

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。分析技術の進歩により、今まで分離できなかった三量体が分離できるようになった。一定量の三量体を含む分析参照品を定めて分画製造メーカーへ配布して分析を依頼した結果、メーカー間で検出感度に差があることが明らかとなった。検出感度を統一し、三量体が検出できるように試験法を標準化する必要がある。グロブリン製剤製造メーカー６社と共同研究を開始した。

［野島清子、岡田義昭、山口一成］

4. インフルエンザワクチンの新しい性状解析法

エーテル処理、ホルムアルデヒドによる不活化等のワクチン製造工程での性状の変化と、その免疫原性について、実験室レベルで解析するとともに、市販品についても検討した。不活化後も、ウイルス核酸の PCR による増幅は可能であったが、効率は不活化期間が長いほど低下した。NF-kB の活性化の程度も同様に低下した。HA ワクチン製剤では、たんぱく量当り、精製ウイルス液と同程度の核酸の増幅が可能な製品がある一方、ほとんど増幅が観察できない製品もあり、製造所間での差が大きかった。増幅効率と光散乱装置による粒子径の分布には関連があり、ウイルス成分の性状の差が示唆された。

［田中明子、笠井道之、矢野茂生］

5. 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

粘膜投与等の新投与経路ワクチンは不活化全粒子型ウイルスまたはウイルスコンポーネントに TLR リガンドをアジュバントとして加え、免疫原性を高めた製剤である。転写因子(NF-kB)の下流にレポーター遺伝子を組み込んだ人由来モノサイト細胞株(THP 細胞)を用いて不活化型全粒子と TLR リガンドの自然免疫誘導能力の評価をおこなった。THP 細胞をマクロファージ細胞に分化させることにより、不活化型全粒子や TLR リガンドで細胞に誘導される自然免疫誘導能力を NF-kB 活性発現を指標にして測定する系を構築した。

［笠井道之］

6. 新規ワクチン承認前試験における物理化学試験

（1）沈降 7 価肺炎球菌結合型ワクチン（PREVNAR：ワイス社）

NMR(ポリサッカライド定量)、サッカライド含量試験、たんぱく質含量試験、遊離たんぱく質定量、遊離サッカライド定量、残留シアン定量、アルミニウム含量試験(ICP:誘導結合プラズマ原子発光法)の計 7 試験を行った。遊離たんぱく質定量試験において、試験が成立しない血清型(19F)があり、また、同血清型は、遊離サッカライド試験においては、結果が一定しなかった。残留シアン定量においては、血清型 4 と 9V は試験値の、自家試験値との乖離が大きかった。

［矢野茂生、田中明子、笠井道之］

（2）ヒトパピローマウイルス(HPV)ワクチン(CERVARIX：グラクソ・スミスクライン社)

たんぱく窒素含量試験、アルミニウム含量試験(ICP)、新規アジュバントである MPL のガスクロマトグラフィーによる定量の計 3 試験を行った。申請書に記載された機器とは異なる機器を用いて行った試験もあったが、結果は基準値を満たし、自家試験値との乖離も小さかった。

［矢野茂生、田中明子、笠井道之］

7. 平成２０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

KBr ディスク法を実施し、標準品と検体のスペクトルの比較から同定確認を試みた。

(1) 日本薬局法注射用セフピロム硫酸塩(静注用、８社、８ロット)の結果

検体は 1400-1500 cm^{-1} および 880 cm^{-1} の領域(炭酸ナトリウムに由来する)を除いていずれも標準品と同じ波数に吸収を認めた。これらの検体はいずれも標準品と同等の成分を含有すると推定された。

［笠井道之］

(2) 日本薬局法セフテラムピボキシル錠(錠剤：２社、２ロット、細粒：６社、６ロット)の結果

いずれの検体も一部の領域で標準品と同じ波数に吸収を認めた。しかし、その他の領域では異なる波数に吸収を認めた。本試験法では標準品と同一製剤であるかを判定できなかった。

［笠井道之］

8. 平成 20 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

(1) セフピロム硫酸塩［注射用、４社、８ロット］の結果

標準品、検体ともに ^{1}H スペクトルはシグナルがほぼ分離され、一次解析ができた。検体は純度が高く、表示成分のみと考えられた。検体スペクトルはメーカー、ロットに関わらず、いずれも類似した結果を与えた。^{1}H と ^{13}C スペクトルの標準スペクトルと検体スペクトルはパターンは類似していたが、大きなシフトの相違があり同定には不適であった。等量混合スペクトルは全てのシグナルが一致し、検体の同定確認が完了した。

［矢野茂生］

(2) セフテラムピボキシル(錠：２社、２ロット、細粒：６社、６ロット)の結果

標準品を弱アルカリ重水/重クロロホルムで抽出し、標準スペクトルを得た。検体(特に細粒)は添加物を含むため重水/重クロロホルムで抽出し、検体スペクトルを得た。検体の ^{1}H スペクトルはメーカーや形状に関わらず、添加物由来のシグナルを除けば、標準スペクトルと類似のスペクトルを与え、等量混合スペクトルは全てのシグナルが標準品と一致した。錠剤は細粒よりも添加物由来のシグナル（特に 1.2 ppm 付近）が少なかった。検体の ^{13}C スペクトルは標準スペクトルと類似の 19 本の分離ピーク(重複を含む)を観測し、等量混合スペクトルは全てのピークが標準品と一致した。

［矢野茂生］

Ⅲ. ワクチン開発および接種に関する研究

1. 抗原ペプチドとリポソームとの最適結合方法の検討

ペプチド結合リポソームによる CTL の誘導・維持に関して、抗原として卵白アルブミン（OVA）を用いた基礎検討を行った。本年度はワクチンの持続効果を考える上で重要な CTL の維持についての検討を行った。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誘導される CTL は免疫後 20 週でも確認でき、通常では CTL 反応を誘導しない濃度の抗原単独溶液の投与により速やかに CTL 反応の増強が認められた。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。以上の結果からペプチド結合リポソームによる免疫においては、CTL が長期にわたって維持され 2 次刺激によって速やかに CTL 反応が増強されること、またその維持は CD4 陽性 T 細胞によるヘルプを必要としないことが示唆された。

［内田哲也、種市麻衣子］

2. リポソームワクチンの投与経路と CTL 誘導との関係の検討

リポソーム結合抗原が外来性抗原であるにもかかわらず抗原提供細胞において MHC クラス-I を介して CD8 陽性 T 細胞に呈示され、その結果、細胞性免疫が誘導される機序の詳細を明らかにすることを目的として、マクロファージ細胞株の培養中に蛍光標識したリポソーム結合抗原を添加し、抗原の細胞内動態を検討した。マクロファージの抗原貪食に対する阻害剤はリポソーム結合抗原の取り込みに影響を与えなかったが、リポソーム結合抗原の取り込みはピノサイトーシス阻害剤によって顕著に抑制された。このことから、リポソーム結合抗原が細胞性免

疫の誘導を可能にする原因として、抗原提供細胞による抗原認識・取り込みの段階で、リポソーム結合抗原の挙動が一般の外来性抗原とは異なることが示唆された。

［内田哲也、種市麻衣子］

3. 獲得性免疫賦活化方法の開発とその効果の検証法および副作用評価法の確立

培養胸腺上皮細胞内のMHCクラスII拘束性細胞質抗原提示の分子機構について調べ、細胞質抗原提示にmacroautophagyが関与することを明らかにした。さらに、新生児胸腺凍結切片を用いて、胸腺内においても細胞質抗原提示にmacroautophagyの関与があることを示した。

［笠井道之］

4. 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ており、今回は、特に粘膜局所について検討したが、鼻・肺洗液、唾液、糞便中の粘膜IgA抗体価を測定したところ、抗DT血清IgG、IgA、及び抗毒素価と同様に、DTとCpG-DNAを同時経鼻投与したときに、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。

［前山順一、伊保澄子（福井大・医）、井坂雅徳(名古屋市大・医）、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所）］

(2) 急性リンパ性白血病(ALL)細胞のDEX感受性に対するG9.1の影響

新規DNAアジュバントG91の適応症の設定のため、TLR9を発現するALL細胞に及ぼすG91の影響を検討した。G9.1にはALL細胞のデキサメサゾン感受性をp38MAPKリン酸化を介して増強する可能性がある一方、Bcl-3発現を介して抑制する可能性もあった。これには実験的にはNF-κB抑制剤の併用で回避し得ると思われるが、ALL患者に対するG91投与の可否には詳細な検討が必要と思われる。

［前山順一、伊保澄子（福井大学・医）、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所）］

5. 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は、菌体が観察されるが、白血球浸潤が観察できない。その原因および発症機序を明らかにするため、マウスの血中または腹腔好中球に対する浸潤抑制作用を調べ、抵抗性を示す原因因子を検討した。　Nga等の劇症型Ａ群連鎖球菌由来の毒素が、好中球の浸潤を阻害し、免疫細胞の誘導を抑制していると考えられた。またNga以外の新たな毒性因子も存在し、糖成分の関与も示された。

［前山順一、井坂雅徳(名古屋市大・医)］

6. BCGベクターの開発と応用

(1) エイズワクチン

組換えBCGベクター系を用いたエイズワクチンについては、blaFシグナルに改変型Env（gp140）遺伝子を繋ぐことにより、BCGでEnv高発現株を取得できたが、菌体外への分泌は確認できなかった。従来用いているpSO246の約４－５倍程度コピー数が増加したpSO246Rを構築することができた。さらに、rBCG-SIVGagとrDIs-SIVGagによる細胞性免疫誘導を目的としたプライム-ブースト型HIVワクチンについて検討したところ、SIVmac239による攻撃試験で対照群に比べて血漿中のウイルス量を有意に低減させ、かつ長期間に渡りその免疫を持続させることが可能であった。

［前山順一、松尾和浩(エイズ研究センター)、網康至（動物管理室)、矢野郁也(日本ＢＣＧ研究所)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)］

(2) 結核ワクチン

組換えワクチンBCG Tokyo[Ag85A]は、アカゲサル結核に対して、強い防御効果を示した。さらにｒBCGの安定性を検討したところ、凍結乾燥したrBCGは、*in vivo*ではプラスミドが脱落しやすく、導入遺伝子に特異的な細胞性免疫の誘導も弱いことがわかった。

［前山順一、菅原 勇（(財)結核予防会結核研究所)、大原直也(免疫部)、矢野郁也(日本ＢＣＧ研究所)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)］

7. BCGの多様性に関する研究

(1) BCG亜株の比較

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。BCG亜株においては、cord factor （trehalose 6,6’-dimycolate） に着目し、亜株間におけるミコール酸の偏在性が宿主免疫応答に与える影響を比較検討した。更に培養細胞に対する炎症性メデイエーター誘導能等の解析を行った。cord factorはマウスモデルにおいて結核類似の肺肉芽腫炎症病変を誘導し、その程度は菌種特異的

なミコール酸組成を反映していた。代表的なミコール酸サブクラスを持つ BCG 亜株 Russia, Japan, Connaught を比較すると、methoxy-ミコール酸が欠損した Connaught 株が最も顕著な肉芽腫誘導能を示した。また、宿主細胞からの NO の産生と炎症性サイトカインの産生は初期分与株の方が後期分与株と比べて高い傾向が見られた。

[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(日本ＢＣＧ研究所)]

(2) BCG-I と BCG-II の遺伝子発現および脂質の比較

日本(Japan)株 BCG である BCG Tokyo172 の遺伝子領域 RD16 が異なっているサブポピュレーション Ⅰ型 (BCG-I) と II 型 (BCG-II)について脂質生化学的、分子生物学的検討を加え、構成脂質や遺伝子発現の差異を明らかにした。遺伝子発現パターンを検討し、BCG-I で発現の高い遺伝子 24 遺伝子を、BCG-II では 21 遺伝子を抽出した。BCG-I で発現量が最も高くなっている遺伝子領域は、BCG 3475c – BCG 3478、細胞壁糖脂質 PDIM の合成に関与する遺伝子群 *ppsA-E* (BCG 2953 – BCG 2957) と *drrA-C* (BCG 2958 – BCG 2960)であった。BCG-II で発現の高い遺伝子には *ahpCD* とともに DevRS に支配される遺伝子群が多く存在した。また、脂質については BCG-I には BCG-II に無い PDIM が存在することを明らかにした。

[前山順一、大原直也(免疫部)、藤原永年（大阪大・医)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)]

(3) BCG-I と BCG-II の宿主の反応での比較

遅延型過敏反応(DTH)を比較すると、モルモットおよびマウスにおいて BCG-II に比べ BCG-I が強い DTH を示し、PPD 刺激による細胞増殖や IFNγ・TNF-αなどのサイトカイン産生などの脾臓細胞反応も同様であった。

[前山順一、網康至(動物管理室)、須崎百合子(動物管理室)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)]

8. 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

これまでは主として母子感染防御の目的で、およびハイリスクグループを対象に行われてきたHBワクチン接種であるが、本研究では今後増大が懸念される性感染を中心とした水平感染防御を視野に入れての新たな施策、つまり HBV キャリアの新生児や医療従事者のみならず、広く若年層への HB ワクチン投与(universal vaccination)の必要性についての科学的考察を目的に、現時点における母子感染の実態調査、HB ワクチン接種後の免疫獲得能についての検討、保育施設の実態と、保育担当者におけるＢ型肝炎に対する意識および水平感染のリスクについての調査、動物実験モデルによる HBV 感染防御に必要な抗体価の検証、国内の急性 B 型肝炎患者での HBV mutant 発生頻度の検討等を行った。

[水落利明、田中憲一（新潟大学)、小方則夫（燕労災病院)、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)、菅内文中（名古屋市大）]

Ⅳ. 血液学,細胞治療に関する研究

1. 造血幹細胞特異的チロシンキナーゼ 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とリガンドAng1 との相互作用が重要であることが示唆されているが、その細胞生物学的機構は未解明な点が多い。これまでに血液細胞株を用い、Tie2シグナルの活性化によって発現亢進したAng1がTie2 の活性を増強させることを見出した。さらに、造血幹細胞におけるAng1のノックダウンによって、フィーダー依存性の増殖が抑制されることを明らかにしている。現在、Tie2/Ang1シグナルを介した造血幹細胞の自己制御機構について、さらに詳細な検討を進めている。

［百瀬暖佳、滝澤和也、浜口 功］

2. 造血幹細胞における IRF-2 の機能に関する研究

これまでインターフェロン制御転写因子 IRF-2 がマウス骨髄細胞の Stem cell 分画に高発現していることをリアルタイム PCR および in situ hybridization により明らかにした。そこで今回は IRF-2 欠損マウスを用いて骨髄由来の造血幹細胞について解析した。マウスの骨髄細胞からセルソーターを用いて KSL（c-kit+, Sca-1+、Lin-）を分画した。IRF-2 欠損マウスの KSL 分画が野生型のそれと比較して 3 倍程度細胞の割合が増加していることが見いだされた。この KSL の HSC 活性を調べるため、別のマウスに移植して骨髄への生着率を見たところ、移植後 3 ヶ月たってもほとんど生着していなかった。IRF-2 欠損マウスにおいて増加が認められる KSL 細胞は造血幹細胞としての正常な機能を担っていないと考えられた。そこで野生型と IRF-2 欠損マウスにおける KSL 細胞の遺伝子等の違いについて検討している。

［益見厚子］

3. Mycobacterium Avium 感染における造血幹細胞に及ぼす影響について

エイズの日和見感染等で問題となっている抗酸菌の一種 Mycobacterium Avium 感染の造血幹細胞に及ぼす影響についてはほとんど知られていない。マウスに Mycobacterium Avium を感染させると IFN-γの産生が顕著にみられ、一ヶ月めにピークに達した。同時期に骨髄と脾臓において KSL 分画の著名な増加が認められた。感染後 3 ヶ月めにはこの減少は治まる傾向にあった。一方、菌の増殖に関しては肺、脾臓、骨髄において 1 ヶ月から３ヶ月と上昇していった。以上より造血幹細胞の細菌感染に対する生体防御的な役割について解析をすすめている。

［益見厚子、浜口 功、持田恵子（細菌第二部)、柴山恵吾（細菌第二部)、森茂太郎（細菌第二部）］

4. 先天性赤芽球癆の原因遺伝子の機能解析

先天性赤芽球癆(DBA)は、造血幹細胞からの赤芽球分化・増殖異常により重症の貧血をおこす。近年、RPS19、RPS17、RPS24、RPL5、RPL11、RPL35A が原因遺伝子として同定され、これらの遺伝子の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 と始め原因遺伝子を shRNA で発現抑制することにより、細胞増殖異常が観られること、このとき細胞周期抑制タンパク質の p21 の発現が上昇することを見出した。

今後、細胞増殖停止が誘導されるメカニズムについて解析を進め新しい治療法開発を目指す。

［倉光　球、浜口　功］

5. 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（HTLV-1 Tax トランスジェニックマウス）の腫瘍細胞中には高い腫瘍再構築能を持った腫瘍幹細胞（CSC）が存在していることを、SP（Side population）解析と発現マーカー解析により明らかにした。更に、追加の移植実験の結果から CSCs が腫瘍化した脾臓だけでなく、骨髄においても存在していることが示唆された。そこで現在､骨髄における CSCs の存在を検証するため、１００個の細胞による再構築能力を検証している。また同時に、マイクロアレイ解析を用いて脾臓及び骨髄の CSCs における発現遺伝子を解析し、CSCs の維持機構、腫瘍細胞が増殖していくメカニズムについて解明を試みている。

［滝澤和也、山崎淳平、水上拓郎、長谷川秀樹、浜口 功、山口一成］

6. 胸腺における間葉系細胞の局在に関する研究

胸腺は、分化途上の T 系列細胞である胸腺細胞と、それを取り巻く上皮細胞、間葉系細胞などで構成されている。間葉系細胞は胎生期の上皮細胞の形成に関与していることが明らかになっているが、間葉系細胞について不明な点が多い。本研究で 6-7 週齢の正常マウス胸腺を免疫組織学的解析し、間葉系細胞マーカーの発現と局在を明らかにした。さらに、自己免疫症状を呈し上皮細胞の異常を認めるリンフォトキシンレセプター欠損マウスやケモカイン欠損マウス plt/plt では、異常な間葉系細胞の髄質部での存在が認められた。以上の結果から、胸腺の上皮細胞と間葉系細胞の細胞間で何らかの相互作用が働いていることが示唆された。

［小高千加子］

Ⅴ．国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼試験、承認前試験等の実績

1. 国家検定

血液製剤力価試験：92 ロット
免疫グロブリン G 重合物否定試験：88 ロット
抗補体性否定試験：67 ロット
含湿度試験：153 ロット
ホルムアルデヒド定量試験：132 ロット
たん白質定量試験：98 ロット
たん白窒素定量試験：110 ロット
凝固性たん白窒素定量試験：53 ロット
アルミニウム定量試験：3 ロット
フェノール定量試験：8 ロット
ヘモグロビン定量試験：6 ロット
クエン酸ナトリウム定量試験：4 ロット
ヒスタミン定量試験：2 ロット
水素イオン濃度試験：2 ロット
特殊免疫グロブリン力価試験：10 ロット
異常毒性否定試験：168 ロット
発熱試験：279 ロット

2. 収去検査

赤外線吸収：16 ロット
NMR：16 ロット
血液型判定用抗体特異性試験：22 ロット

3. 抜き取り検査

力価試験：6 ロット
活性化凝固因子否定試験：6 ロット
免疫グロブリン G 含量試験：2 ロット
同定試験：2 ロット
異種たん白質否定試験：2 ロット
異常毒性否定試験：8 ロット
発熱試験：8 ロット

4. 依頼検査

含湿度試験（水分定量法）：13 ロット
含湿度試験（乾燥重量法）：4 ロット
ホルムアルデヒド定量試験：2 ロット
たん白質定量試験：16 ロット
チメロサール定量試験：2 ロット

5. 承認前試験

ポリサッカライド確認、定量（NMR）：14 サンプル
たん白質定量試験：21 サンプル
たん白窒素定量試験：1 サンプル
サッカライド定量試験：7 サンプル
遊離サッカライド定量試験：12 サンプル
残留シアン定量試験：7 サンプル
遊離たん白質定量試験：14 サンプル
アルミニウム定量試験(プラズマ発光)：14 サンプル
異常毒性否定試験：1 サンプル
発熱試験：5 サンプル

VI. 国際協力関係業務

1. ACIH ワクチン予防可能疾患の疫学及び対策セミナー、平成 20 年 7 月 4 日、財団法人国際保健医療交流センター（熊本市）において、浜口が「新しいワクチン開発」の講義を行った。

［浜口 功］

2. JICA 集団研修コース、平成 20 年度第 3 回「血液スクリーニング検査向上（中米地域)」研修を行った。（山口一成：コースリーダー）
平成 21 年 1 月 28 日ー2 月 3 日まで戸山庁舎と村山庁舎において、山口、小高、浜口、水落、岡田の 5 名が講義を行なった。講義内容は「B 型と C 型肝炎ウイルス検査」（水落）、「ヘモビジランス」（小高）、「ウイルスの不活化、除去」（岡田）、「輸血と細菌感染症」（浜口）、「HTLV」（山口）。

［水落利明、小高千加子、岡田義昭、浜口 功、山口一成］

3. JICA 集団研修コース、平成２０年度第２回「AIDS の予防及び対策」の中で、 平成 21 年 3 月 3 日~4 日まで戸山庁舎及び村山庁舎において大隈、益見、水落、水澤の４名が講義を行った。講義内容は「HIV の感染機構 Mechanism of HIV infection」（大隈）、「The role for interferon regulatory factor on mouse hematopoietic differentiation」（益見）「B 型と C 型肝炎ウイルス検査」（水落）、「血液製剤の安全性確保のために実施している HCV,HBV,HIV 核酸増幅試験の標準化」（水澤）。

［大隈 和、益見厚子、水落利明、水澤左衛子］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

1. 欧文発表

1) Uchimaru K, Nakamura Y, Tojo A, Watanabe T, Yamaguchi K: Factors predisposing to HTLV-1 infection in residents of the greater Tokyo area.
Int J Hematol. 88:565-570,2008

2) Otsubo H Yamaguchi K: Current risks in blood transfusion in Japan.
Jpn J Infect Dis. 61:427-433,2008

3) 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: 134-141, 2008

4) Zhang LF, Okuma K, Tanaka R, Kodama A, Kondo K, Ansari AA, Tanaka Y: Generation of mature dendritic cells with unique phenotype and function by in vitro short-term culture of human monocytes in the presence of interleckin-4 and interferon-beta.
Exp. Biol. Med. (Maywood), 233: 721-731, 2008

5) Kondo K, Okuma K, Tanaka R, Matsuzaki G, Ansari AA, Tanaka Y: Rapid induction of OX40 ligand on primary T cells activated under DNA-damaging conditions.
Human Immunol. 69: 533-542, 2008

6) Ohmura M, Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Shugo H, Tamase A, Uema N, Ooshio T, Arai F, Takubo K, Nagamatsu G, Hamaguchi I, Takagi M, Ishihara M, Sakurada K, Miyaji H, Suda T, Hirao A, Identification of stem cells during

prepubertal spermatogenesis via monitoring of nucleostemin promoter activity

Stem Cells. 12: 3237-3246, 2008

7) Hamaguchi I, Imai J, Momose H, 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 for pertussis vaccine safety control.

Vaccine. 26: 4686-4696, 2008.

8) 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 /Vietnam/1194/2004 (H5N1) vaccine safety evaluation.

Vaccine. 26(18):2270-2283, 2008

9) Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, 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.

Stem Cell & Dev. 17: 67-80, 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) Tsukasaki K, Hermine O, Bazarbachi A, Ratner L, Ramos J, Harrington W, O'Mahony D, Janik J, Bittencourt A, Taylor G, Yamaguchi K, Utsunomiya A, Tobinai K, Watanabe T: Definition, prognostic factors, treatment and response criteria of adult T-cell leukemia-lymphoma: A proposal from an international consensus meeting.

J Clin Oncol. 27:453-459,2009

12) Shimazaki N, Kiyohara T, Totsuka A, Nozima K, Okada Y et.al,: Inactivation of hepatitis A virus by heat and high hydrostatic pressure:variation among laboratory strains.

Vox Sanguinis. 96.14-19, 2009

13) Uchida T, Taneichi M: Clinical application of surface-linked liposomal antigens.

Mini-Reviews in Medical Chemistry. 8:184-192, 2008

14) Ohno S, Kohyama S, Taneichi M, Moriya O, Hayashi H, Oda H, Mori M, Kobayashi A, Akatsuka T, Uchida T, Matsui M: Synthetic peptides coupled to the surface of liposomes effectively induces SARS coronavirus-specific cytotoxic T lymphocytes and viral clearance in HLA-A*0201 transgenic mice.

Vaccine. 27:3912-3920, 2009

15) Odaka C: Localization of mesenchymal cells in adult mouse thymus: their abnormal distribution in micewith disorganization of thymic medullary epithelium.

J.Histochem. Cytochem. 57:373-82, 2009

16) Tanemura S, Momose H, Shimizu N, Kitagawa D, Seo J, Yamasaki T, Nakagawa K, Kajiho H, Penninger JM, Katada T, Nishina H: Blockage by SP600125 of Fcε Receptor-induced degranulation and cytokine gene expression in mast cells is mediated through inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway.

J Biochem. 145:345-354, 2009

17) Mizukami T, Masumi A, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Naito S, Maeyama JI, Furuhata K, Tsuruhara M, Hamaguchi I, Yamaguchi K: An improved abnormal toxicity test by using reference vaccine-specific body weight curves and histopathological data for monitoring vaccine quality and safety in Japan.

Biologicals. 37:8-17, 2009

18) Maeyama, J., Komiya, T., Takahashi, M., Isaka, M., Goto, M., Yamamoto, S.: The mucosal adjuvanticity of the oligodeoxynucleotides containing a non-methylated CpG motif on BCG and diphtheria toxoid.

Vaccine. 27: 1166-1173, 2009

19) Mizuochi T, Ito M, Saito K, Kasai M, Kunimura T, Morohoshi T, Momose H, Hamaguchi I, Takai K, Iino S, Suzuki M, Mochida S, Ikebuchi K, Yamaguchi K: Possible recruitment of peripheral blood $CXCR3^+$ $CD27^+$ $CD19^+$ B cells to the liver of chronic hepatitis C patients.

J. Interferon & Cytokine Res. in press

20) Yamazaki J, Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Momose H, Masumi A, Ami Y, Hasegawa H, Hall WW, Tsujimoto H, Hamaguchi I, Yamaguchi K Identification of cancer stem cells in a Tax-transgenic (Tax-Tg) mouse model of adult T- cell leukemia / lymphoma (ATL)

Blood, in press.

2. 欧文著書

Atsuko Masumi, Nucleolin, Encyclopedia of Cancer, 2nd Edition Springer, 2008

3. 和文発表

1)種市麻衣子、岡田　義昭、上村晃一朗、福永　信人、高橋政純、勝林祥郎、猿渡千尋、滝本正敏、佐々木祐子、堀内善信、山口一成：血液凝固第Ⅷ因子国内標準品の力価制定．日本血栓止血学会誌、19(6)：822-825、2008

2)内田哲也、種市麻衣子：リポソーム表面結合抗原を用いたワクチン創製.日本臨床、第 66 巻 10 号、1894-1902、2008

3)内田哲也、種市麻衣子:万能インフルエンザワクチン．化学と生物、第 46 巻 12 号、812-814、2008

4)内田哲也、種市麻衣子：万能インフルエンザワクチン実現へ繋がる CTL 誘導型リポソームワクチンの開発．BIO INDUSTRY、第 25 巻 11 号、95-103、2008

5)水落利明:「免疫機能の測定」イラストレイテッド免疫学．丸善書店、pp.319-335、2009

6)大隈　和、HIV-1 感染に対する新規治療法及び感染実験小動物モデルの開発．琉球医学会誌、27(1, 2): 1-9, 2008

7)浜口功、山口一成：血液製剤の安全性と新規病原体不活化法の開発．バイオインダストリー,26：23-28，2009

8)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，52：157-161，2008

9)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，52：215-219，2008

10)浜口功、山口一成：新しいワクチン安全性評価法．日本臨床，66：1922-1931，2008

11)百瀬暖佳、山口一成：HIV，HTLV
バイオセーフティの事典－病原微生物とハザード対策の実際－．バイオメディカルサイエンス研究会編集、みみずく舎／医学評論社、269-271、2008

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Okuma K., Tanaka R., Buonocore L., Rose J., Tanaka Y.: A novel potential anti-HIV-1 therapeutic based on a vesicular stomatitis virus expressing HIV-1 receptors and OX40 ligand. XVII International AIDS Conference, Mexico City, Mexico, Aug 2008

2) Masumi, A,, Hamaguchi, I,, Kuramitsu, T., Mizukami T., Momose, H., Takizawa, K., Yamaguchi, Y.: The role for Interferon regulatory factor-2 on hematopoiesis mediated by IFN-γ. 国際インターフェロン、サイトカイン学会、Canada, Oct 2008

3) Mizukami T., Hamaguchi I., Takizawa K., Kuramitsu M., Momose H., Naito S., Masumi A., Okada S., Yamaguchi K.: Identification and Characterization of a Hematopoietic Stem Cell Niche in Spleen, 50th American Society of Hematology Annual Meeting, San Fransisco, USA, Dec 2008

4) Maeyama J., Isaka M., Yamamoto S.: Mucosal immune adjuvants for intranasal administration of BCG. the Keystone Symposia.Tuberculosis: Biology, Pathology and Therapy Part of the Keystone Symposia Global Health Series, Keystone, Colorado, Jan 2009

２．国内学会

1) 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 回日本獣医学会総会．相模原、2008 年 3 月

2) 米村雄士、藤井康彦、下平滋隆、大坪寛子、山口一成、高松純樹、大戸　斉、高橋孝喜：輸血副作用に関する調査．第56回日本輸血・細胞治療学会総会．福岡、2008年4月

3) 笠井道之、池田　通、関　幸子：胸腺上皮細胞における autophagy を介したによる細胞内抗原の提示．
第 18 回 Kyoto T Cell Conference．京都、2008 年 6 月

4) 吉松昌子、柴田恭明、笠井道之、関　幸子、池田　通：胸腺上皮細胞株及び胎仔胸腺期間培養を用いた AIRE 発現制御機構の検討．第 18 回 Kyoto T Cell Conference．京都、2008 年 6 月

5)岩永正子、渡邊俊樹、宇都宮與、上平　憲、岡山昭彦、山口一成、JSPFADグループ：ハイリスクキャリアの早期同定をめざしたHTLV-1キャリアの前向き研究（JSPFAD）―ベースラインデータの特性と追跡状況．第48回日本リンパ網内系学会総会．札幌、2008年6月

6)加賀美弥生、松原亜以子、正田桃子、渡辺慎哉、宇都宮與、山口一成、渡邊俊樹：発現アレイ解析に基づくRT-PCR-Arrayを用いたATL診断系の確立とHTLV-1キャリアのATL発症予測法の検討．第48回日本リンパ網内系学会総会．札幌、2008年6月

7)中野和民、武藤早紀、松原亜以子、加藤元博、山本豪、宇都宮與、山口一成、山田恭暉、大島孝一、小川誠司、渡邊俊樹：SNPアレイによるゲノムワイドなコピー数異常の解析とこれに基づくATLの新たなゲノム分類の検討．第48回日本リンパ網内系学会総会．札幌、2008年6月

8) 岡田義昭、水沢左衞子：BSE 由来プリオンの *in vitro* 感染系の確立とその応用（第 2 報）．プリオンシンポジューム．新得（北海道）、2008 年 8 月

9)加賀美弥生、松原亜以子、正田桃子、中野和民、岩永

正子、渡辺慎哉、宇都宮與、東條有伸、山口一成、渡邉俊樹：ATL型発現スコアによるATL発症ハイリスクHTLV-1キャリアの同定．第１回HTLV-1研究会．東京、2008年8月

10)山口一成、上平 憲、岡山昭彦、渡邉俊樹、岩永正子、高 起良、内丸 薫、魚住公治、緒方正男：ATL発症高危険群の長期追跡と発病予防の検討Joint Study on Predisposing Factors of ATL Development (JSPFAD)．第１回HTLV-1研究会．東京、2008年8月

11)山口一成、山田恭暉、岡山昭彦、佐竹正博、出雲周二、望月 學、渡邉俊樹、徳留信寛、大坪寛子：本邦におけるHTLV-1感染及び関連疾患の実態調査と総合対策．第１回HTLV-1研究会．東京、2008年8月

12)岩永正子、渡邉俊樹、宇都宮 與、上平 憲、岡山昭彦、山口一成、JSPFADグループ：ハイリスクキャリアの早期同定をめざしたHTLV-1キャリアの前向き研究（JSPFAD）：登録時の特性と追跡状況．第１回HTLV-1研究会．東京、2008年8月

13)内丸 薫、中村ゆかり、三宅在子、東條有伸、渡邊俊樹、山口一成：HTLV-1ウイルス夫婦間感染と母子感染における末梢血中プロウイルス量の比較．第１回HTLV-1研究会．東京、2008年8月

14)水上拓郎、山崎淳平、滝澤和也、倉光 球、百瀬暖佳、益見厚子、長谷川秀樹、浜口 功、山口一成：HTLV-1 Taxトランスジェニックマウスを用いた腫瘍幹細胞の同定．第１回HTLV-1研究会．東京、2008年8月

15)小川誠司、武藤早紀、松原亜以子、真田 昌、加藤元博、田村 梓、宇都宮與、山口一成、山田泰暉、大島孝一、上平憲、渡邊俊樹:ATLの網羅的ゲノム解析．第１回HTLV-1研究会．東京、2008年8月

16)塚崎邦弘、Hermine Olivier、Bazarbachi Ali、Ratner Lee、Ramos Juan Carlos、Harrington Jr William、O Deirdre、Janik John、L.Bittencourt、L. Achilea、Taylor Graham P、山口一成、宇都宮與、飛内賢正、渡邉俊樹：ATL診療の国際的コンセンサス形成の試み．第１回HTLV-1研究会．東京、2008年8月

17)大坪寛子、山口一成：日本における輸血副作用収集システムの確立．第32回日本血液事業学会総会．大阪、2008年10月

18)中野顕彦、佐藤　研、小松博久、中島一格、清水　勝、山口一成、高橋孝喜、田山達也、佐竹正博、平山文也：献血者へのHIV検査結果要請通知に関するアンケート調査の報告．第32回日本血液事業学会総会．大阪、2008年10月

19) 岡田義昭：血小板製剤の病原体不活化．第 15 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム．大阪、2008 年 10 月

20) 水上拓郎、浜口功、山口一成：新型インフルエンザ、ウエストナイルウイルス等に対する対策の現状．第15回日本輸血･細胞治療学会秋期シンポジウム．大阪、2008 年 10 月

21) 岡田義昭，水沢左衛子，野島清子，山口一成：BSE 由来プリオンの *in vitro* 感染系の確立と培養上清中における存在様式の解析．第 56 回日本ウイルス学会学術集会．　岡山、2008 年 10 月

22) 野島清子、岡田義昭、水沢左衛子、嶋崎典子、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56回日本ウイルス学会学術集会．岡山、2008 年 10 月

23)加賀美弥生、松原亜以子、正田桃子、渡辺慎哉、宇都宮與、東條有伸、山口一成、渡邉俊樹：遺伝子発現アレイ解析に基づくRT-PCR-ArrayによるATL診断系の確立と発症予測法への応用．第70回血液学会総会．京都、2008年10月

24)武藤早紀、松原亜以子、中野和民、真田 昌、加藤元博、田村 梓、宇都宮與、山口一成、山田泰暉、大島孝一、小川誠司、渡邊俊樹：成人Ｔ細胞白血病（ATL）における網羅的ゲノム解析．第70回血液学会総会．京都、2008年10月

25)内丸 薫、中村ゆかり、三宅在子、東條有伸、渡邊俊樹、山口一成：HTLV-1ウイルス夫婦間感染と母子感染における末梢血中プロウイルス量の比較．第70回血液学会総会．京都、2008年10月

26)加賀美弥生、松原亜以子、正田桃子、渡辺慎哉、宇都宮與、東條有伸、山口一成、渡邉俊樹：″ATL-type expressionscore″ based on RT-PCR array for diagnosis and evaluation of the risk for ATL development RT-PCR Arrayに基づくATL-type expression scoreを用いた診断とATL発症リスク評価の検討．第67回癌学会学術総会．名古屋、2008年10月

26)松原亜以子、加藤元博、武藤早紀、真田 昌、田村 梓、陳　玉彦、滝田順子、宇都宮與、山口一成、山田泰暉、大島孝一、渡邊俊樹、小川誠司：成人Ｔ細胞白血病における網羅的ゲノム解析．第67回癌学会学術総会．名古屋、2008年10月

27)飯尾 揚、加藤元博、中村文彦、松原亜以子、武藤早紀、真田 昌、陳　玉彦、滝田順子、山口一成、渡邊俊樹、小川誠司：成人Ｔ細胞白血病の網羅的なエピゲノム解析．第67回癌学会学術総会．名古屋、2008年10月

28)水上拓郎、山崎淳平、長谷川秀樹、浜口　功、山口一成：ATLLモデルマウスにおける腫瘍幹細胞の同定．第67回癌学会学術総会．名古屋、2008年10月

29)山口一成：輸血感染症とその対策．第９回多摩臨床血液研究会．立川、2008年11月

30）伊藤昌彦、村上恭子、鈴木哲朗、山口一成、水落利明：HCV慢性感染患者におけるB細胞リンパ腫発症機序の解明：末梢血B細胞でのHCV感染・増殖およびAID(Activation-induced cytidine deaminase）の発現上昇．第56回日本ウイルス学会学術集会．岡山、2008年10月

31）益見厚子、浜口功、倉光球、水上拓郎、百瀬暖佳、滝沢和也、山口一成：インターフェロン制御転写因子IRF-2の造血幹細胞における役割.第70回日本血液学会．京都、2008年10月

32）水上拓郎、浜口功、滝沢和也、倉光球、百瀬暖佳、益見厚子、岡田誠司、山口一成：脾臓における造血幹細胞ニッチ細胞の解析．第70回日本血液学会．京都、2008年10月

33）百瀬暖佳、浜口　功、滝沢和也、倉光　球、水上拓郎、益見厚子、山口一成：造血幹細胞におけるTie2/Angiopoietin-1シグナルの解析．第70回日本血液学会．京都、2008年10月

34）百瀬暖佳、今井順一、浜口功、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、益見厚子、前山順一、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を用いたVero細胞由来日本脳炎ワクチンの評価．第12回日本ワクチン学会学術集会．熊本、2008年11月

35）前山順一、井坂雅徳、山本三郎：新規A型CpG-DNAであるG9.1の粘膜分泌型IgAの産生増強作用．第12回日本ワクチン学会総会．熊本、2008年11月

36）大隈　和、田中礼子、田中勇悦：R5 HIV-1感染細胞を標的とし感染を制御する組換えウイルスVSV．第22回日本エイズ学会学術集会．大阪、2008年11月

37）村上　努、大隈　和、田中礼子、仲宗根正、濱武牧子、駒野　淳、谷中幹郎、田中勇悦、山本直樹：KRH-3955は経口投与可能な高活性抗X4 HIV-1阻害剤である．第22回日本エイズ学会学術集会．大阪、2008年11月

38）岡田義昭：血液製剤の現状と今後の課題．第22回エイズ学会ランチョンセミナー．大阪、2008年11月

39）百瀬暖佳、浜口功、滝澤和也、水上拓郎、倉光球、益見厚子、山口一成：Tie2／Angiopoietin-1シグナルを介した造血幹細胞の増殖制御．第81回日本生化学会大会/第31回日本分子生物学会年会合同大会．神戸、2008年12月

40）水落利明：Peripheral B cells are reservoirs for HCV infection/replication．第38回日本免疫学会学術集会．京都市、2008年12月

41）種市麻衣子、田中ゆり子、垣内史堂、内田哲也：リポソーム結合CTLエピトープペプチドはCD4陽性ヘルパーT細胞に非依存的にCD8陽性メモリーT細胞を誘導する．第38回日本免疫学会学術集会．京都、2008年12月

42）高木明、大野智、守谷治、松井政則、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はCD4ヘルプなしに抗ウイルスCD8+メモリーT細胞を誘導する．第38回日本免疫学会学術集会．京都、2008年12月

43）小高千加子：Macrophages express neovascularizationfactors: their direct or indirect actions on vascular vessels．第38回日本免疫学会学術集会．京都、2008年12月

44）笠井道之:The involvement of macroautophagy in MHC class II-presentation of thymic self-antigens．第38回日本免疫学会学術集会．京都、2008年12月

45）前山順一，井坂雅徳，伊保澄子，山本三郎：Enhancement of DTH by BCG intranasally administered with mucosal adjuvants．第38回日本免疫学会総会．京都、2008年12月

46）前山順一、井坂雅徳、伊保澄子、山本三郎：経鼻投与による新規A型CpG-DNAであるG9.1の粘膜分泌型IgA産生増強作用．第82回日本細菌学会総会．名古屋、2009年3月

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 20 年 4 月から平成 21 年 3 月までに、78 カ国から 470 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 20 年 4 月から平成 21 年 3 月までに、44 カ国 430 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．各国との感染症協力体制

(1)　シンポジウム開催

ア　平成 20 年 9 月 11-13 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（台北において結核と国際協力を題材に)。

イ　平成 20 年 10 月 15 日　日中韓の国立感染症機関（感染研、中国 CDC、韓国 CDC）の第二回共同セミナーの開催（ソウルにおいて気候変動と感染症を題材に)。

(2)　外国研究機関との覚書締結

ア　平成 20 年 12 月 12 日　フランス国パスツール研究所と感染症協力に関する覚書を締結（パリ在仏日本大使館において)。

(3)　個別分野における所内研究部と外国研究機関（部）との覚書等締結

ア　平成20年5月14日　ウイルス第二部が中華人民共和国北京生物製品研究所と共同研究（E型肝炎ワクチンの開発に関する研究)に関する契約を締結（当所戸山庁舎において）。

イ　平成 20 年 10 月 1 日　バイオセーフティ管理室がアメリカ合衆国サンディア国立研究所国際生物学的脅威低減部門との間の研究協力に関する覚書を締結。

ウ　平成 21 年 1 月 23 日　免疫部および細菌第二部がタイ王国コンケーン大学医療学部と研究協力に関する覚書を締結（当所戸山庁舎において)。

エ　平成 21 年 3 月 25 日　獣医科学部がモンゴル国立感染症センター科学部と研究協力に関する覚書を締結（当所戸山庁舎において)。

２．JICA との研修協力

(1)　集団研修

ア　世界ポリオ根絶のための実験室診断技術コース（平成 21 年 1 月 19 日-2 月 6 日・5 名・ウイルス第二部)

イ　診断とモニタリングのための HIV 感染検査のマネジメント（平成 20 年 6 月 16 日-7 月 18

日・10 名・エイズ研究センター）

(2) 地域別研修

ア アジア地域新興感染症バイオハザード対策コース（平成 20 年 12 月 1 日-12 月 19 日・5 名・バイオセーフティ管理室）

イ 血液スクリーニング検査向上（中米地域）コース(平成 21 年 1 月 28 日-2 月 2 日･10 名・血液・安全性研究部）

(3) 国別研修

ア ザンビア「HIV 感染検査のマネジメント」（平成 20 年 6 月 16 日-7 月 18 日・1 名・エイズ研究センター）

イ 中国「ポリオ実験室診断」（平成 21 年 1 月 13 日-4 月 10 日・1 名・ ウイルス第二部）

３．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等)

(1) 派遣

ア 平成 20 年 6 月・7-8 月・9-10 月・10-11 月･2 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。

イ 平成 20 年 6 月・8-9 月・1 月 高病原性病原体に対する実験室診断能力強化支援のためウイルス第三部職員をベトナム NIHE に派遣。

ウ 平成 20 年 11 月 プロジェクト終了時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。

(2) 受入

ア 平成 20 年 9-10 月 バイオセーフティ研修のためベトナム NIHE から研修員をバイオセーフティ管理室に受入（１名）。

イ 平成 20 年 10-11 月 BSL-3 実験室維持管理習得のためベトナム NIHE から研修員をバイオセーフティ管理室に受入（２名）。

ウ 平成 20 年 10-12 月 ウイルス学（鳥インフルエンザ等）研修のためベトナム NIHE から研修員をウイルス第三部・ウイルス第一部・バイオセーフティ管理室へ受入（１名）。

４．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等）

(1) 派遣

ア 平成 20 年 10 月 ポリオ実験室査察のためウイルス第二部職員を中国 CDC へ派遣。

イ 平成 20 年 11 月 麻疹実験室実技トレーニングのためウイルス第三部職員を中国 CDC へ派遣。

ウ 平成 20 年 11 月 ポリオ実験室実技トレーニングのためウイルス第二部職員を中国 CDC へ派遣。

エ 平成 20 年 12 月 日本脳炎実験室実技トレーニングのためウイルス第一部職員を中国 CDC へ派遣。

(2) 受入

ア 平成 20 年 9-10 月 広州市院内感染対策プロジェクトによる感染制御管理習得のため広州 CDC から研修員を感染症情報センターに受入（１名）。

イ 平成 20 年 10-平成 21 年 3 月 「病原体検索」（C 型肝炎ウイルス）研修のため広州 CDC から研修員をウイルス第二部に受入（１名）。

ウ 平成 20 年 10-12 月 「病原体検索」（ウイルス診断）研修のため広州呼吸疾病研究所から研修員をウイルス第三部・感染症情報センターに受入（１名）。

エ 平成 20 年 10-11 月 「麻疹実験室診断」研修のため中国 CDC から研修員をウイルス第三部・感染症情報センターに受入（１名）。

オ 平成 21 年 1 月 「麻疹実験室診断」研修のため中国 CDC から研修員をウイルス第三部・感染症情報センターに受入（１名）。

５．インドネシアにおける JICA 協力（鳥インフルエンザ・サーベイランスシステム強化支援）

(1) 派遣

ア 平成 20 年 7 月 第二次事前評価調査団員としてウイルス第三部職員並びに感染症情報センター職員を保健省等へ派遣。

イ 平成 20 年 11-12 月・平成 21 年 3-4 月 サーベイランスシステム指導のため感染症情報センター職員を保健省等へ派遣。

ウ 平成 21 年 1 月 疫学政策指導・助言のため感染症情報センター職員を保健省等へ派遣。

６．WHO フェロー受入

(1)ラオス「食中毒菌の検査法に関する研究」

平成 20 年 9-10 月 １名（細菌第一部）

平成 20 年 9-11 月 １名（細菌第一部）

７．新興・再興感染症研究プログラムによる外国人研究者招へい

(1)中国

平成 21 年 1-3 月　１名（病原微生物部）

平成 21 年 3 月　１名（ウイルス第二部）

平成 21 年 3 月　１名（ウイルス第一部）

(2)インド

平成 21 年 3 月　１名（寄生動物部）

(3)ミャンマー

平成 21 年 3 月　２名（病原微生物部）

(4)タイ

平成 21 年 3 月　１名（病原微生物部）

平成 21 年 3 月　１名（ウイルス第一部）

平成 21 年 3 月　１名（免疫部）

(5)フランス

平成 21 年 3 月　１名（ウイルス第二部）

(6)モンゴル

平成 21 年 3 月　２名（獣医科学部）

８．海外の感染症に係るセミナー開催

(1)　平成 20 年 6 月　楊栄閣氏（中国科学院武漢ウイルス研究所エイズ研究センター長）による「中国科学院武漢ウイルス研究所の紹介とエイズ研究の現状について」セミナーを開催（エイズ研究センターと共催)。

(2)　平成 20 年 9 月　Arthur Richard Mitchell 氏（英国医療審議会安全性部企業安全部門次長）によるバイオセーフティセミナー「英国におけるバイオセーフティの現状と教育プログラム」を開催（バイオセーフティ管理室と共催)。

(3)　平成 20 年 10 月　Lee, Soh Jin 氏（BioSafety & Environment Coordinator Institut Pasteur Korea）によるバイオセーフティセミナー「韓国パスツール研究所と韓国のバイオセーフティの現状について」を開催（バイオセーフティ管理室と共催)。

(4)　平成 20 年 11 月　モンゴル感染症研究機関との研究協力職員による「モンゴルの感染症機関との交流 －モンゴルの現地事情について－」セミナーを開催。

(5)　平成 20 年 11 月　高島義裕氏（WHO China/EPI 専門家）による「「WHO 西太平洋地域・中国における EPI・麻疹排除事業の現況と日本への期待」セミナーを開催。

(6)　平成 20 年 12 月　佐々木次雄氏（医薬品医療機器総合機構職員)、堀内善信氏（同職員）他所内国家検定関係職員等による「ワクチン等の国家検定に係わる国際動向と我が国の現状と課題」セミナーを開催（細菌第二部・検定検査品質保証室と共催)。

(7)　平成 20 年 12 月　王莉莉氏（中国衛生部疾病預防控制局免疫規劃管理処）他日中麻疹関係者による「日中麻疹セミナー」を開催（国立国際医療センターと共催)。

(8)　平成 20 年 12 月　Dr.Olveda（フィリピン国立熱帯医学研究所長)、Dr. Lupisan（同副所長）による「フィリピン国立熱帯医学研究所とその活動について」セミナーを開催（細菌第一部と共催)。

(9)　平成 20 年 12 月　Dr. Brian Greenwood（ロンドン大学衛生熱帯医学校教授）による「Elimination of malaria is this feasible?」セミナーを開催（寄生動物部と共催)。

(10)　平成 20 年 12 月　垣本和宏氏（JICA インドネシア保健省アドバイザー/国立国際医療センター国際協力局）他インドネシア・スラウェシ島医療協力関係者による「インドネシア・スラウェシ島での感染症協力」セミナーを開催（国立国際医療センターと共催)。

(11)　平成 21 年 1 月　レネ・ゴチヤック博士（ドイツフランクフルト市保健局感染症対策部 部長)、アウラ・ティーメン博士（オランダ 感染症センター感染症対策部副部長）他による「ラッサ熱等の一類感染症の患者発生を経験した国から学ぶ感染症危機管理について」セミナーを開催。（ウイルス第一部と共催)。

(12)　平成 21 年 2 月　Dr.Timothy M Uyeki（米国厚生省防疫疾病対策センター部長）による「高病原性鳥インフルエンザ H5N1 ヒト感染における臨床および疫学の最新の知見」セミナーを開催（感染症情報センターと共催)。

(13)　平成 21 年 2 月　Dr. Fred A. Murphy(Texas Univ. Galveston Medical Branch, Dept. Pathology 教授)、Dr. L. Cassey Chosewood (Health and Safety, Healthiest Nation Coordinating Council Director)、Dr. Julia Hilliard(Georgia State University, Director, Viral Immunology Center・Prof.)他による「サル類をはじめとする実験動物における人獣共通感染症について」セミナーを開催（ウイルス第一部と共催)。

(14)　平成 21 年 2 月　タイ コンケーン大学・マヒドン大学との研究協力者による「タイの感染症研究機関との研究協力にむけて」セミナーを開催（免

疫部と共催)。

(15) 平成21年3月 Dr. David N. MCMURRAY（テキサスA&M大学医学部教授）による「モルモット肺結核モデルにおける結核抵抗性誘導研究の最新事情」セミナーを開催（細菌第二部と共催)。

(16) 平成21年3月 Dr. Otgonbaatar Dashdavaa（モンゴル国立感染症センター所長）並びにDr. Pattarachai Kiratisin（タイ・マヒドン大学医学部細菌部副部長）による「タイ並びにモンゴルの感染症研究機関の活動について」セミナーを開催（獣医科学部・免疫部と共催)。

９．海外の要人来訪

(1) 平成20年5月 沈心亮北京生物製品研究所所長来所。感染症等について意見交換並びにウイルス第二部との共同研究締結。

(2) 平成20年5月 朱威中国上海生物製品研究所長来所。感染症等について意見交換。

(3) 平成20年5月 Dr. Luis Gomes Sambo (WHO Regional Director for Africa)来所。感染症等について意見交換。

(4) 平成20年5月 Dr. Hae Wol Cho（Former Director General, National Institute of Health Korea）来所。感染症等について意見交換。

(5) 平成20年6月 楊栄閣中国科学院武漢ウイルス研究所エイズ研究センター長来所。エイズ対策について意見交換。エイズ研究センターにて研究打合せ。

(6) 平成20年12月 Dr.Keiji Fukuda(WHO本部新型インフルエンザ対策部長)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20年12月 Dr.Olveda(フィリピン国立熱帯医学研究所所長)来所。感染症等について意見交換。

(8) 平成21年2月 陳再晋台湾衛生署副署長来所。ワクチン（新型インフルエンザ等）の研究開発及び製造について意見交換。

(9) 平成21年3月 Dr.Otgonbaatar Dashdavaa モンゴル国立感染症センター所長（Deputy-Director General, National Center of Infectious Diseases with Natural Foci）来所。感染症について意見交換。

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．国際交流事業に係る募集・申請

日本学術振興会等国際交流事業（外国人研究者招へい、国際学会等派遣、二国間共同研究・セミナー等）に係る募集、申請手続、調整等を行っている。

３．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２０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〔７国〕**	
インド	8	オーストラリア	6
インドネシア	11	キリバス	1
韓国	20	サモア	3
カンボジア	7	トンガ	1
シンガポール	3	ニュージーランド	2
スリランカ	5	パプアニューギニア	5
タイ	37	フィジー	5
台湾	9		
中国	103		
ネパール	4	**北米地域〔１国〕**	
パキスタン	4	アメリカ合衆国	20
バングラデシュ	9		
フィリピン	19		
ベトナム	13	**中南米地域〔１４国〕**	
マレーシア	4	ウルグアイ	1
ミャンマー	13	エルサルバドル	6
モンゴル	15	グアテマラ	3
ラオス	15	コスタリカ	3
中東地域〔５国〕		ジャマイカ	1
アフガニスタン	2	スリナム	2
イエメン	1	セントルシア	1
イラク	2	ドミニカ共和国	3
サウジアラビア	1	ニカラグア	5
トルコ	1	ハイチ	3
アフリカ地域〔２４国〕		ペルー	1
アンゴラ	1	ブラジル	1
ウガンダ	1	ボリビア	2
エチオピア	5	ホンジュラス	7
カメルーン	1		
ガーナ	3		
ガンビア	1		
ケニア	5		
コートジボワール	2	**ヨーロッパ地域〔９国〕**	
ザンビア	2	ウズベキスタン	1
ジンバブエ	2	英国	2
スーダン	2	オランダ	1
スワジランド	1	カザフスタン	1
セネガル	3	キルギス	1
タンザニア	9	スイス	2
ナイジェリア	8	ドイツ	1
ニジェール	2	フランス	5
ブルキナファソ	4	モルドバ	1
ベナン	1		
ボツワナ	2		
マダガスカル	4		
マラウイ	3		
マリ	2		
南アフリカ	2	国　数　計	78
モロッコ	1	人　数　計	470

国際協力室

平成20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)
20.4.14	～4.2	韓国	Na-Ri Shin	Korea Center for Disease Control and Prevention	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	ボツリヌス抗毒素の製造と品質管理に関する研修 (韓国CDC)
20.4.17	～7.15	中国	李 津 王 寧	北京生物製品研究所	ウイルス第二部	Ｅ型肝炎ワクチンに関する共同研究 (中国北京生物製品研究所)
20.4.21	～4.24	オーストラリア	Leslee ROBERTS	Office of Health Protection	所長 副所長 ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	WHO[西太平洋及び南東アジア地域ナショナルインフルエンザセンター会議」の戸山庁舎における開催、及び会議参加者の村山庁舎見学 (WPRO)
			Ian BARR	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza		
			Aeron HURT			
			Anne KELSO			
			Patrick Clarke READING	University of Melbourne		
			Anna DEAN	WHO Consultant		
		カンボジア	Sok Touch	Ministrty of Health		
			UNG Sam An	National Institute of Public Health		
			Philippe BUCHY	Institut Pasteur in Cambodia		
		中国	XIAO Donglou	Ministrty of Health		
			YU Hongjie	Center for Disease Contlol and Prevention		
			YUELONG Shu	National Influenza Center		
			CHUANG Shuk Kwan	Center for Health Protection(HONG KONG)		
			LAM Tsz-sum			
			Wilina LIM			
		フィジー	Losevati ALEFAIO	Ministrty of Health		
			Eric RAFAI			
			Mohammed ISHAQUE	Savesave Hospital		
		韓国	Young Sil PARK	Center for Disease Contlol and Prevention		
			Hye Kyung PARK			
		ラオス	Sithat INSISIENGMAY	Ministrty of Health		
			Phengta VONGPHRACHAN			
			Darouny PHONEKEO			
			Juliet	Pasteur Institute		
		マレーシア	Zainudin Bin ABUDUL WAHAB	Ministrty of Health		
			Zzinah BintiSA'AT			
			Mariam Binti MOHAMAD			
		モンゴル	Bujin TSERENSODNOM	Ministrty of Health		
			Darmaa BADARCH	National Center for Communicable Diseases		
			Tunsag MURNEREN			
			LUO Dapeng	WHO/WPRO		
		ﾆｭｰｶﾙﾄﾞﾆｱ(ﾌﾗﾝｽ領)	Jean-Paul GRANGEON	Direction des Affaires Sanitaires et Sociales		
			Martine NOEL			
			Aurelie GUIGON	Pasteur Institut		
		ニュージーランド	Sue HUANG	Kenepare Science Center		
			Lance JENNINGS	Canterbury Health Laboratories		
		パプアニューギニア	Srella JIMMY	Vanimo General Hospital		
			Peter SIBA	PNG Institute of Medical Research		
			Berry ROPA	Department of Health		
		フィリピン	Enrique A TAYAG	National Epidemiology Center		
			Remigio M OLVEDA	National Influenza Center		
			Carmencita A. BANATIN	Department of Health		
			Weiging ZHOU	WHO/WPRO		
			Takeshi KASAI			

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

			Linette TE			
			Ailene C.DELOS Trinos			
			Jasmine B. MENDOZA			
		シンガポール	Sylvia LIM	Ministrty of Health		
			Raymond LIN Tzer Pin	National Public Health Laboratory		
			CHAN Kwai Peng	Singapore General Hospital		
		ベトナム	LE Mai Thi Quynh	National Institute of Hygiene and Epidemiology		
			PHAN Van Tu	Pasteur Institute		
			VIEN QUANG Mai			
			Nicole SMITH	WHO/WPRO		
		バングラディシュ	Mahmudur RAHMAN	Institete of Epidemiology,Disease Contlol and Research		
			Moazzem HOSSAIN	Directorate General of Health Services		
			Anisur RAHMAN	National Institute of Preventive and Social Medicine		
		インド	P RAVINDRAN	Ministrty of Health Famoly Walfare		
			Ramesh AGGARWAL	National Institute of Communicable Diseases		
			Avdhesh KUMAR			
			Deoraj CAUSSY	WHO/SEARO		
		インドネシア	Darmawali HANDOKO	Ministry of Health		
			Endang Burni PRASETYOWATI	Directorate of Vector-borne and Communicable Diseases		
			Ni Ketut SUSILARINI	NIHRD		
		ミャンマー	Ne Win	National Health Laboratory		
			Soe Lwin NYEIN	Central Epidemiology Unit,Ministry of Health		
			Moun Moun OO			
		スリランカ	Geethani Asokamili WICKRAMASING	Medical Research Institute		
			Pushpa Ranjan	Epidemiology Unit		
		タイ	Darin AREECHOKCHAI	Ministry of Public Health		
			Malinee CHITTAGANPITCH			
			Ladarat PHATINAWIN			
			Mark SIMMERMAN	Coordinating Center for Infectious Diseases		
		米国	Larisa GUBAREVA	Centers for Disease Contlol and Prevention		
			Alexandar KLIMOV			
			Ann MOEN			
			XU Xiyan			
			Anthony Wayne MOUNTS			
			THERESA TURSKI			
			Andrew DEMMA			
		スイス	Keiji FUKUDA	WHO/HQ		
			Wenqing ZHANG			
20.4.21		タイ	Narin Upragarin	ｶｾｻｰﾄ大学	獣医科学部	カセサート大学教員Narin Upragarin他来所、見学及び感染研概要把握(国立大学法人東京大学農学部)
			Sodawichit			
			Phongwirat			
			Sahatrakul			
			Kaewthumchai			
			Palaseweenun			

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

20.5.14		中国	沈 心亮	北京生物製品研究所	所長	中国北京生物製品研究所副所長他来所
			嚴 毓軍		副所長	共同研究契約書締結「Ｅ型肝炎ワクチンの開発に関する研究」
			趙 鎧	中生集団科医会	ウイルス第二部	(中国北京生物製品研究所)
			雷 霆	北京生物技術和新医薬産業促進中心		
			趙 静			
			趙 瓊			
20.5.19		中国	朱 威	上海生物製品研究所	所長	中国上海生物製品研究所所長他来訪
			楊 忠東		企画調整主幹	(中国上海生物製品研究所)
			汪 孟連		細菌第二部	
			趙 鋼		感染病理部	
			陳 則			
20.5.20		中国	盛 彦敏	長春師範学院生命科学院	動物管理室	中国実験動物学会視察団見学
			羅 玉峰	中国獣医薬品監察所		(順天堂大学大学院医学研究科)
			陳 小雲			
			王 蕭	広州中医薬大学実験動物中心		
			紀 宇	江蘇省薬品検疫所		
			史 清水			
			陸 益紅			
			燕 順生	新疆実験動物中心		
			廖 力夫			
			曽 林	北京京農医学実験動物中心		
			徐 孝平	浙江中医薬大学実験動物研究中心		
			張 翼清			
			羅 維光	阜阳市維光実験動物中心		
			馬 玉媛	軍事医学科学院野　輸血研究所		
			秦 川	中国科学院実験動物研究所		
			万 澤軍			
			万 燕平			
			趙 恰紅			
			李 継平			
			宋 晶			
			趙 宏旭			
			郭 文華			
			許 虎峰			
			董 暁輝			
			劉 軍須	河北医科大学実験動物学部		
			宋 淑霞			
			王 勝昌	上海実験動物研究中心		
			韓 凌霞	中国農業科学院		
			汪 思應	安徽医科大学		
20.5.23		ｱﾌｶﾞﾆｽﾀﾝ	MOHAMMAD TAWAB	保健省	感染症情報センター	JICA集団研修保健衛生管理セミナー
		ボリビア	CARDOZO ADELAIDA MIRANDA	ｽｸﾚ市地域保健局		(国立保健医療科学院)
		ハイチ	ROY CLEMENT GRETA	保健省外部委託機関医師		
		ホンデュラス	PINEL GONZALES CLAUDIA	保健省		
		ケニヤ	NGARI CAROLINE WAMUYA	国家VCTｺｰﾃﾞｨﾈｰﾀｰ		
		マダガスカル	RAZAFIMAHATRATRA JEAN LOUIS	保健省保健統計部		
		マリ	DIARRA DICKO ROKIATOU	保健省		
		モンゴル	TUVDENDARJAA KHULAN	ｳﾗﾝﾊﾞｰﾄﾙ市保健局		
			BAYARMAA CHINBAATAR	保健省		
			ERDENETUYA SUKHEE			
		スリナム	TING A KEE BEVERLY	保健局家族保健部		
		タンザニア	MUSSA JAFARI ALLY	東部地域保健研修院		
			MSANGI MICHAEL	保健省		
		中国	CHEN GUO HONG	江蘇省疾病対策予防ｾﾝﾀｰ		
			JIN QING ZHONG	北京疾病対策予防ｾﾝﾀｰ		
			LIPING GUO	中日友好病院		
			TAO YANG	保健省健康医療局		
		ラオス	VILAY PHOUTNALONG	保健省		
			SENGCHAN PHONGSAVATH			

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

		サモア	ASAUA FA'ASINO	WHO ｻﾓｱ国事務所		
		フィリピン	TRONO MARICEL	JICA結核予防ﾌﾟﾛｼﾞｪｸﾄ		
		タイ	EKACHAI PIENSRIWATCHARA	ﾍﾙｽﾌﾟﾛﾓｰﾃｨﾝｸﾞ病院		
			TOMON THONGSRI	ﾌﾞｯﾀﾞﾁﾅﾗ病院心臓病ｾﾝﾀｰ		
		カンボジア	SOKUN CHAY	保健省		
		ミャンマー	MOE KHAING	保健省		
		カザフスタン	ALMA SYZDYKOVA	保健省		
		キルギス	DINARA DUISHENOVA	ﾋﾞｼｭｹｸ家族医療ｾﾝﾀｰ		
		ウズベキスタン	NADIRA MURATOVA	ﾀｼｹﾝﾄ高等医療教育機関		
		バングラディシュ	MOHAMMAD SOHEL SAMAD	保健省		
			A.R.HUMAYUN KABIR			
		米国	CHARLES S.KATO	ﾌﾙﾌﾞﾗｲﾄ研究員		
20.5.27		アンゴラ	Luis Gomes Sambo	WHO Regional Director Africa	所長 副所長 企画調整主幹 エイズ研究センター	AFRO事務局(WHOアフリカ事務局)長来訪 (国立国際医療センター)
20.5.29		韓国	Hae Wol Cho	韓国ｳｲﾙｽ学会	所長 副所長 企画調整主幹 ウイルス第一部	元韓国NIH院長(現韓国ウイルス学会理事長)他来訪 (韓国ウイルス学会)
			Ho Jae Lee	Korea Green Cross Cooperation		
20.6.4		中国	楊　栄閣	中国科学院武漢ｳｲﾙｽ研究所	所長 企画調整主幹 エイズ研究センター ウイルス第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染症情報センター	中国科学院武漢ウイルス研究所エイズ研究センター長来訪、感染研セミナー講演、意見交換、研究打合せ (中国科学院武漢ウイルス研究所)
20.6.16	～7.18	ボツワナ	Nkitse Ellen	Ministry of Health	エイズ研究センター 感染症情報センター 免疫部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA集団研修「診断とモニタリングのためのHIV感染検査のマネジメント」 (JICA)
		インド	Chadha Seema	Northern Railway Central Hospital		
		マラウイ	Chiwaula Mabvuto Japheth	Ministry of Health		
		ナイジェリア	Umoffa Edidiong Michael	Ministry of Health		
			Simon Felicity Angbandoo	University of Uyo Teaching Hospital		
		セネガル	Ndiaye Papa Menoumbe	Federal Ministry of Health		
		スワジランド	Maphalala Gugu Petunia	Ministry of Health and Social Welfare		
		ジンバブエ	Banhwa Simeon	Harare Hospital Laboratory		
			Ruhanya Vurayai	Department of Medical Microbiology College of Health Sciences		
20.6.16	～7.18	ザンビア	Misonda Kunda Geoffrey	University ofTeaching Hospital	エイズ研究センター	JICA国別研修(ザンビア)「HIV感染検査のマネジメント」 (JICA)
20.6.27		ｱﾌｶﾞﾆｽﾀﾝ	MOHAMMAD TAWAB	保健省	ハンセン病研究センター	JICA集団研修保健衛生管理セミナー (国立保健医療科学院)
		ボリビア	CARDOZO ADELAIDA	ｽｸﾚ市地域保健局		
		ハイチ	ROY CLEMENT GRETA	保健省外部委託機関医師		
		ホンデュラス	PINEL GONZALES	保健省		
		ケニヤ	NGARI CAROLINE	国家VCTｺｰﾃﾞｨﾈｰﾀｰ		
		マダガスカル	RAZAFIMAHATRATRA JEAN	保健省保健統計部		
		マリ	DIARRA DICKO ROKIATOU	保健省		
		モンゴル	TUVDENDARJAA KHULAN	ｳﾗﾝﾊﾞｰﾄﾙ市保健局		
		スリナム	TING A KEE BEVERLY	保健局家族保健部		
		タンザニア	MUSSA JAFARI ALLY	東部地域保健研修院		
			MSANGI MICHAEL	保健省		

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

		中国	CHEN GUO	江蘇省疾病対策予防ｾﾝﾀｰ		
			JIN QING ZHONG	北京疾病対策予防ｾﾝﾀｰ		
		ラオス	VILAY PHOUTNALONG	保健省		
		サモア	ASAUA FA'ASINO	WHO ｻﾓｱ国事務所		
		フィリピン	TRONO MARICEL	JICA結核予防ﾌﾟﾛｼﾞｪｸﾄ		
20.7.7		ﾊﾞﾝｸﾞﾗﾃﾞｨｼｭ	ISLAM Kamryl	Office of Director	ウイルス第二部	JICA集団研修「第5回ワクチン予防可能疾患の疫学及び対策セミナー」研修、見学 (財団法人国際保健医療交流センター)
		ハイチ	JACKSON Emsly	Ministry of Public Health and Population		
		インド	SINGH Heisnam	Directorate of Family Welfare Services		
		マダガスカル	RANDRIAMIHARISOA Haiamihamina	Service de Vaccination		
		ニジェール	ABOUBACAR Zeinabou Kindo	Ministry of Public Health		
		ナイジェリア	MAHUMUD Mustafa Zubairu	National Primary Health Care Deveropment Agency		
		パキスタン	SALEEM Muhammad	Projerct Medical Officer		
			ALAM Muhammad	Directorate General Health Services		
			KASI Munir Ahmwd	Bovernment of Balochistan		
		イエメン	SAIF Abdulsalam Ahmed Dabwan	Ministry of Public Health and Population		
20.7.7	～7.17	台湾	His-Chieh Wnag	台湾CDC昆虫医科学部門	昆虫医科学部 ウイルス第一部	台湾CDC昆虫医科学部門研究者「現在の媒介昆虫の研究およびつつがむし病の現状に関する研修」 (台湾CDC)
20.7.29	～7.30	ｺｰﾄｼﾞﾎﾞﾜｰﾙ	GAHA Thomas Noel	Ministry of Health	血液・安全性研究部 感染症情報センター エイズ研究センター ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA途上国医師のための集団研修「AIDSの予防及び対策セミナー」 (国立病院機構熊本医療センター)
		ガーナ	AGYARKO-POKU Thomas	Ghana Health Service		
		マダガスカル	PAKOTOBE Liva	Ministry of Health		
		マラウイ	KAWAYI Raymond	Ministry of Health		
		ナイジェリア	MERIBE Chidozie Ogueiiofor	Federal Ministry of Health		
			BELLO Olugbenga	Wuse General Hospital		
		セネガル	FALL Diop Oulymata	Ministry of Health and Prevention		
		タンザニア	SANDO David Masambe	National AIDS Control Programme		
			MMBANDO Susan Donan	Ministry of Health and Social Welfare		
20.9.3		英国	Artur Richard Mitchell	Medical Research Council	所長 副所長 企画調整主幹 感染病理部長 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染症情報センター	英国 Medical Research Council(医療審議会)安全性部企業安全部門次長来所、意見交換及び感染研セミナー講演「英国におけるバイオセーフティの現状と教育プログラム」 (英国MRC)
20.9.5		中国	FU Xiao-Qing	Hangzhou 6th People's Hospital	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「肝炎の疫学、予防及び治療セミナー」研修 (国立病院機構熊本医療センター)
			NIE Shang-Yan	Heibei Province Handan Central Hospital		
		ｺｰﾄｼﾞﾎﾞﾜｰﾙ	SEVEDE Daouda	Institut Pasteur of Cote D'Ivoire,Bouake University Hospital Center,Ministry of Health		
		フィジー	ACHARYAShrish Naresh	Ministry of Health and Medical Services		
		キリバス	TATIRETA Bernard Paul	Ministry of Health and Medical Services		
		ラオス	PATHAMMAVONG Chansay	Mother & Child Health Center,Ministry of Health		
			RATTANAVONG Oudayvone	Mahosot Hospital, Ministry of Health		
			SAYTHONGPANE Sengthavy	Mahosot Hospital, Ministry of Health		

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

		モンゴル	GOMBOJAV Davaa	School of Public Health,Health Sciences University of Mongolia		
			CHUNT Munkhtsetseg Munkhuu	National Center for Communicable Diseases		
		ミャンマー	KYAW Min	Civil Hospital,Ganlgan, Ministry of Health		
		ネパール	PARAJULI Urmila	Bheri Zonal Hospital		
20.9.12		タイ	Wiwat Seetamanotch	ﾌﾟｰｹｯﾄ州医療事務所	感染症情報センター	JICA「救急・大災害医療セミナーⅡ」研修 (財団法人太平洋人材交流センター)
		インドネシア	Marpaung Elida	保健省医療局		
			Ira Cyndira Tresna	保健省危機ｾﾝﾀｰ局防災課		
		スリランカ	Weerapperuma Kankanamge Wijaya Sarathchandra	中央州ﾏｰﾀﾚｰ県総合病院医療局		
			Lakshman Thilakasiri Gamlath	保健省ｷｺﾞｰﾙ市総合病院医療局		
		コスタリカ	Johnny Orozcon Solano	ｺｽﾀﾘｶ社会保険ｱﾈｳｼｵﾝ病院		
			Jose Garcia Acosta	救急災害対応地域委員会		
		ニカラグア	Roberto Antonio Gomez	ﾆｶﾗｸﾞｱ赤十字		
			Martha Yadira Bendana	保健省ﾛﾍﾞﾙﾄﾙﾃﾞﾛﾝｸﾞﾃｨｴﾚｽ病院		
		イラク	Hassan Hamza Hamadameen	ｸﾙﾃﾞｨｽﾀﾝ地域ｱﾙﾋﾞｰﾙ県ﾎｰﾗｰ救急病院		
			Abdullah Ibrahim Mohammed	ｸﾙﾃﾞｨｽﾀﾝ地域ﾀﾞﾌｰｸ県ﾀﾞﾌｰｸ救急病院		
		中国	Cao Gang	西安交通大学第二病院		
			Yang Wei	西安交通大学医学部付属第一病院		
		ドミニカ	Robertson thomas	ﾌﾟﾘﾝｾｽﾏｰｶﾞﾚｯﾄ病院救急部局		
		エルサルバドル	LorenaEsperaza Landaverde	厚生省ﾍﾞﾝｼﾞｬﾐﾝﾙｰﾑ小児病院		
		セントルシア	Chiristiana Nathaniel	ﾋﾞｸﾄﾘｱ病院救急科		
		ウルグアイ	Danilo Ipharraguerre Cavelli	消防局医療部		
		サウジアラビア	Neazy Aiman Abdulkareem A.	保健省ﾒｯｶ市救急治安局		
		トルコ	Dogac Niyazi Ozucelik	ﾊｼﾞｪｯﾃﾍﾟ大学医学部救急科		
20.9.17		台湾	黄 継慶 葉 元麗 黄 淑娟	台湾行政院衛生署疾病管制局	所長 副所長 感染症情報センター	台湾CDC職員感染症サーベイランスに関する見学・意見交換等 (台湾CDC)
20.9.18		エチオピア	FEKADU Nigussie Wodajo	ｱﾃﾞｨｽｱﾍﾞﾊﾞ市保健管理局計画課	感染症情報センター ハンセン病研究センター	JICA地域別研修「英語圏アフリカ地域地域格差の是正のための保健行政システム改善コース」 (社団法人沖縄県看護協会)
		ケニア	ONDITI Samwel Okoth	保健省ｷｽﾑ地区保健行政官		
			KIMEU Jackson	保健省Nyanza州担当保健行政官		
		南アフリカ	Jooste Rykie	ｺﾞｰﾃﾞﾝ州保健部		
			KGOBE Susan Dimakatso	保健省ﾌﾟﾗｲﾏﾘﾍﾙｽｹｱ部		
		スーダン	AHMED IBRAHIM Eltahir Abd	連邦保健省医療部人材課		
			KUR Lucia William	南部ｽｰﾀﾞﾝ政府保健省予防医療部		

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

		タンザニア	MASAULE Fares Jeremia	保健省政策・計画部保健ｾｸﾀｰ改革推進局		
			MWAKASUNGULA Daniel Nehemia	保健省政策・計画部建設課		
20.9.19		タイ	Pravit Choomkasien	Bureau of Epidemiology, Ministry of Public Health	獣医科学部 ウイルス第一部	タイ厚生省・農水省職員ズーノーシスに関する研修 (タイ厚生省)
			Teersak Chuxnum			
			Suwanna Thepsoontorn			
			Punchawee Sukbut			
			Somkiat Thonglek			
			Pemika Noiapai			
			Supoj Noopataya	Department of Livestock Development, Ministry of Public Agriculture		
			Yuttana			
			Nattakarn Siripraivan	US Army Medical Component-Armed Forces research Institute of Medical Sciences		
20.9.19	～21.8.31	中国	BI ZHENWANG	Shandong Centers for Disease Control and Prevention	感染症情報センター 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「感染症サーベイランス・感染症対策・パンデミック対策」研究 (財団法人日中医学協会)
20.9.24	～10.20	ベトナム	Nguyen The Anh	National Institute of Hygiene Epidemiology	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	JICAベトナム国別研修「国立衛生疫学研究所能力強化プロジェクト」バイオセーフティ研修 (JICA)
20.9.29	～10.10	中国	Wu XueHong	Guangzhou Center for Disease Control and Prevention	感染症情報センター	JICA中国国別研修「感染制御管理コース」 (JICA)
20.9.29	～10.10	ラオス	Noikaseumsy Sithivong	National Center for Laboratory and Epidemiology	細菌第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	WHOフェロー「食中毒菌の検査法に関する研修」 (WPRO)
20.9.29	～11.12	ラオス	Vongdouangchanh Arounnapha	National Center for Laboratory and Epidemiology	細菌第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	WHOフェロー「食中毒菌の検査法に関する研修」 (WPRO)
20.10.1	～10.28	ベトナム	Tran Hai Son	National Institute of Hygiene and Epidemiology	昆虫医科学部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	日本学術振興会アジア諸国等との学術交流事業(拠点大学方式)研修 (長崎大学熱帯医学研究所)
20.10.2		中国	CAO RUILIN	江西省撫州市第一医院	感染病理部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染症情報センター	中国江西省衛生庁日本視察団来訪、施設見学等 (社団法人日中協会)
			LIAO HUIJUAN			
			WEN BIN			
			ZHOU YUFAN			
			WEN XINYUAN	江西省萍郷市人民医院		
			LI XING			
			ZHENG ZHIGANG			
			AI QINGYA	江西省新余市人民医院		
			WANG SHUIZHU			
			LI FUQIANG			
20.10.3		フランス	Yves Charpak	ﾌﾗﾝｽﾊﾟｽﾂｰﾙ研究所	所長 副所長 ウイルス第一部 ウイルス第二部 病原体ｹﾞﾉﾑ解析研究ｾﾝﾀｰ エイズ研究センター 感染症情報センター ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	フランスパスツール研究所国際部長来訪、意見交換等 (フランスパスツール研究所)
20.10.6	～21.3.28	中国	Wu Ji-Bin	Guangzhou Centers for Disease Control and Prevention	ウイルス第二部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA国別研修中国「病原体検索(1)」 (JICA)
20.10.17		ﾊﾞﾝｸﾞﾗﾃﾞｨｼｭ	Irona Khandaker	ﾊﾞﾝｸﾞﾗﾃﾞｨｼｭ国際下痢性疾患研究ｾﾝﾀｰ	感染症情報センター エイズ研究センター ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染病理部	アジア地域エイズ専門家研修 (財団法人エイズ予防財団)
		カンボジア	Sovannarith Samreth	国立HIV/AIDS・皮膚病・性感染症ｾﾝﾀｰ		
		中国	Yang Wenjie	河南省疾病ｺﾝﾄﾛｰﾙｾﾝﾀｰHIV/AIDS予防対策研究所		
			Zhang Ye	疾病予防対策ｾﾝﾀｰ国家公衆衛生ｻｰﾍﾞｲﾗﾝｽ・情報ｻｰﾋﾞｽｾﾝﾀｰ		
		インド	Vijay Kumar Tiwari	国立保健家族福祉研究所		
		インドネシア	Hariadi Wisnu Endang Lukitosari	保健省感染症対策・環境保健局		

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

		ラオス	Phoutthaly Keomoukda	保健省HIVｴｲｽﾞ・感染症ｾﾝﾀｰ		
		マレーシア	Prabakaran Solomon Dhanaraj	保健省疾病対策局ｴｲｽﾞ・性感染症部門		
		ミャンマー	San Hone Thit Sinn	保健省保健部		
		ネパール	Shambhu Dutta Joshi	地域公衆衛生局		
		スリランカ	Saramge Chandima kumari	保健省		
		タイ	Niramon Punsuwan	保健省疾病管理局		
			Kanitha Thantaphan			
		ベトナム	Tran Van Giang	国立感染症・熱帯病研究所		
20.10.17	～10.24	韓国	Lee,Soh Jin	韓国ﾊﾟｽﾂｰﾙ研究所	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 放射能管理室 動物管理室 病原体ｹﾞﾉﾑ解析研究ｾﾝﾀｰ エイズ研究センター 寄生動物部 ウイルス第二部 ウイルス第三部 血液・安全性研究部 感染病理部	韓国パスツール研究所BioSafety & Environment Coordinator バイオセーフティ研修、及び感染研バイオセーフティセミナー講演 (韓国パスツール研究所)
20.10.20	～12.1	ベトナム	Pham Do Quyen	ﾍﾞﾄﾅﾑ国立衛生疫学研究所(NIHE)	ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 ウイルス第一部	JICAベトナム国別研修「国立衛生疫学研究所能力強化計画プロジェクト」ウイルス学 (JICA)
20.10.20	～12.19	中国	GUAN,Wen-Da	The First Affiliated hospital of Guangzhou Medical College	ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染症情報センター ウイルス第一部	JICA国別研修中国「病原体検索(3)」 (JICA)
20.10.22		フィリピン	Daniela L.De Asis	国家灌漑庁	寄生動物部	円借款事業「フィリピンカトゥビック農業総合開発事業」住血吸虫症対策研修 (株式会社三祐コンサルタンツ)
			Belen G.De Padro	農業省		
			Agnes N.Cuayzon	保健省		
			Alfredo U.Rebadulla	ｶﾄｳﾋﾞｯｸ町役場		
			Romualdo D.Saises	ﾗｽ・ﾅﾊﾞｽ町役場		
20.10.27		ﾊﾞﾝｸﾞﾗﾃﾞｨｼｭ	Rezaul Karim	ﾁｬﾊﾟｲﾅﾜﾌﾞｶﾞﾝｼﾞ外科医	副所長 感染病理部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 動物管理室	JICA集団研修「地域保健システム強化による感染症対策を中心とした保健課題の改善」 (長崎大学)
		インドネシア	Prihatna Achmad	Ministry of Health		
		トンガ	Ulufonua Sione	Ministry of Health		
		中国	Huang Qiang	Medical College,Ningbo University		
		ナイジェリア	Unigwe Uchechukwu Sonny	Department of Internal Medicine,Nigeria Teaching Hospital		
			Saka Yisa Adewale	Federal Ministry of Health		
		カメルーン	Mbambole Grace Mgwenyi Epse	Ministry of Health		
		セネガル	Manga Noel Magloire	Fann Hospital University		
20.10.28	～11.25	ベトナム	LE Trong Hai	National Institute of Hygiene and Epidemiology	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICAベトナム国別研修「国立衛生疫学研究所能力強化計画プロジェクト」 BSL-3実験室維持管理 (JICA)
			NGUYEN Van Hai			
20.10.30	～11.14	中国	JI Yixin	Chinise Center for Disease Control and Prevention	ウイルス第三部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA国別研修中国「麻疹実験室診断」 (JICA)
20.11.11		フィジー	KELO Waisea Raitala	保健省ﾌｨｼﾞｰ医薬品ｾﾝﾀｰ	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 (財団法人阪大微生物病研究会観音寺研究所)
		タイ	PINYOSUKHEE Nadtanan	保健省医科学局ﾜｸﾁﾝ課		
		ベトナム	NGUYEN Hoang Tung	保健省ﾜｸﾁﾝ生物製剤研究所		

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

20.11.12		カンボジア	SUY Sopheap	ｽﾄｩﾝﾄﾚﾝ州立病院	感染症情報センター	JICA集団研修「地域保健システム強化による感染症対策コース」 (社団法人沖縄県看護協会)
		ドミニカ	CHARLES Justina	厚生省ﾌﾟﾘﾝｽﾏｰｶﾞﾚｯﾄ病院	寄生動物部	
			LAURENT Joanna			
		エルサルバドル	BAIRES AGUILAR Balmore	厚生省技術協力ﾕﾆｯﾄ地域保健ﾌﾟﾛｸﾞﾗﾑ		
			SOTO VILLALTA Mario Rafael			
		ホンジュラス	MENDOZA MARADIAGA Suyapa Asuncuon	保健省性感染症研究室		
		ネパール	DHUNGANA Padama Raj	保健省保健事業部		
		ニカラグア	MELEDEZ DARCE Ana Cristian	保健省国立自治大学		
		ﾊﾟﾌﾟｱﾆｭｰｷﾞﾆｱ	MAKITA Leo Sora	保健省保健部		
			TAKOMBO Henry	東ｾﾋﾞｯｸ州保健課		
		サモア	FILI Sinei	保健省ﾍﾙｽﾌﾟﾛﾓｰｼｮﾝ担当		
		タイ	SITTIWAKIN Thaverit	保健省疾病対策部		
20.11.18		中国	曲 乃方	ﾊﾙﾋﾟﾝ伝染病院	感染症情報センター	中国黒龍江省衛生庁管轄ハルピン市伝染病病院訪日団感染症サーベイランス研修 (特定非営利活動法人日中医学交流センター)
			朱 鵬			
			金 春英			
			盧 寧			
			金 貞子			
20.11.27	～11.28	中国	李 黎	中国CDC	所長 副所長 ウイルス第二部 ウイルス第三部 細菌第二部 感染症情報センター	JICA中国「ワクチン予防可能感染症のサーベイランス及びコントロールプロジェクト」カウンターパート研修 (国立国際医療センター)
			席 慶敏			
			羅 建国	寧夏自治区疾病予防控制中心		
20.12.1	～12.19	インドネシア	RAMADHANY Ririn	Virology Laboratory of NIHRD	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染病理部 感染症情報センター ウイルス第一部 ウイルス第二部 ウイルス第三部 動物管理室 病献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)
		ラオス	SOMOULAY Virasack	National Center for Laboratory and Epidemiology		
		モンゴル	KHURELSUKH Tungalag	National Center for Infectious Diseases with Natural Foci		
		ミャンマー	YIN Yin Htwe	National Health Laboratory		
		タイ	VEERASEATAKUL Punnarai	Regional Medical Sciences Center		
20.12.15		米国	Keiji Fukuda	WHO本部	所長 副所長 ウイルス第三部 感染症情報センター 獣医科学部	WHO本部新型インフルエンザ対策部長他来所、意見交換等 (WHO本部)
			Ludy Suryabtoro			
20.12.15		モンゴル	Sandag Tsogtsaikhan	ﾓﾝｺﾞﾙ保健科学大学	エイズ研究センター 感染症情報センター 感染病理部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA「感染症のサーベイランスのための検査システムと情報収集解析システムに関する研修」 (神奈川県)
			Tsegmid Sarantuya	ｻｲﾝｼｬﾝﾄﾞ医科大学		
20.12.16	～12.17	韓国	Lee,Ji Youn	Ministry for Health,Welfare and Family Affairs	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	韓国CDC公衆衛生危機管理部長他来所、施設見学及び新型インフルエンザ対策、感染症サーベイランスについて意見交換等 (韓国CDC)
			Shin,Sang SooK	KCDC		
			Lee,Dong Han			
			Kim,Seong Sun			
			Na,Baeg Ju	College of Medicine-Konyang University		
			Seung,Hye Myung	Institute of Health Promotion at Yonsei University		
			Cho Myongsun	Korean Foundation for International Healthcare		
			Yang Yong Sook			

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

20.12.17		フィリピン	Remigio M.Olveda Socorro P. Lupisan	ﾌｨﾘﾋﾟﾝ国立熱帯医学研究所	所長 副所長 獣医科学部 ウイルス第一部 昆虫医科学部 寄生動物部 免疫部 生物活性物質部 細菌第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	フィリピン国立熱帯医学研究所所長、副所長他来所、意見交換及び感染研セミナー講演「フィリピン国立熱帯医学研究所とその活動について」 (フィリピン国立熱帯医学研究所)
20.12.17		英国	Brian Greenwood	London School of Hygiene and Tropical Medicine	所長 副所長 寄生動物部 昆虫医科学部	Dr.ブライアン・グリーンウッド来所、意見交換及び感染研セミナー講演「Elimination of maraia-is this feasible?」 (ロンドン大学衛生熱帯医学校)
21.1.1	～3.30	中国	WANG Hongsheng	Chinese Academy of Medical Sciences& Peking Union Medical College	ハンセン病研究センター 病原微生物部	ハンセン病の増悪因子として結核菌を主に取り上げ、中国における臨床例をもとに、増悪に関与する宿主因子およびらい菌・結核菌の菌体因子の解明に関する共同研究に資する打ち合わせ （新興・再興感染症研究プログラム）
21.1.9		タイ	Ram Rangsin Mathirut Mungthin Kwanjai Vipittigul	Phramongkutklao college of Medicine Armed Forces Institute of Medical Sciences	ウイルス第一部 感染症情報センター ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	タイ国感染症専門医来所、施設見学及び意見交換 (自衛隊中央病院)
21.1.13	～2.6	エチオピア ナイジェリア パキスタン ベトナム	IDOSA Berhane Asfaw ODERINDE Bamidele ALAM Muhammad DAO Thi Hai Anh NGUEN Thi Mai Thu	Ethiopian Health & Nutriton Research Institute UMTH Maiduguri National Institute of Health National Institute Hygiene and Pasteur Institute of HCM City	ウイルス第二部	JICA集団研修「世界ポリオ根絶のための実験室診断」 (JICA)
21.1.13	～4.10	中国	WANG Dongyan	Chinise Center for Disease Control and Prevention	ウイルス第二部	JICA国別研修「世界ポリオ根絶のための実験室診断」 (JICA)
21.1.20, 1.22		ドイツ オランダ	ﾚﾈ･ｺﾞﾁｬｯｸ ｱｳﾗ･ﾃｨｰﾒﾝ	ﾄﾞｲﾂ ﾌﾗﾝｸﾌﾙﾄ市保健局感染症対策部 ｵﾗﾝﾀﾞ感染症ｾﾝﾀｰ感染症対策部	所長 副所長 ウイルス第一部 感染症情報センター ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	ドイツ フランクフルト市保健局感染症対策部部長、オランダ感染症センター感染症対策部副部長来所、意見交換、感染研セミナー講演 (ドイツフランクフルト市保健局、オランダ感染症センター)
21.1.23		タイ	Kriengkrai Kitcharoen Chanvit Leelayuwat Nantarat Komanasin Rungthip Puntumetakul	ｺﾝｹｰﾝ大学	所長 副所長 免疫部 細菌第二部	タイ　コンケーン大学医療学部関係者来所、研究協力覚書締結、意見交換等 (コンケーン大学)
21.1.27	～1.30	中国	MAO, Nai-Ying	Chinise Center for Disease Control and Prevention	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	JICA 中国国別研修「麻疹実験室診」 (JICA)
21.1.28	～1.29	韓国	Youngmee Jee	WHO/WPRO	副所長 ウイルス第一部 ウイルス第二部	WHO/WPRO Lab coordinator来所、意見交換、実験室打合せ等 (WHO/WPRO)
21.1.28		コスタリカ ウガンダ グアテマラ	Erna Lorena Melendez Arscely Del Carmen Acevedo Servellon Ana Elizabeth Garcia Oscar Estuardo Gomez Molter Jorge Mario Aguilar Velasquez Claudia Maria Garcia Gonzalez	社会保険庁 国立血液銀行 ﾍﾞﾝﾊﾐﾝﾌﾞﾙｰﾑ国立こども病院　血液銀行 保健省臨床検査質管理ﾕﾆｯﾄ 保健省 ｻｶﾊﾞ地域総合病院血液銀行 西部ｻﾝ･ﾌｧﾝ･ﾃﾞ･ﾃﾞｨｵｽ病院血液銀行 保健省	感染症情報センター 血液・安全性研究部 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)」研修 (JICA)

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

		ホンジュラス	Miriam Lorena Lopez Castellanos	Dr.ﾏﾘｵ･ｶﾀﾘﾉ･ﾘﾊﾞｽ国立病院		
			Carmen Gudelia Ramos Dubon	保健省 西部地域病院		
		ニカラグア	Isaac Abraham Martinez	保健省 国立診断ﾚﾌｧﾚﾙ･ﾗﾎﾞﾗﾄﾘｰ		
			Erica Marcela Narvacz	保健省ﾋﾉﾃﾍﾟ地域病院		
21.2.5		米国	Thimothy M. Uyeki	CDC/CCID/NCIRD	感染症情報センター	米国CDC疾病対策センター部長来所、講義、意見交換、及び感染研セミナー「Clinical Issues and Global Epidemiology of Human Infection with Highly Pathogenic Avian Influenza A (H5N1) Virus」講演 (CDC/CCID/NCIRD)
21.2.4, 2.6		ブルキナファソ	GNANOU	保健省　中南部地方保険	ハンセン病研究センター 感染症情報センター 寄生動物部	JICA集団研修「地域保健システム強化による感染症対策」研修 (社団法人沖縄県看護協会)
			DOAMBA Mathias	保健省　感染症対策局		
			BONKOUGOU Juste Isidore	保健省　国立公衆衛生検査所		
		エチオピア	MAHDI Kasim Sultan	保健省　ｿﾏﾘｱ地方保健局		
			ENYEW Alemayehu Mesfin	保健省　ｱﾑﾊﾗ地方保健局		
			ALEMU Mulat Nigus	保健省　ｱﾑﾊﾗ地方保健局		
		ガンビア	MANNEH Lamin	保健福祉国務省		
		ニジェール	DIAKITE Oumarou	保健省　ﾆｱﾒ局		
		タンザニア	URASA Peris Lucas	保健社会福祉省予防事業部		
		ウガンダ	KASANKA	保健省全国疾病対策部		
21.2.9		米国	Frederick A Murphy	Texas Univ.Galveston Medical Branch, Dept.Pathology	ウイルス第一部 感染病理部 獣医科学部 動物管理室	テキサス大学ガルベストン校教授、ジョージア州立大学教授、CDC安全部長来所、感染研セミナー「サル類をはじめとする実験動物における人獣共通感染症について」講演 (テキサス大学等)
			Casey Chosewood	Office Health and Safety,CDC		
			Julia K.Hilliard	Georgia State Univ.Viral Immunology Center		
21.2.9		ﾊﾞﾝｸﾞﾗﾃﾞｨｼｭ	Rahman AzizarRahman Azizar	Communicable Diseases Control (CDC)	寄生動物部	JICA集団研修「国際寄生虫予防指導者セミナーコース」 (財団法人日本寄生虫予防会)
		ベナン	Sansuamou Tamara Eulalie Carinne	National Center of University Arts, Ministry of Health		
		ブルキナファソ	Bamba Issouf	Disease Control Department, National Lymphatic Filariasis Eliminating Program		
		ガーナ	Korkor Andrew Seidu	Guinea Worm Eradication Programme, Ghana Health Service		
			Odoom Samuel	Disease Control and Prevention/Neglected Tropical Diseases Control Programme		
		ホンデュラス	Alger Pineda Jackeline	Specialized Physician in the Field of Parasitology		
		ケニヤ	Mutua Alex Ndegwa	Family Health/Child and Adolescent Health, Ministry of Public Health and Sanitation		
		ミャンマー	San Nwe Yee	Divisional Maternal and Child Health Program, School Health Department, Mandalay		
		ザンビア	Nicholas Chisala Kasoma	Environmental Health, Chainama College Hospital		

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

21.2.13		ボツワナ	Ellen Kenalemang Kgaswane	Clinical Service,Ministry of Health	細菌第二部	ICA集団研修「薬剤耐性病原体の実験室診断」 (財団法人国際保健医療交流センター)
		中国	Guo Fei	The First Affiliated hospital of Nanchang University		
			Wang Feng	Ningho Lihuili Hospital		
			Wu Aiwu	The First Affiliated hospital of Guangzhou Medical College		
		マラウイ	Rudia Lungu	Community Health Science Unit.Ministry of Health		
		フィリピン	Arlito Guerrero Rodriguez	San Lazare Hospital		
21.2.19		米国	Elizabeth George	U.S.Department of Homeland Security	副所長 細菌第一部 細菌第二部 感染病理部 感染症情報センター ウイルス第一部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 獣医科学部	米国国土安全保障省とのChemical and Biological Collaboration Conference (独立行政法人科学技術振興機構)
			Keith B.Ward	U.S.Department of Homeland Security		
			Cynthia Sonici-Mullin	U.S. Environmental Protection Agency		
			Laura Javitt	CDC Laboratory Response Network		
21.2.19		台湾	Tzay-Jinn,Chen	台湾衛生署	ウイルス第三部 動物管理室 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	台湾衛生署常務副署長他来所、意見交換、施設見学等 (財団法人交流協会)
			Li-Ying,Lai			
			Jen-Ron,Chiang			
			Hsiu-Mei,Ho			
			Chis-Tao,Chien			
21.3.2	～3.3	フィリピン	Edna Mueca Edrada	国立ｻﾝﾗｻﾞﾛ病院感染症及び熱帯病科	感染症情報センター	JICA「感染症対策」研修(アウトブレイク対策セミナー、カントリーレポート発表会、講義等) （社団法人国際厚生事業団）
		ラオス	Yengmala Vilaphanh	保健省衛生予防局		
		ミャンマー	Aung Kyaw Moe	保健省健康局特別疾病対策課		
		インドネシア	Simanjuntak Rohani	保健省疾病対策環境衛生総局		
			Hadi Ananto Prasetya			
		カンボジア	Chhy Sokhom	保健省感染症対策課検疫局		
21.3.2	～3.16	インド	Avik Mukherjee	National Institute of Colera and Enteric Diseases,India	寄生動物部	赤痢アメーバ等の原虫感染症に関する共同研究 （新興・再興感染症研究プログラム）
21.3.3	～3.4	ブラジル	Lauro Vieira Perdigao	ｻﾝﾎｾ病院	感染症情報センター 血液・安全性研究部 エイズ研究センター ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	JICA研修「AIDSの予防及び対策コース」 （独立行政法人国立病院機構熊本医療センター）
		中国	Gang Yuan	寧波感染症病院		
		エルサルバドル	Maris Jose Herrera Camino	公衆衛生省		
		ホンジュラス	Edward Anthony Buchanan	ｱﾄﾗﾝﾃｨﾀﾞ保健省		
		ジャマイカ	Tamara Kariene Thompson	西ｲﾝﾄﾞ諸島大学病院		
		モルドバ	Luminita Aurel Gutu	ﾆｺﾗﾃｽﾃﾐﾀﾇ医薬大学		
		モロッコ	Sanae Zine	保健省		
		ミャンマー	Win Phyu Phyu Myint	保健省ﾏﾝﾀﾞﾚｲ総合病院		
		ネパール	Uma Chitrakar	ﾄﾘﾌﾞﾊﾞﾝ大学教育病院		
		ペルー	Monica Mariella Pun Chinarro	保健省		

国際協力室

平成20年度外国人研修等受入について

21.3.3	～3.17	ミャンマー	Khin Saw Aye Aye Aye Win	Department of Medical Research, Myanmar	ハンセン病研究センター 病原微生物部	早期診断法の開発研究 （新興・再興感染症研究プログラム）
21.3.4	～3.18	タイ	PHETSUKSIRI Benjawan	National Institute of Health,Thailand	ハンセン病研究センター 病原微生物部	感染モデルシステムの構築とこれを用いた抗らい菌治療薬の開発システムの樹立並びに２ヶ国間共同研究の推進に関する打ち合わせ （新興・再興感染症研究プログラム）
21.3.4	～3.31	中国	Liu Lanjun	中国成都蓉生製薬会社	ウイルス第二部	中空粒子を用いたウイルス性肝炎の新しい検査・予防法の開発研究 (中国成都蓉生製薬会社) （新興・再興感染症研究プログラム）
21.3.10		中国	Thian Zhong Zhang Haiming Huang Licheng Wan Xue Wen	青海省公衆衛生局 青海地方疾病管理ｾﾝﾀｰ	感染症情報センター	WHOフェロー研修「インフルエンザパンデミックに係る事前対策、サーベイランス、早期警報指標」 (WPRO)
21.3.13	～3.28	フランス	Claire GONDEAU	National Institute of Medical Research,France	ウイルス第二部	初代培養肝細胞におけるC型肝炎ウイルス複製増殖に関する研究 （新興・再興感染症研究プログラム）
21.3.17		米国	David N. McMurray	Department of Microbial & Molecular Pathogenesis, College of Medicine, Texas A&M University	所長 細菌第二部 免疫部 ハンセン病研究センター	テキサスA&M大学教授来所、意見交換及び感染研セミナー「サル類をはじめとする実験動物における人獣共通感染症について」講演 (Texas A&M University)
21.3.17		韓国	Hwang, Hee Kyung Jang, Eun Jung Lee, Deog-Yong	Korea Centers for Disease Control and Prevention	感染症情報センター 細菌第一部 ウイルス第二部	韓国CDC研究者「食品由来感染症係る調査及びコントロール」研修 (韓国CDC)
21.3.17	～3.31	タイ	Atchareeya A-Nuegoonpipat	National Institute of Health,Thailand	ウイルス第一部	チクングニアウイルス及びデングウイルスに関する実験室検査法の技術交換 (National Institute of Health, Thailand) （新興・再興感染症研究プログラム）
21.3.19	～3.23	米国	Jennifer Gaudioso	Sandia National Laboratories,USA	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	バイオセーフティ、バイオセキュリティに関する研究打合せ及び感染研バイオセーフティセミナー「New Developments in Biosecurity Internationally」講演 (Sandia National Laboratories,USA)
21.3.23	～3.25	韓国	Cheon-Kwon Yoo Jin-Hong Kim	KCDC/KNIH Green Cross Engineering Maintenance/Korea Bio-safety Association	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室	バイオセーフティに関する研究打合せ及び感染研バイオセーフティセミナー「韓国における高リスク病原体の研究とバイオセーフティについて」講演 (KCDC/KNIH/Korea Bio-safety Association)
21.3.23	～3.27	モンゴル	Otgonbaatar Dashdavaavaa Tungalag Khurelsukh	National Center of Infectious Diseases with Natural Foci, Mongolia	獣医科学部 ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 動物管理室	モンゴル国立感染症センター副所長他来所、研究協力覚書締結等、研究協力打ち合わせ、感染研セミナー「モンゴル保健省、国立感染症センターの活動について」講演 (新興・再興感染症研究プログラム)
21.3.24	～3.31	タイ	Pattarachai Kiratisin	Mahidol University, Thailand	免疫部	臨床分離病原体を用いた共同研究に関する意見交換及び感染研セミナー講演「Microbiology Research at Siriraj Hospital」(Bangkok,Thailand)」 （新興・再興感染症研究プログラム）
21.3.26	～3.31	中国	TANG Qing	中国CDC	ウイルス第一部	狂犬病及び他の中枢神経感染症に対する新しい検査法の開発研究 （新興・再興感染症研究プログラム）
21.3.30		中国	Wu Guizhen Wei Qiang Li Chunyu Liang Mifang Xia Lianxu	中国CDC	ﾊﾞｲｵｾｰﾌﾃｨ管理室 感染病理部 動物管理室	中国CDC研究者来所、バイオセーフティに関する意見交換、施設見学等 （中国CDC）

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	平成20
アイルランド										1	1	
アメリカ合衆国								3	6	60	85	88
アラブ首長国連邦											1	
イギリス								2	10	17	24	16
イタリア									3	2	5	4
インド			2	1			3	4	2	4	15	8
インドネシア	2	1	1	1				3	12	10	8	17
ウガンダ		1										
ウクライナ										1		
エジプト	1	1	2	1		1	1				1	6
エチオピア		1				1	1				1	
エルサルバドル										1		
オランダ										4	2	3
オーストラリア								2		19	9	3
オーストリア										5	2	3
ガーナ	8	3	3		3	1	3					1
カナダ								1	2	19	10	11
カメルーン			1									
韓国								2	6	15	12	24
カンボジア	2	1	1	1	2	1	1			4	1	4
キプロス												1
キューバ										1		
ギリシャ										1	2	
コートジボワール			1									
コンゴ民主共和国												1
ザンビア									1			1
ジャマイカ										1		
シンガポール							1		3	11	7	8
スイス								30	19	30	27	14
スウェーデン								1		2	3	5
スペイン										1	1	7
スリランカ								1			2	2
スロヴェニア											1	
セネガル			1									
ソロモン諸島										2	2	2
タイ	2	5	7	8	10	10	8	10	5	18	23	16
台湾							1	4	4	17	11	16
タンザニア		1	1	1								
チェコ												1
中国	7	5	3	1		2	8	10	12	39	59	34
チリ												2
デンマーク										2	1	
ドイツ									2	12	12	9
ドミニカ共和国										1		
トルコ			1	3	2	1				1	1	9
ナイジェリア											1	1
ニュージーランド										3	2	4
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	1
東ティモール								2				
フィリピン	1	3	3	3	1		1	4	4	16	14	18
フィンランド										2	1	
ブラジル										2	1	2
フランス				1				3	3	16	11	12
ベトナム	2					2	2	8	7	26	26	39
ベルギー									2	2	3	3
ポルトガル										6		3
ポーランド										1	2	
マダガスカル												1
マルタ									2			
マレーシア		2	3	2				1	2	1	1	14
南アフリカ								2			2	
ミャンマー						1				5	4	4
メキシコ								1	1		6	5
モンゴル			1	2		2					1	2
ラオス		2	1								4	5
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	430

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。

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作業を行い、平成 20 年 6 月 1 日から施行した。また、病原体等曝露対応要領、病原体等の輸送・運搬に関する取扱要領および病原体等事故対応要領の改正を行った。特定病原体等の施設内管理区域間運搬要領を策定した。BSL2 実験室は各部長の指揮監督のもとに管理運営が行われているが、BSL2 実験室の運営規則を全面改定した。また、BSL2 実験室安全操作指針の見直し作業を行っている。

病原体等取扱者への教育訓練として、新規に取扱う者に対しては 2 ヶ月毎にバイオリスク管理講習会を実施した。二種の特定病原体取扱者を対象とした感染症法の解説および病原体管理に関する講習会を実施した。引き続き、新規の BSL3 実験室利用者へは利用者講習を実施した。

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。

ハンセン病研究センターに BSL３および ABSL３実験室を有する第2研究棟が完成し平成20年8月5日に引き渡しが行われた。村山庁舎に BSL3 および ABSL3 実験室を有する 9 号棟が完成し同じく平成 20 年 8 月 29 日に引き渡しが行われた。これら両施設の運用開始にむけ設備の調整および各種書類作成等の準備を行った。

研究業務としては、バイオリスク管理の包括的強化および必要な教材等の開発と実践の評価に関する研究、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、マウスノロウイルスの消毒剤感受性および環境抵抗性に関する研究、抗酸菌およびレジオネラに関する研究等を行った。

第 51 回米国バイオセーフティ学会総会、第 11 回欧州バイオセーフティ学会総会および第 8 回日本バイオセーフティ学会に参加し、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。

再任用職員として米山徹夫が 4 月 1 日に着任した。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の短期専門家として派遣されることとなり、6 月 16 日で退職した。富田康浩が平成 20 年 5 月 1 日に休職から復帰した。

ハンセン病研究センターの向井徹が19年6月1日より当室の併任となっており、BSL3 実験室の運用準備にあたった。

業　績

調査・研究

I.　バイオセーフティに関する研究

1. バイオリスクの低減によるバイオセーフティとバイオセキュリティの達成に関する研究

病原体等の取扱いに際して、施設や機器の設置が可能となっても、そのハードウエアを運用する人材が必要であり、バイオセーフティ・バイオセキュリティ領域の人材不足が世界的に大きな問題であることを踏まえ、厚生科学研究助成金 新型インフルエンザ等新興･再興感染症研究事業「バイオリスク管理の包括的強化および必要な教材等の開発と実践の評価に関する研究」（研究代表者杉山和良）として、特に、教材と教育プログラムの作成、実践、評価による人材育成を中心にバイオリスク管理の強化を図った。

(1) 国際的情勢に関する調査研究

病原体輸送、教育教材、国家認定研修、専門機関研修、特定病原体研修のプログラム等の国内・国際情報の収集等を行った。また、地方衛生研究所としての研修や、結核菌取扱いにおける特殊性を考慮した研修等について、実施運用と内容の検討などを行った。

［杉山和良、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)、森川茂(ウイルス 1)、倉田毅(富山衛生研)、御手洗聡（結核研)、鹿住祐子(結核研)］

(2) 検体輸送の正確な知識普及と安全確保に関する研究

地方衛生研ブロック（東海・北陸と近畿）においてワークショップを開催し、病原体輸送に関わる Q&A の作成等を行った。

［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)、倉田毅(富山衛生研)、杉山和良、山崎利雄、伊木繁雄、嶋崎典子］

(3) 結核菌の輸送と取扱いに関する現状の調査

結核菌の取扱いと輸送、保管等に関する研修会を反復して実施し、理解度について調査した。

［鹿住祐子(結核研)、御手洗聡(結核研)、重松美加(感染症情報)、杉山和良］

(4) 病原体輸送に関する問題点とその対策に関する研究

病原体輸送のシミュレーション、結核菌輸送を実践し、輸送に際しての問題解決に何が必要なのかを調査研究をした。前述の研修に際しての質問とあわせて、病原体輸送全般に関する Q&A をまとめた。

［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)、梅田（結核感染症課)、鹿住祐子(結核研)、御手洗聡(結核研) 、杉山和良］

(5) バイオリスク管理の教育に関する研究

1) 保健所・病院・衛生検査所（検査センター）を対象とし、結核研における定例研修会、衛生検査所定例集会、学術集会におけるワークショップ等の機会を利用し講習会を実施し、感染症法等の規定に関しての理解を高めた。

［鹿住祐子(結核研)、御手洗聡(結核研)］

2) 国立感染症研究所で、継続して実施している既存研修を材料として、新規入所者対象のバイオリスク管理講習会の評価書を作成し、受講者に対し単元別に講習会内容の評価を求め、その結果を基に講義の方法や講習会の進め方について評価を行った。評価結果の反映による満足度改善が受講者に見られ、評価項目の検討により、質問法での評価手法でも一定の改善が見込めることが示唆された。

他の機関における講習会の調査により、受講者同士の討論や実習が満足度の向上に有用であることが示された。

［伊木繁雄、山崎利雄、嶋崎典子、富田康浩、高木弘隆、篠原克明、杉山和良］

3) 英国版バイオセーフティ担当者研修の試行と検討

海外のプログラムを参考に国際基準に従って国内独自の研修プログラムの検討を行った。英国版のバイオリスク管理者認定用の講習会を開催し、受講者らの協力を得て本邦に適したプログラム構成と提供方法の検討を行った。

［重松美加(感染症情報)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)］

(6) バイオリスク管理教育のための教材に関する研究

1) スケレトン型バイオロジカルセーフティキャビネットの作成

国内の安全キャビネット規格を満たす、スケレトン型の安全キャビネットを、気流の動き、作業時の乱流の発生等を種々のキャビネット内作業を通じて、確認と体験ができる教材として、設計から開発した。

［重松美加(感染症情報)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)、伊藤健一郎（感染症情報)、佐多徹太郎（感染病理)、杉山和良］

2) バイオロジカルセーフティキャビネットの研修用模型

前出の教育用のスケルトンタイプのバイオロジカルセーフティキャビネットの、持ち運び可能な縮尺模型（通常タイプ）1/20 模型を作成し使用した。

［重松美加(感染症情報)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)、伊藤健一郎(感染症情報)、佐多徹太郎(感染病理)］

(7) バイオリスク管理の新しい研修､訓練方法に関する研究

大学等の既存の WEB を利用した e- ラーニングシステムの、バイオリスク管理教育への活用方法を検討し、オンデマンド教育の達成に対しての利点や問題点について情報収集した。WEB 上に提供できるファイル形式や、コンテンツ､セキュリティなどについて調査検討を行った。

［重松美加(感染症情報)、藤本秀士(九州大)、中西三季、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)］

(8) バイオリスク評価ツールに関する研究

バイオセキュリティリスク評価のためのツールの実用化にあたり、個別の研究や施設のバイオリスクに関する情報セキュリティを保全することが課題となった。CD-R 上のプログラムの再利用と持ち運びを可能にすることにより、汎用性のある評価指針を提供することについて検討し、一定の可能性を見出した。

［重松美加(感染症情報)､Jennifer Gaudioso（Sandia Natinal Laboratories)、Susan Caskey（同)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)］

2. BSL3 実験室空調システムの検証

BSL3 実験室の空調制御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、大久保孝雄］

3. バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する研究

(1) バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する調査

バイオハザード対策専用防護服の防護性能などについて、国内外の情報収集（規格、文献、関連学会、施設訪問など）を継続している。

［篠原克明、小野澤哲夫］

(2) バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する研究

バイオハザード対策専用防護服の浮遊粒子浸透防護性能およ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、試験装置や試験方法などを開発、検証している。

［篠原克明、嶋崎典子、小野澤哲夫、熊谷慎介、戸谷千夏、磯田実、森本美智子］

(3) 衣服用抗菌防臭素材のバイオハザード対策専用防護服への適用に関する研究

近年注目されている衣服用抗菌防臭素材のバイオハザード対策用防護服への有用性を検証するために、全身型防護服の内部に衣服用抗菌防臭素材を適用し、着用時の防臭効果について評価した。その結果、検知管や GC-MS で臭気成分を定量したところ、金属イオンを付加した抗菌防臭素材によって防臭効果があることがわかった。バイオハザード対策用専用防護服には、防護性能と同時に快適性も要求されるため、今後、防護服への試作が期待される。

［篠原克明、嶋崎典子、森本美智子］

(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に、昨年仕様を決定して試作した負荷圧力変化型の浮遊粒子浸透

防護性試験装置試作機と飛沫浸透防護性試験装置試作機の性能検証を行った。その結果、浮遊粒子浸透防護性試験装置試作機については、圧力変化駆動部の動作性能確認ができたが、圧力制御に関わる浮遊粒子供給部の更なる改良が必要であることがわかった。飛沫浸透防護性試験装置試作機については、各防護服素材の防護性能を半定量できるように飛沫の浸透度を計量するように改良して試験したところ、親水素材と撥水加工の違いや不織布と織布の違いなど、素材毎に防護性能に差の出ることがわかった。防護性能を段階的に判定できる可能性が示唆されたので、今後、防護性能の評価方法について更なる検討を進める。

［嶋崎典子、小野澤哲夫、熊谷慎介、篠原克明］

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の構築のために、関連機器、装置の開発、試作と、性能の検証を行った。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行い、有用性を検証した。

［篠原克明、熊谷慎介、戸谷千夏、磯田実］

5. マウスノロウイルスの消毒剤感受性および環境抵抗性に関する研究

マウスノロウイルス(MNoV)の国内分離株を用いて、温度抵抗性および NaClO に対する感受性をヒトノロウイルスの代替として使用してきたネコカリシウイルス(FCV)と比較検討した。水中(25℃)での安定性は両ウイルスともに 72 時間までともに安定であったが、60℃加熱では MNoV が若干安定であった。

波長 254nm の紫外線、および NaClO に対する感受性については MNoV の方が低かった。ただしエタノールについては全く異なる感受性を示しており、これについては現在継続して検討中である。

［高木弘隆、杉山和良、岡智一郎(ウイルス第二部)、片山和彦(ウイルス第二部)］

6. 酸化チタン(TiO)展着フィルターと他のろ過フィルターによる微粒子除去に関する研究

TiO 展着フィルターによる微粒子除去効果について、他の 2 種類のフィルター(0.3μm粒子除去 99.9%以上のもの)と比較した。特注グローブボックス(内部容積約 40L)に空気を取り込み、φ80mm の各フィルターにより 2L/min で吸引し、ボックス内部の微粒子をパーティクルカウンターにて分別測定した。その結果 TiO 展着フィルターは他の除粒子フィルターとほぼ同様の性能を有することが示された。引き続き人工的に発生させたエアロゾルに対する除去効果についても検討している。

［高木弘隆、杉山和良］

7. ATP 測定による清浄度チェックシステムの確立

生きている微生物の数は、微生物の持っている Adenosine triphosphate（ATP）量を測定することにより知ることができることに着目し、ATP 測定による清浄度チェックシステムを作った。実験台、床、安全キャビネット内、手指等を測定したデーターを基に、消毒、ふき取り操作、手洗などについての実数をあげて講習会や実習時に説明する事が可能となった。

［山崎利雄、伊木繁雄、嶋崎典子、富田康雄、杉山和良］

8. 多施設間を結ぶトレーサビリティーシステムの研究開発

細胞および再生組織の搬出入を伴う多施設臨床研究におけるトレーサビリティーシステムを開発し、非目的細胞のコンタミネーション、培養容器の取り違え、作業譲渡の過誤、放置や紛失、等々といった人為的なミスの防止、状態変化（温度、湿度等）や材料管理、作業プロトコル管理、製造履歴や薬剤使用履歴等の記録、製造指図書等 GMP 基準に係わる書類出力、検体チェック等の自動化、を実証する。細胞および再生組織の搬出入を伴う多施設臨床研究における有効性・安全性の確立を目的とした 2 拠点以上の管理を可能とする細胞トレーサビリティーシステムを開発中である。

［原井基博、杉山和良］

II. 抗酸菌に関する研究

1. 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

二次抗結核薬である Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)に対する ATP 測定による薬剤感受性試験法（ATP 法）と参照法との一致率が、他の薬剤に比べ TH 81.7%、PAS 86.2%と低かったので、ATP 法で耐性、参照法感性と判定された 10 菌株を用いて、ATP 法使用濃度を、TH は 5～15μg/ml、PAS は 4～12μg/ml で検討したがいずれも耐性と判定された。これらの株の最低阻止濃度（MIC）を測定したところ TH では、64～2μg/ml、PAS では 64～0.13μg/ml と幅があった。TH と PAS は、静菌的薬剤のため、ATP 法の 5 日判定では、対照との差が出難いので更なる検討が必要である。

［山崎利雄、山本三郎（日本 BCG 研究所）、岡沢豊（極東製薬工業）］

2. ストレプトマイシン依存性結核菌（18b 株）の確保

ストレプトマイシン（SM）依存性結核菌は、1955 年に橋本らにより確立された株であるが、凍結保存していたため、生死と SM 依存性を再確認するために、SM100,200μg/ml 入り Middlebrook 7H9 液体培地と Middlebrook 7H10 寒天培地に接種した。3 週間後に SM の入っていない培地には増殖が見られなかったが、SM100,200μg/ml 培地には旺盛な増殖が見られた。抗結核剤である SM 存在下でのみ増殖できる特殊な菌である事を確認し、18b 株を用いた今後の研究のための供試菌株の確保ができた。

［山崎利雄、大原直也（免疫部）］

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

昨年度に引き続き、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ために、固定する基準株の選定、追加したレジオネラ属菌種の基準株間の相対類似度の測定・検査精度の検討を行った。*L.busanensis*、*L. greisilensis*、*L. londiniensis*、*L. nautarum* 、*L. quinlivanii* の 5 菌種の DDH 法による同定が可能になった。この方法により、日本の環境水から分離されたが、これまで同定できなかったレジオネラ属菌株の菌種が同定された。

［山崎利雄、前川純子、倉文明（細菌第 1 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

(1) 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対して、バイオセーフティマネジメントの教育と NIHE におけるバイオセーフティ管理規程などの作成の指導を継続している。無償協力によって完成した BSL3 実験室の性能検証と運転計画、メンテナンス計画や技術指導を行った。

［篠原克明、高木弘隆、杉山和良］

(2) NIHE から、バイオセーフティ設備維持管理担当者 2 名を受入れ、バイオセーフティ管理手法、空調設備維持方法、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。同じく NIHE から 2 名の研究員の受け入れがありバイオセーフティ研修を担当した。

［篠原克明、高木弘隆、杉山和良］

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引き続き助言指導した。

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。また、外国人を対象としたバイオリスク管理講習会は随時行い、17 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 20 年度　新規取扱者対象講習会

実施月日	新規受講者数
4 月 8 日	54
6 月 4 日	46
8 月 5 日	32
10 月 1 日	27
12 月 2 日	23
2 月 4 日	21
計	203

(2) 平成 20 年度　外国人対象講習会

実施日	受講者数
5 月 23 日	1
6 月 30 日	1
9 月 4 日	1
9 月 24 日	1
9 月 30 日	2
10 月 6 日	2
10 月 15 日	7
10 月 20 日	2
10 月 28 日	2
10 月 30 日	1
11 月 12 日	2
12 月 18 日	2
1 月 23 日	2
1 月 27 日	1
2 月 16 日	2
3 月 2 日	1
3 月 16 日	1
計	31

2. バイオリスク管理講習会資料の作成

平成 21 年度から新たに講習会の講義項目に追加される「病原体等安全取り扱いの基本」の講習のために、病原体取り扱い基本操作、個人防御具、菌液漏出・飛散時の対処法、手洗等の写真撮影を行い、講義資料を作成した。生物学用安全キャビネット、消毒・不活化法、病原体輸送等の資料の見直しを行った。

［山崎利雄、伊木繁雄、嶋崎典子、高木弘隆、富田康浩、篠原克明、杉山和良］

3. 二種病原体取扱者講習会

感染症法の解説および病原体管理に関する講習会を実施した。5 月 20 日戸山庁舎にて 27 名、5 月 23 日村山庁舎にて 21 名の参加があった。

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平成 19 年から 3 年間の予定で、バイオセーフティ管理室が企画実施した。平成 20 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、生物学用安全キャビネットの正しい使用法および病原体輸送等についての講義・実習を行った。インドネシア、ラオス、モンゴル、ミャンマーおよびタイからの 5 名が参加した。今後、引き続き更なる内容の充実が必要である。

安全管理、教育および情報提供等に関する業務

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、山崎および藤井、浅沼非常勤職員が担当した。村山庁舎においては篠原、高木、嶋崎および山口、野川、佐藤非常勤職員が担当した。伊木は両庁舎の管理・運営を行った。ハンセン病研究センターにおいては、向井および原田非常勤職員が運営開始準備を担当した。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指定実験室利用者に対する講習等の教育指導等を行った。

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 20 年度　BSL3 実験室登録者数

庁舎名	登録者数
戸山庁舎	89
村山庁舎	61
計	150

2. 平成 20 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	4	9
5 月	3	7	3	3
6 月	2	4	2	3
7 月	2	2	1	2
8 月	1	3	0	9
9 月	1	1	3	9
10 月	2	6	0	0
11 月	2	4	1	2
12 月	0	0	1	2
1 月	0	0	1	7
2 月	0	0	1	1
3 月	3	7	0	0
計	18	36	17	47

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。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。ポリオ国際研修では生物学用安全キャビネットの正しい使用方法についての実習指導を行った。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。

TBS 対象の特別管理区域取講習会戸山および村山（5 月）、ハンセン病研究センター警備員講習会（5 月）、新規採用者研修会（5 月）、地方衛生研究所職員（1 名）研修、消防庁国民保護室視察（12 月）等で、バイオセーフティ関係講義を行なった。

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。

厚生省、人事院、財務省、消防庁、大学生、高校生、外国人など多数の BSL3 施設見学者の受け入れと、これら見学者に対して施設説明およびバイオセーフティについての解説も多数行った。

日本バイオセーフティ学会運営協力と、2008 年 12 月に大阪で行われた総会・学術集会への参加を通じ、国内のバイオセーフティの普及を図り、最新の国際情報の共有を図った。

英国、米国および韓国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.　バイオセーフティ管理室ホームページの整備

感染症法の改正により必要となった書類等を定型化し、WEB 経由の申請システムへの将来的移行を考慮したイントラネットのバイオセーフティ管理室ホームページのデザイン改良の検討を着手した。特に、使用頻度や重要性と、内部ユーザの利便性、情報の迅速共有の必要性などに考慮した検討を行った。

［杉山和良、中西三季、伊木繁雄、山崎利雄、
高木弘隆、篠原克明、佐多徹太郎、安藤秀二、重松美加、
浅沼みゆき］

IV.　病原体等輸送品チェック業務

各研究部等から発送される病原体等の輸送品が、適切に梱包されているかのチェックを行い、不適切な場合は、適切になるよう指導した。平成 19 年 8 月の輸送システム開始当初に比べ、適切な梱包がされるようになってきている。「赤、黄、青」ラベル輸送のチェックシートの見直しや、システムの改良についても検討している。

［伊木繁雄、富田康雄、嶋崎典子、野川加奈、高木弘隆、

篠原克明、山崎利雄、浅沼みゆき、杉山和良］

V.　新規 BSL3 実験室の施設、設備および運営

1.　村山庁舎 9 号棟 BSL3 実験室の施設、設備および運営に関する業務

村山庁舎 9 号棟 BSL3 実験室の施設、設備に関する検証および助言ならびに BSL3 実験室の運営に関する検証および助言を行った。

［篠原克明］

2.　ハンセン病研究センター第 2 研究棟の施設、設備および運営に関する業務

ハンセン病研究センター第 2 研究棟の BSL3 実験室の調整を行った。気密性を調べるために、発煙試験により肉眼的に気密性を確認し､補修指導等を行なった｡また、実験室内のホルマリン燻蒸試験を行い、補修指導、確認等を行った。今年度は 5 回行い、ハンセン病研究センター第 2 研究棟が、BSL3 実験室として稼働開始できることを確認した。

［伊木繁雄、山崎利雄、高木弘隆、篠原克明、向井徹、原田幸衣、杉山和良］

発　表　業　績　一　覧

I. 誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Murakami T, Eda Y, Nakasone T, Ami Y, Someya K, Yoshino N, Kaizu M, Izumi Y, Matsui H, Shinohara K, Yamamoto N, Honda M. : Postinfection passive transfer of KD-247 protects against simian/human immunodeficiency virus-induced CD4+ T-cell loss in macaque lymphoid tissue. AIDS, 2009 Jul 31;23(12):1485-1494

2) Shimasaki, N., Kiyohara, T., Totsuka, A., Nojima, K., Okada, Y., Yamaguchi, K., Kajioka, J., Wakita, T., Yoneyama, T.: Inactivation of hepatitis A virus by heat and high hydrostatic pressure: variation among laboratory strains. Vox Sang. 96:14-19(2009).

3) Yu-ya Mitsuki, Kazuo Ohnishi, Hirotaka Takagi, Masamichi Oshima, Takuya Yamamoto, Fuminori Mizukoshi, Kazutaka Terahara, Kazuo Kobayashi, Naoki Yamamoto, Shoji Yamaoka, Yasuko Tsunetsugu-Yokota A single amino acid substitution in the S1 and S2 Spike Protein domains determines the neutralization escape phenotype of SARS-CoV, Microbes and Infection 10 (2008) 908-915

2. 和文発表

1) 杉山和良：ズーノーシスハンドブック　岸本寿男、山田章雄監修　バイオリスク管理（マネジメント）20-22, 2009

2) 杉山和良:食品微生物学用語辞典　バイオセーフティ、バイオハザード他　2009

3) 杉山和良:注意すべきウイルス感染症 アウト･ブレークにどう対応するのか　診断と治療 Vol.97, No.3, 165-171,2009

4) 杉山和良:バイオセーフティからバイオセキュリティ　感染・炎症・免疫　Vol.38,No.4, 345-357,2008

5) 杉山和良:バイオセーフティの事典　小松俊彦編集分担;弟 4 章　バイオセーフティの組織体制と活動、第 7 章　病原体の取扱い　みみずく舎／医学評論社,

2008

6) 篠原克明：バイオセーフティの実際． セイフティ・ダイジェスト．（Safety & Health Digest）Vol.55. No.4. 38-42. 2009. 4 月． 社団法人 日本保安用品協会（JSAA）

7) 烏谷竜哉，黒木俊郎，大谷勝実，山口誠一，佐々木美江，齊藤志保子，藤田雅弘，杉山寛治，中嶋洋，村上光一，田栗利紹，藏元強，倉文明，八木田健司，泉山信司，前川純子，山崎利雄，縣邦雄，井上博雄、掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染とリスク因子、感染症学会誌 83:36-44、2009

8) 地主勝、伊木繁雄、長野秀樹、奥井登代、岡野素彦：2007 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 58：69-71，2008

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) 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.

2) 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.

3) Shinohara, K., Kurata, T., Takada, A., Kogure, K., Ogino, S., Takemura, M., Kajiwara T., Kunugi, M. Reinforcement of Bio-safety and Bio-security by automatic log system. Canadian Biosafety Training Partnerships, Canadian Biosafety Symposium 2008, June 1-3, 2008, Saskatoon, Canada.

4) Shinohara, K.,Nagasawa, H., Satoh, K., Kumagai, S., Shimasaki, N. The pressure change in protective clothing. Canadian Biosafety Training Partnerships, Canadian Biosafety Symposium 2008, June 1-3, 2008, Saskatoon, Canada.

5) Shinohara, K.,Takemura, M., Kurata, T., Takada, A., Kogure, K. Development of an automated log system in both Biosafety and Biosecurity. American Biological Safety Association, 51st Annual Biological safety Conference, October 19-22, 2008. Reno, USA.

6) Shinohara, K., Nagasawa, H., Kumagai, S., Shimasaki, N. Changes of micro-climate within protective clothing according to the worker’s movement. American Biological Safety Association, 51st Annual Biological safety Conference, October 19-22, 2008. Reno, USA.

7) Shimasaki, N., Ozawa, T., Okaue, A., Morohashi, J., Okuda, S., Shinohara, K.: Evaluation of Antimicrobial efficancies of antibacterial fabrics as materials for protective clothing against biohazard. American Biological Safety Association, 51st Annual Biological Safety Conference, October, 2008, Reno, USA.

8) Shinohara, K., Kurata, T., Satoh, K., Takada, A., Hayakawa, N., Komatsu, R., Kajiwara, T., Kogure, K. Automated logging system in storage of infectious materials. European Biological Safety Association, 12th Annual Conference, June 16-17, 2009, Stockholm-Solna, Sweden.

9) Shigematsu M., Caskey S., Gaudioso JA, Ando S : Biosecurity self-assessment tool trial run in Japan. 3rd Asia-Pacific Biosafety Association Conference. Bangkok, Thailand, 2007. 3.

10) 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, 2007. 3.

11) Shigematsu M., Ando S., Sata T., Sugiyama K. Survey on Pathogen Transport among Public Health Laboratories in Japan. 13th International Congress on Infectious Diseases. Kuala Lumpur, Malaysia, 2008. 6.

12) Gaudioso J.M., Shigematsu M. BioRAM 2.0: a Tool for Implementing a Biosecurity Risk Assessment Methodology. ABSA 51st Annual Biological Safety Conference, Reno, USA, 2008.10.

2. 国内学会

1) 杉山和良 : 改正感染症法とバイオリスク（バイオセーフティ・バイオセキュリティ）管理について 第 20 回日本臨床微生物学会総会、2009 年 1 月、仙台
2) 杉山和良 : WHO WPRO のバイオセーフティへの取り組み 第 8 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2008 年 12 月、大阪
3) 伊木繁雄、髙木弘隆、山田靖子、神田忠仁、篠原克明、山﨑利雄、嶋崎典子、富田康浩、佐多徹太郎、杉山和良：国立感染症研究所におけるバイオセーフティ講習、第 8 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2008 年 12 月、大阪
4) 嶋崎典子、小澤智子、岡上晃、諸橋淳二、奥田舜治、篠原克明：バイオハザード対策用防護服素材における抗菌性能評価方法の研究: 日本防菌防黴学会第 35 回年次大会, 浜松, 2008 年 9 月。
5) 篠原克明 : バイオセーフティの実践。2008 年度 呼吸保護に関する研究発表会、特別講演。国際呼吸保護学会 ISRP アジア支部、日本呼吸用保護具工業会、2008 年 12 月 5 日、東京。
6) 篠原克明 : JBSA バイオセーフティガイドラインについて、今後の計画。第 8 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2008 年 12 月 11、12 日、大阪
7) 篠原克明 : バイオセーフティの実際。第 6 回日本防護服研究会学術総会、2009 年、2 月、東京。
8) 近藤誠、伊藤芳幸、磯田憲一、山中恵一、黒川一郎、水谷仁、山崎利雄、クラリスロマイシンが奏功した非定型抗酸菌症の一例、第 107 回日本皮膚科学会総会、2008、4 月、京都
9) 山崎利雄、山本三郎、結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法 二次抗結核薬についての検討、第 83 回日本結核病学会総会、2008、4 月、東京
10) 山崎利雄、山本三郎、ATP 法による二次抗結核薬を用いた迅速薬剤感受性試験法の検討、第 78 回実験結核研究会、2008、4 月、東京
11) 山崎利雄、生物発光法を用いた結核菌の二次抗結核薬にたいする迅速薬剤感受性試験法の検討、第 55 回日本臨床検査医学会総会、2008、11 月、名古屋
12) 重松美加, 安藤秀二 : 病原体取扱に際してのバイオセーフティとその国際的な潮流. 第 3 回日本臨床検査学教育学会学術大会、2008 年 8 月、福岡
13) 高木弘隆、遠矢幸伸、片山和彦、岡智一郎、武田直和、杉山和良 国内で分離されたマウスノロウイルスの安定性および消毒剤に対する感受性の検討 第 56 回日本ウイルス学会学術総会 2008 年 10 月、岡山

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２０年度の放射性同位元素の保管、使用、廃棄に関しては、放射線業務従事者及び各部等の放射能委員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。施設設備の点検も定期的に行い、フィルター類の交換を行い、また稼働も正常に保たれていることを確認した。

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。武田直和は、平成２１年３月３１日退職し、放射線取扱主任者の任を解かれた。また、長年の放射線取扱主任者としての功績が認められ、平成２０年度放射線安全管理功労表彰を受賞した。

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４回、村山庁舎で１回とハンセン病研究センターで２回行った。また英語で行う外国人向け新規者講習会を、２回行った。新規者講習会受講者は日本語７１名、外国語９名、継続者講習会は３６３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、高田、藤本、作道、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。室員は、土田耕三、高田直子、藤本浩文、作道隆、菅原朋子（臨時）、横山健（臨時）、武田直和（併任）である。

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、また米国ユタ大学、アリゾナ大学、琉球大学、日本大学、信州大学、北海道大学、九州大学、東京農工大学、東京大学、東京薬科大学、農業生物資源研究所、国立医薬品食品衛生研究所、放射線医学総合研究所、理化学研究所、日本原子力研究開発機構、富士化学工業株式会社と協力して、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. 転移因子マリナー様配列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
Ⅳ. 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	723520	38850	83000
^{14}C	126662	14985	19026
^{32}P	1389135	1591000	1707174
^{33}P	0	0	0
^{35}S	798250	259000	909990
^{51}Cr	0	0	0
^{125}I	74296	296	396

保管量下限数量比合計 12818

２．村山

（単位　kBq）

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	189972	37000	65250
^{14}C	7997	3700	1800
^{32}P	32060	92500	102530
^{33}P	0	0	0
^{35}S	84790	703000	229500
^{51}Cr	0	0	0
^{125}I	0	0	0

保管量下限数量比合計 227.0

Ⅱ．従事者登録数

１．戸山　　３１９名
（独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山　　１０６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20 年 4月 8日	31	新規
5月 13日	138	継続
5月 14日	117	継続
5月 15日	13	継続(ハンセン)
5月 19日	4	継続(ハンセン)
5月 20日	73	継続(村山)
5月 29日	13	継続
6月 3日	7	新規
7月 24日	5	継続
8月 4日	11	新規
10月 3日	5	新規
12月 3日	10	新規
平成21 年 2月 3日	7	新規
合計	434	

２．外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成20年10月 16日	8	新規
平成21年 3月 4日	1	新規
合計	9	

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。平成２０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

放射線が生物へ与える影響のうち、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強力な突然変異原となり、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、放射線照射されたDNAがどの程度の頻度で損傷を受けるのか、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

昨年度に引き続き、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。本年度は、放射線によるDNA損傷の特徴と考えられているクラスターDNA損傷の検出に本手法が応用可能かを検証した。まず、40pbの塩基配列の中央に酸化損傷塩基である8-oxoGを挿入した擬似クラスター損傷配列を作成してプラスミドに挿入し、挿入配列の外側のプライマーを用いてPCRを行ったところ、8-oxoGでは損傷箇所でPCR反応が停止しないことが判明した。現在、損傷の種類をAPサイトに変更して同様の検証を行っている。

［前川(琉球大)，斎藤(原子力機構)，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。昨年度に引き続き、計算化学的手法を用いてKuタンパク質とDNA末端間の結合・解離のプロセスに関与するアミノ酸の推定をおこなった。Kuタンパク質のリング内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、Ku-DNA複合体において、DNA分子に近接しているKu70サブユニット中の3箇所のリジン残基(K317，K331，K338)に注目し、アミノ酸置換モデルを作成した。実験で検証可能なシミュレーションを行うために、リジン残基と置換するアミノ酸はグルタミン(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)とし、アミノ酸置換をおこなったKuタンパク質にDNA分子を加え、各々のモデルに対してシミュレーションを実行後、DNA-Kuタンパク質間の結合エネルギーを推定した。その結果、3カ所のリジン残基の内、K338をグルタミンに置換するとKuとDNAの結合力が減少することが判明し、既報の実験結果と一致した。したがって、K338のアセチル化されるとDNAとの結合力が弱まることが示唆された。同時に、K317をアルギニン置換するとDNAとの結合力が上昇することも予想された。

［藤本，小池(放医研)，斎藤(原子機)，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

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Yファミリーポリメラーゼの一つであるヒト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。計算化学的手法を用いて解析した結果、他のYファミリーポリメラーゼには存在しないヒトPolκタンパク質に特有のN末端ドメインが活性中心の形状に干渉し、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Y112の側鎖をプライマー末端の塩基に近づけることで、本来対合しないはずの塩基対を保持している可能性が示唆された。

［佐々(東薬大)，能美(国衛研)，藤本，前川(琉球大)，高田，作道，土田］

Ⅱ. 転移因子マリナー様配列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1つと考えられている。MLEsのサブファミリーの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、昨年度、アジアに広く分布するカイコの近縁野生種であるクワコの系統解析をおこなった。得られた結果を検証する為に、本年度は、クワコrDNA領域中に存在するカイコには無い制限酵素部位の有無を指標に系統解析をおこなった。その結果、中国・韓国のクワコはすべて制限酵素部位を持たないカイコ型であり、MLEsを用いた系統解析の結果と一致していた。一方、日本のクワコには制限酵素部位を持つ日本クワコ型のホモ、カイコ型のホモ、及び両者がヘテロである個体が検出された。このことは日本のクワコにカイコの染色体が侵入したことを示している。

[川西(琉球大), 中島(琉球大), 伴野(九州大), 藤本, 前川(琉球大), 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（原子機）、白井（信州大）、木口（信州大）、高田、藤本、土田］

IV. 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。CBPはカロテノイド輸送を担う細胞内蛋白質であり、またヒトの黄斑にも抗CBP抗体で反応するタンパク質が存在することが確認された。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も検討した。

［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（日本大）、中垣（信州大）、片岡（東京大）、嶋田（東京大）、伴野（九州大）、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、中島（信州大）、作道、高田、藤本、岩野（日本大）、中垣（信州大）、Rolf Ziegler(アリゾナ大), 片桐（北大）土田］

3. apoLTP遺伝子の解析

脂質組成は組織によって異なる。脂質組成の違いは病原体の標的組織を決定する要因となっている可能性がある。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の一部を同定した。その遺伝子の全長決定を進めている。

［横山、藤本、作道、高田、土田、濱野（農工大）］

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（九州大）、土田］

5. スカベンジャー受容体クラスBの機能解析

スカベンジャー受容体クラスB（SR-B）は、体液リポタンパク質の受容体として同定された膜貫通タンパク質である。SR-Bとその相同遺伝子CD36は、肝炎ウイルスHCVや黄色ブドウ球菌、マイコバクテリウム属細菌、マラリア原虫、エンテロウイルスの感染成立に関与することが報告されている。SR-Bはウイルス外皮や細菌細胞膜の脂質を認識していると推測されるが、感染成立を促すSR-Bの分

子作用機序の詳細はほとんど明らかではない。

カイコにおけるSR-Bの相同遺伝子Cameo2を同定し、Cameo2が黄繭遺伝子(*C*)という、脂溶性カロテノイド色素の絹糸産生細胞への取り込みを担い、繭を黄色にする遺伝子であることを見出した。約2000個体のBF1個体を用いて絞り込まれた*C*遺伝子の座位する375 kbの範囲に*Cameo2*は位置していた。Cameo2の発現は白繭を作る*C*変異体の絹糸産生組織において強く抑制されていた。*C*変異体の絹糸産生組織にCameo2をトランスジェニックの手法で強制発現したところ、カロテノイドの取り込みと繭の着色は回復した。

*C*遺伝子は体液中のカロテノイドの中でもルテインの取り込みに選択的に関与し、また、細胞内カロテノイド結合タンパク質CBPの発現を条件として機能することが分かっていた。このことから、Cameo2を介して体液からCBPへルテインが選択的に運ばれていると考えられる。カイコにおいてはCBPの変異体も存在することから、カイコの絹糸産生組織は、選択的な脂質輸送機構におけるリポタンパク質受容体と細胞内脂質結合分子の関係を解析する上での遺伝学的なモデルとなると考えられる。また、Cameo2のルテインへの選択性を生じさせている分子機構を解明することで、SR-Bが特定の病原体をどのように認識し、感染成立を促すかについて、知見を与え得ると考えられる。

［作道、高田、藤本、土田、飯塚（生物研）、小林（生物研）、瀬筒（生物研）、田村（生物研）、生川（生物研）、桑崎（生物研）、門野（生物研）、三田（生物研）、山本（生物研）、伴野（九大）、片岡（東大）、北村（富士化学工業）］

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

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1.　欧文発表

1) Sakudoh T, Tsuchida K. Transport of carotenoids by a carotenoid-binding protein in the silkworm. In: Carotenoids: Physical, Chemical, and Biological Functions and Properties. CRC Press, in press.

2) Kawanishi, Y., Banno, Y., Fujimoto, H., Nho, S.K., Tu, Z., Mita, K., Tsuchida, K., Takada, N., Maekawa, H., and Nakajima, Y., "Method for rapid distinction of *Bombyx mandarina* (Japan) from *B. mandarina* (China) based on rDNA sequence differences.", 2008, *J. Insect Biotech. Seric.*, **77**, 79-85.

2.　和文発表

1) 土田耕三：カロテノイド結合タンパク質：カロテノイドの細胞内搬送にかかわる分子、蚕糸・昆虫バイオテック、77, 125-129, 2008.

2) 作道隆, 土田耕三. 繭の色はどのようにして彩られるのか. 生化学, 81, 27-31, 2009

3) 武田直和 : アイソトープ施設と私、Isotope News, 660, 8, 2009.

Ⅱ．学　会　発　表

1.　国際学会

1) Fujimoto, H., Higuchi, M., Pinak, M., Bunta, J.K. Nemoto, T., Sakudoh, T., Takada, N., Maekawa, H., Saito, K., and Tsuchida, K., "Structural analysis of the interaction between the Ku protein and DNA", 10th International Workshop on Radiation Damage to DNA, Urabandai, Japan, June, 2008.

2) Sassa, A., Niimi, N., Katafuchi, A., Grúz, P., Fujimoto, H., and Nohmi, T., "The steric gate tyrosine 112 is crucial to the efficient mismatched primer extension by human DNA polymerase κ", 10th International Workshop on Radiation Damage to DNA, Urabandai, Japan, June, 2008.

3) Niimi, N., Sassa, A., Katafuchi, A., Grúz, P., Fujimoto, H., Ohta, T., Nohmi, T., "The steric gate tyrosine 112 is crucial to the efficient mismatched-primer extension by human DNA polymerase κ", 3R (Replication, Recombination, Repair) 2008 Symposium, Shizuoka, Japan, Oct., 2008.

4) Fujimoto, H., Higuchi, M., Pinak, M., Bunta, J.K. Nemoto, T., Sakudoh, T., Takada, N., Maekawa, H., Saito, K., and Tsuchida, K., "Structural analysis of the interaction between the Ku protein and DNA", New Nuclear Research Symposium -Biological Responses to Low Dose Radiation, Kitakyushu, Japan, Nov., 2008.

5) Sakudoh T, Nakashima T, Fujimoto H, Takada N, Tsuchida K. Gene structure and expression of the carotenoid-binding protein responsible for cellular carotenoid transport in lepidopteran insects. The 15th international symposium on carotenoids, Okinawa, Japan, June, 2008

6) Sakudoh T, Iizuka T, Narukawa J, Sezutsu H, Kuwazaki S, Banno Y, Takada N, Fujimoto H, Kadono-Okuda K, Mita K, Tamura T, Yamamoto K, Tsuchida K. Positional cloning of the Yellow cocoon (C) gene responsible for membrane transport of carotenoids in the silkworm. The 3rd Insect Genomes Research Meeting, Kobe, Japan, March, 2009

2. 国内学会等

1) 藤本 浩文,「計算化学的手法を用いたKuタンパク質による DNA2 本鎖切断末端認識機構の解析」, 変異機構研究会・第 21 回夏の学校, 愛知県小牧市, 6 月, 2008 年.
2) 藤本浩文, 傅舟一, 泰地真弘人, 作道隆, 高田直子, 土田耕三, 大西和夫,「分子動力学法を用いたプレB細胞レセプターnon-Ig 領域の相互作用の解析」, BMB2008(第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 12 月, 2008 年.
3) 谷田部 春香, 川島 朋子, 瀬戸 陽介, 藤本 浩文 , 前川秀彰, 黒木 あづさ, 藤原 晴彦,「標的特異的遺伝子導入ツールとしてのレトロトランスポゾン R2Ol」, BMB2008(第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 12 月, 2008 年.
4) 川西祐一, 鎌内悠, 味村傳, 三田和英, 山本公子, 伴野豊, 藤本浩文, 屠振力, 盧時甲, 日高道雄, 中島裕美子, 前川秀彰,「クワコの rDNA の 5.8S-28S 領域の配列を指標にした比較系統解析」, 第 79 回日本蚕糸学会, 東京, 3 月, 2009 年.
5) 作道隆、飯塚哲也、生川潤子、瀬筒秀樹、桑崎誠剛,伴野豊、高田直子、藤本浩文、門野敬子、三田和英、田村俊樹、山本公子、土田耕三. 生体色素カロテノイドの膜輸送に関与するカイコ黄繭遺伝子の分子遺伝学的解析. 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会, 神戸, 12 月, 2008 年
6) 土田耕三. カロテノイドの選択的輸送を支える装置―カロテノイド結合タンパク質の生理機能、シンポジウムカイコゲノムが拓く新たな生物学、第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会合同大会、神戸、12 月、2008 年
7) 作道隆、飯塚哲也、生川潤子、瀬筒秀樹、桑崎誠剛、伴野豊、高田直子、藤本浩文、門野敬子、三田和英、田村俊樹、山本公子、土田耕三. 黄繭遺伝子(C)の分子遺伝学的解析. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 東京, 3 月, 2009 年
8) 土田耕三、北村晃利、眞岡孝至、作道隆、藤本浩文、高田直子.アスタキサンチン赤色繭の生産. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 東京, 3 月, 2009 年
9) 北村晃利、作道隆、湯浅正志、森林敦子、藤本浩文、高田直子、岩野秀俊、伴野豊、土田耕三. 黄繭遺伝子(C)は中部絹糸腺におけるキサントフィルの取り込みを支配する. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 東京, 3 月, 2009 年
10) 王華兵、作道隆、川崎秀樹、荒木克枝、岩野秀俊、岩永将司、藤本浩文、高田直子、土田耕三.カイコにおける成虫原基成長因子の発現解析. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 東京, 3 月, 2009 年

１７． 動物管理室

室長　山田靖子

概　要

平成 20 年度にバイオセーフティレベル 3 病原体に対応した動物実験施設(ABSL3)が新たに二つ完成した。一つは村山庁舎 9 号棟内、一つはハンセン病研究センター第２研究棟内である。それぞれ飼育する動物種を想定して、特徴のある施設となっている。ハンセン病研究センターではこれを機に、戸山及び村山庁舎に準じて動物実験施設利用方法の整備を行い、施設利用講習会を開催した。

「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」が平成 18 年度に施行および策定されたが、これらを受けて財団法人ヒューマンサイエンス財団が、厚生労働省管轄の動物実験施設の外部評価機構として動物実験実施施設認証センターを設立した。感染研は 11 月に戸山庁舎で実地調査を受け、適合の認定を取得した。認定は庁舎ごととなるため、今回は戸山庁舎のみの認証となっている。

従来、小動物の吸入麻酔にクロロホルム、エーテルが使用されてきたが、従事者の健康被害および引火性の観点からこれらに替わる吸入麻酔薬としてイソフルランが推奨されているため、イソフルラン気化装置を各庁舎に導入した。また、戸山庁舎動物実験管理区では、消毒薬に替わる弱酸性水の生成装置を導入した。

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およびマスト細胞の役割について、またサルから分離されたアデノウイルスの研究を進めた。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、ガングリオシド蓄積症、レオウイルスおよびリフトバレー熱ウイルスの研究を行った。

動物実験管理区は海外および国内から施設見学や研修に対応している。5 月中国動物実験施設視察団、6 月及び 10 月東京大学獣医学科、10 月中国、JICA 集団研修、韓国パスツール研、12 月アジアバイオセーフティ地域研修会、国内医師卒後研修、3 月中国 CDC に対応した。

平成 20 年 4 月に研究員として酒井宏治を迎えた。また、昨年度定年退官した須崎百合子が短時間再任用職員として業務の一旦を担っている。

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 621 名となり、平成 20 年度に申請された動物実験計画は 280 件であった。

動物実験委員会の講習会とは別途に、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 21 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 329 人、村山庁舎 181 人、ハンセン病研究センター16 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）	施設利用（ハンセン）	動物実験（全所）
4 月 7 日	戸山	23			33
5 月 27 日	村山		9		
6 月 4 日	戸山	11			14
6 月 11 日	*戸山*				*1*
8 月 5 日	戸山	9			11
10 月 1 日	戸山	5			8
12 月 2 日	戸山	5			11
1 月 14 日	村山		9		
2 月 4 日	戸山	6			9
2 月 20 日	ハンセン			10	

3月4日	ハンセン			6	
合計		59 新規	18 新規	16 本年度より実施	87 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、酒井宏治、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 (B6/1a)マウスは CEACAM1a (1a)を、抵抗性 SJL マウスは CEACAM1b (1b)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、B6/1a マウスの 1a 遺伝子を 1b に置換した遺伝子改変マウス B6/1b を作製し、これは SJL より高度な MHV 抵抗性を示した。本年度は B6/1b マウス組織および細胞での 1b 発現、および MHV 感染時の病理像を解析した。B6/1b の腸および肝組織での 1b 発現は B6/1a の 1a および SJL の 1b と同様な局在であること、また腹腔マクロファージ（PM）表面に 1b が発現していることが確認された。PM の MHV 感受性は B6/1a>SJL>B6/1b の順でありマウス生体の MHV 感受性と一致した。肝の炎症・壊死の程度およびウイルス抗原量は B6/1a＞SJL＞B6/1b の順であった。今回の実験結果から病理組織学的にも B6/1b と SJL で MHV 感受性に差が認められ、両者は組織および細胞表面に同様に 1b を発現していることから、MHV 感受性差は CEACAM1 の受容体活性だけでは説明できず、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（ウイルス 3 部)]

II-2　マウス肝炎ウイルス感染におけるマスト細胞の役割の解明

遺伝的にマスト細胞を欠損する WBB6F1-W/W^V マウスに、そのコントロール+/+マウスおよび TLR3 を欠損したマウスから得た骨髄培養マスト細胞を摂取してマスト細胞を修復させた W/W^V マウスに MHV を感染させ生存率を比較した。その結果、MHV 感染によって生存率に差は認められなかった。修復 W/W^V マウスの抗体価は、接種後 6 日以内に死亡したマウスでは上がっていなかったが、11 日および 12 日に発症したマウスや生存した 3 週間のマウスでは上昇していた。臓器内のウイルス力価は、+/+マスト細胞修復 W/W^V マウスの肝臓では接種後 4 日、脳で 4 と 11 日、TLR3 マスト細胞修復 W/W^V マウスの肝臓では接種後 4 と 11 日、脳で 3、6 日および 12 日にウイルス力価の上昇が認められた。

(田原口元子、山田靖子)

II-3 水様性下痢を呈したカニクイザルから分離したアデノウイルスの分子系統学的解析

重度の食欲減退・水様性下痢等を呈したカニクイザルの剖検材料を Vero E6 細胞接種した結果、胃・空腸・回腸・盲腸・結腸の乳剤および直腸拭い液からウイルスが分離された。盲腸乳剤及び直腸拭い液の感染細胞培養上清の電子顕微鏡による鏡検からは、アデノウイルス様粒子が認められた。また、全ての分離ウイルスが PCR によりアデノウイルスと同定された。サル臓器の病理組織学解析でも結腸上皮細胞核内にアデノウイルス様粒子が確認された。分離ウイルスの pTP、52K、pIIIa、penton base（III）遺伝子の配列を既知のアデノウイルスと比較した結果、Species A～F の系統には分類されず、1956 年にカニクイザル臓器から分離されたサルアデノウイルス-1 や 2007 年にヒト下痢患者から分離された新しい血清型のヒトアデノウイルス-52 と比較的近縁であった。

［酒井宏治、永田典代[1]、岩田奈織子[1]、長谷川秀樹[1]、松井珠乃[2]、網康至、平井明香、須崎百合子、水谷哲也[3]、福士秀悦[3]、緒方もも子[3]、西條政幸[3]、藤本嗣人、山田靖子、岡部信彦[2]、佐多徹太郎[1]、倉根一郎[3]、森川茂[3]　（動物管理室、[1]感染病理部、[2]感染症情報センター、[3]ウイルス第一部］

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。血中においてウイルス中和抗体価が持続的に高値を示し、かつ、脳脊髄液中に中和抗体が認められ持続感染が疑われる個体では、脳波において、前頭および頭頂部に周期性の徐波が認められ、経過を観察中である。（網　康至、須崎百合子）

III-2 MCC 系マストミス腎臓におけるガングリオシド蓄積症

MCC マストミス腎における GM2 および Fuc-GM1 の蓄積の原因の一つとして、 *N*-acetylgalactosaminyltransferase（GM2 合成酵素）活性の増加について検討した。UDP-*N*–acetyl–D-[6-^{3}H]galactosamine を基質として、MCC（5 ヶ月齢）の腎における *N*-acetylgalactosaminyltransferase 活性を測定し, 正常マストミス（MWC）と比較したが, 系統間で差はほとんど認められず、本酵素は GM2 および Fuc-GM1 の蓄積に関与していないことが示唆された。（滝本一広）

III-3　急性呼吸器患者からの分離された新型レオウイルスに関する研究

1)新型レオウイルスのSセグメントの遺伝子配列決定及び系統学的解析

2007 年にインドネシアから帰国後、高熱と急性の呼吸器症状を伴い入院した患者咽頭拭い液からオルソレオウイルス属の Melaka ウイルスと類似のウイルス（以下、宮崎株）を分離した。これらのウイルスが属するネルソンベイオルソレオウイルス(Nelson)グループで保存されているプライマーを用いた RT-PCR 産物の塩基配列を決定し、分子系統学的解析を実施した。宮崎株の S2、S3、S4 セグメントの塩基配列は、2007 年に急性呼吸器感染症患者から分離された HK23629/07 株と 99%一致した。一方、S1 セグメントの塩基配列は両者で 67%と低い一致率で、特に S1 セグメントのコードする 3 つのタンパク質のうち sigmaC においてアミノ酸相同性が 56%と低かった。この結果は、Nelson グループのウイルス間での sigmaC のアミノ酸配列の保存性が低いことと一致する。以上の結果から、宮崎株は HK23629/07 株と共に Nelson グループに分類される新たなウイルスであることが明らかとなった。

2) 新型レオウイルスのマウスでの病原性の解析

急性呼吸器感染症患者から分離された新型レオウイルス宮崎株の病原性の解明および動物発症モデル開発のため、９週齢 BALB/c マウスへの感染実験を実施した。10^{6} 及び 10^{5}PFU 経鼻接種群では、感染翌日には典型的な呼吸器症状を呈し、著しい体重減少を伴いながら感染６日後までにそれぞれ 100%及び 67%の致死率を示した。病理所見では、肺のうっ血・水腫を伴う広範囲の肺炎様病変が認められ、気管及び肺から高力価のウイルスが分離された。以上より、宮崎株が BALB/c マウスにおいて実験的に急性呼吸器症状を示すことを明らかにし、当該ウイルスの発症モデルが開発された。

［酒井宏治、網康至、平井明香、山田靖子（動物管理室）、福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂（ウイルス第一部）］

III-4　リフトバレー熱ウイルスＬ蛋白に関する研究

リフトバレー熱ウイルス（RVFV）の L 蛋白（L）は RNA 依存 RNA ポリメラーゼ活性を有し、ウイルス増殖に必須の蛋白である。近年、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスやセンダイウイルスなどのＬ蛋白が多量体として機能する事が報告されている。本研究では、RVFV-L の複合体形成の有無と機能的重要性を調べるために、ミニゲノムアッセイを用いた機能的なタグ付加Ｌ蛋白発現の検討、及び、タグ付加Ｌ蛋白を用いた免疫沈降を行った。その結果、N 末端タグ付加Ｌ蛋白が機能的であること、また、細胞内でＬ蛋白が多量体を形成することが明らかとなった。不活性型Ｌ蛋白は活性型Ｌ蛋白複合体のポリメラーゼ機能を阻害したことから、複合体形成が機能に重要であることが示唆された。 [新倉綾、池上徹郎[1]、C.J.Peters[1]、牧野伸治[1] ([1]テキサス大学医学部)]

発 表 業 績 一 覧

I　誌上発表

I-1　欧文発表

1) Takimoto K., Taharaguchi M., Morikawa S., Ike F., and Yamada Y.K. : Detection of the antibody to lymphocytic choriomeningitis virus in sera of laboratory rodents infected with viruses of laboratory and newly isolated strains by ELISA using purified recombinant nucleoprotein. Experimental Animals, 57: 357-365 (2008)

2) Sakai K., Ueno Y., Ueda S., Yada K., Fukushi S., Saijo M., Kurane I., Mutoh K., Yoshioka K., Nakamura M., Takehara K., Morikawa S., Mizutani T. : Novel reovirus isolation from an Ostrich (*Struthio camelus*) in Japan. Veterinary

Microbiology. 134: 227–32 (2009)

3) Li TC, Suzaki Y, Ami Y, Tsunemitsu H, Miyamura T, Takeda N. : Mice are not susceptible to hepatitis E virus infection. J Vet Med Sci.70:1359-62 (2008)
4) Watanabe S., Mizutani T., Sakai K., Kato K., Tohya Y., Fukushi S., Saijo M., Yoshikawa Y., Kurane I., Morikawa S., Akashi H. : Ligation-mediated amplification for effective rapid determination of viral RNA sequences (RDV). Journal of Clinical Virology. 43: 56-9 (2008)
5) Iizuka I., Saijo M., Shiota T., Ami Y., Suzaki Y., Nagata N., Hasegawa H., Sakai K., Fukushi S., Mizutani T., Ogata M., Nakauchi M., Kurane I., Mizuguchi M., Morikawa S. : Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections. Journal of Medical Virology 81: 1102-8 (2009)
6) Yamao T., Eshita Y., Kihara Y., Satho T., Kuroda M., Sekizuka T., Nishimura M., Sakai K., Watanabe S., Akashi H., Rongsriyam Y., Komalamisra N., Srisawat R., Miyata T., Sakata A, Hosokawa M., Nakashima M., Kashige N., Miake F., Fukushi S., Nakauchi M., Saijo M., Kurane I., Morikawa S., Mizutani T. : Novel virus discovery in field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). Archives of virology 154: 153-8 (2009)
7) Saijo M., Ami Y., Suzaki Y., Nagata N., Iwata N., Hasegawa H., Iizuka I., Shiota T., Sakai K., Ogata M., Fukushi S., Mizutani T., Sata T., Kurata T., Kurane I., Morikawa S. : Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in nonhuman primates. The Journal of general virology (in press)

Ⅱ　学会発表

II-1 国際学会

1) Hirai A, Ohtsuka N, Ikeda T, Taniguchi R, Nakagaki K, Suzuki H, Yasushi A, Yamada YK, Itohara S & Taguchi F. Involvement of MHV receptor and other factors in the resistance to MHV as revealed by receptor gene-replaced mice. XIth International Nidovirus Symposium. Jun 2008, Oxford, UK.
2) Fukushi S, Hirai A, Niikura A, Maeda K, Yoshikawa Y, Yamada YK, Yokoyama M, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Kurane I & Morikawa S. Functional characterization of bat angiotensin-converting enzyme 2 protein in SARScoronavirus Infection. XIth International Nidovirus Symposium. Jun 2008, Oxford, UK.
3) Ike, F., Sakai, K., Mizutani, T., Takimoto, K., Bourgade, F., Jaubert, J., Montagutelli, X., Kajita, A., Nakata, H., Yoshiki, A., Morikawa, S. : Further analysis of LCMV M1 isolate. AALAS National Meeting. Nov 2008, Indianapolis, USA.

II -2　国内学会

1) 酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、上野勇一、上田修平、平井明香、網康至、岡村雅史、中村政幸、竹原一明、山田靖子、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ダチョウレオウイルスの同定。第 146 回日本獣医学会学術集会、平成 20 年 9 月、宮崎。
2) 酒井宏治、網康至、水谷哲也、岩切章、山本正悟、平井明香、須崎百合子、滝本一広、田原口元子、飯塚愛恵、福士秀悦、西條政幸、永田典代、片山紀代、長谷川秀樹、山田靖子、倉根一郎、森川茂：急性呼吸器患者から分離された新型レオウイルスの性状解析及びマウスでの感染実験。第 56 回日本ウイルス学会学術集会、平成 20 年 10 月、岡山。
3) 平井明香，大塚信久，池田敏男，谷口理絵，中垣慶子，鈴木秀佳，網　康至，山田靖子，糸原重美，田口文広：マウス系統間におけるマウス肝炎ウイルス感受性差に関する解析。第 56 回日本ウイルス学会，平成 20 年 10 月，岡山。
4) 山田靖子：人獣共通感染症の動物実験における適正な管理。第 55 回日本実験動物学会総会、平成 20 年 5 月、仙台。
5) 山田靖子：感染実験における適正な動物実験の実施に向けて。第 82 回日本細菌学会総会、平成 21 年 3 月、名古屋。
6) 白戸憲也，前島　円，平井明香，松山州徳，網　康至，川瀬みゆき，田口文広：Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) のマウス馴化株の分離と性状解析。第 56 回日本ウイルス学会，平成 20 年 10 月，岡山。
7) 渡辺俊平、水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、緒方もも子、遠矢幸伸、吉川泰弘、森川茂、倉根一朗、明石博臣：網羅的ウイルスゲノム検出法（RDV 法）の改良。第 56 回日本ウイルス学会学術集会、平成 20 年 10 月、岡山。
8) 西條政幸、網康至、須崎百合子、永田典代、長谷川秀樹、飯塚愛恵、塩田智之、緒方もも子、酒井宏治、中

内美名、福士秀悦、水谷哲也、倉根一郎、森川茂：劇症型サル痘に関する解析：症状，ウイルス学的検査所見，病理。第 56 回日本ウイルス学会学術集会、平成 20 年 10 月、岡山。

9) 飯塚愛恵、西條政幸、網康至、須崎百合子、永田典代、長谷川秀樹、緒方もも子、酒井宏治、塩田智之、中内美名、福士秀悦、水谷哲也、倉根一郎、森川茂：Loop-Mediated Isothermal Amplifi cation（LAMP）法によるサル痘迅速診断。第 56 回日本ウイルス学会学術集会、平成 20 年 10 月、岡山。

10) 福士秀悦、中内美名、酒井宏治、西條政幸、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、森川茂：リフトバレー熱ウイルスの NP に対する単クローン抗体の作製と抗原検出 ELISA 法への応用。第 56 回日本ウイルス学会学術集会、平成 20 年 10 月、岡山。

11) 中内美名、福士秀悦、酒井宏治、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、西條政幸、Victor Romanowski、森川茂：南米出血熱の実験室診断法の開発。第 56 回日本ウイルス学会学術集会、平成 20 年 10 月、岡山。

12) 大黒恵理子、水谷哲也、酒井宏治、高崎智彦、中村昇太、中屋隆明：ヒト胃癌由来培養細胞に持続感染しているウイルスの同定。第 56 回日本ウイルス学会学術集会、平成 20 年 10 月、岡山。

13) 水谷哲也、山尾卓也、江下優樹、片野晴隆、黒田誠、関塚剛史、渡辺俊平、明石博臣、竹原一明、木原悠希、佐藤朝光、西村美保、酒井宏治、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、中内美名、倉根一郎、森川茂：ウイルスの網羅的検出法（RDV 法）と次世代シーケンサーによる新しいウイルスの発見。第 56 回日本ウイルス学会学術集会、平成 20 年 10 月、岡山。

14) 水谷哲也、山尾卓也、江下優樹、木原悠希、佐藤朝光、黒田誠、関塚剛史、西村美保、酒井宏治、福士秀悦、緒方もも子、中内美名、倉根一郎、森川茂：ウイルスの網羅的方法の改良と新しいブニヤウイルスの発見。第 146 回日本獣医学会学術集会、平成 20 年 9 月、宮崎。

（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	0/240	0/2	0/4	0/192	0/72	0/95
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/240	0/2	0/4	0/192	0/72	0/95
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	0/240	0/2	0/4	87/192	0/72	0/95
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	24/240	0/11	3/22	44/192	0/72	61/95
腸粘膜肥厚菌	Citrobacter rodentium	培養	0/240			0/192		
肺パスツレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/240			0/192		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/240			0/192		
肺マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養・血清反応	0/240			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	0/22		0/72	0/95
溶血連鎖球菌	Streptococcus zooepidemicus	培養			0/22			0/95
肺炎球菌	Streptococcus pneumoniae	培養			0/22			0/95
センダイウイルス	Sendai virus (HVJ)	血清反応	0/240	0/2	0/4	0/192	0/72	0/95
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus(MHV)	血清反応	0/240			0/192		
エクトロメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/88			0/80		
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス	Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)	血清反応	0/88			0/80		
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/240					
スピロヌクレウス（ヘキサミタ）	Spironucleus muris (Hexamita muris)	鏡検	0/240					
ネズミ盲腸蟯虫	Syphacia spp.	鏡検	0/240					
ネズミ大腸蟯虫	Aspiculuris tetraptera	鏡検	0/240					
嚢尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検・肉眼所見	0/240					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/240					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/240					
コクシジウム	Eimeria caviae, Eimeria spp.	鏡検		0/2	0/4			
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 月に新設され、平成 19 年 10 月に、専任正職員 1 名と技術補助員 1 名が配置された。本年度は、設立第 2 年度目となる。平成 20 年 5 月には、細菌第二部主任研究官の落合雅樹が当室に配置換えとなり、細菌第二部に併任された。また、総務部事務補助員の片岡紀代が、検定コンピュータ管理業務の当室への移管に伴い、所属には変更がないものの、居室を当室に移した。平成 20 年 7 月には、血液・安全性研究部主任研究官の水澤左衛子が当室に併任された。このように、本年度から、当室の業務は主任研究官 2 名、補助員 1.5 名（片岡は、週に 2 日を検定コンピュータ管理業務に当てる）で実施されることになった。

業務面では、検定・検査品質保証業務の一貫として検定コンピュータシステムの管理業務が当室に移管されたことが大きな変更である。本年度は検定コンピュータシステムの 4 年に 1 度の契約更新が行われ、平成 20 年 7 月に新システムの運用が開始された。また、新たに 9 号棟が竣工し、当施設での新型インフルエンザワクチン株の製造に関して、当室が品質保証業務を分担する方向性がワクチン株製造施設（9 号棟）管理委員会で取り決められた。将来、当室の重要業務の一つになるものと思われる。これに伴い、さらに増員要求を行っているところである。

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を挙げると、１．国家検定の実施に関わる SOP 原本の管理と SOP 作成支援、２．検定コンピュータシステムの管理、３．検定検査品質保証室ホームページの運営、４．検定業務評価委員会による定期査察への協力、５．9 号棟運用規準構築支援業務　などである。また、生物学的製剤に関する研究業務として、落合を中心に生物学的製剤の品質管理に関する研究、標準品に関する研究が行われ、内藤を中心に、新しい経皮ワクチンデリバリーに関する研究が行われた。

以上のように、本年度、当室は、業務の拡大に伴い人員増が図られたが、品質保証業務は多岐に亘っており、限られた人員のもとでは、優先順位を見極め、効率的に運営することが重要である。各種の委員会との連携も、ますます重要となっている。近い将来、日本のワクチンの National Control Laboratory として、感染研に対して WHO の査察が行われることが見込まれている。室長の山口一成は、本年度で定年退官を迎える。次年度以降は新室長のもとで、当室がさらに発展していくことを念願している。

業　績

調査・研究

Ⅰ．生物学的製剤の品質管理に関する研究

１．残存百日咳毒素活性測定法に関する研究

DPT ワクチンの残存百日咳毒素活性は、マウス白血球数増加試験及びマウスヒスタミン増感試験により確認されている。しかし世界的には動物実験代替試験法の確立が求められている。そこで HPLC を用いて百日咳毒素の ADP-リボシル化活性の測定法及び百日咳毒素の糖鎖に対する結合活性を測定する２つの非動物系測定法とマウスヒスタミン増感試験を比較した。同じタイプのアルミニウムゲルを含有する DPT ワクチン間の比較では、ADP-リボシル化活性および糖鎖結合活性はマウスヒスタミン増感活性とよく相関した。[落合雅樹、片岡紀代、山本明彦（細菌第二部）、Chun-Ting Yuen (英国 NIBSC)、Dorothy Xing (英国 NIBSC)、Michael J. Corbel (英国 NIBSC) 、堀内善信（医薬品医療機器総合機構)]

２．不活化ポリオワクチン参照品の安定性に関する検討

不活化ポリオワクチンの開発において、力価試験に用いられる参照品は品質管理上重要である。これまでに製造された力価参照品の安定性評価は、ラット免疫原性試験および D 抗原 ELISA により実施されてきた。ラット免疫原性試験は近似最尤法による平行線定量法（IPV ラット力価試験計算シート）により解析される。この IPV ラット力価試験計算シートを用いて同時に解析できる検体数を大幅に増やした。これまでに蓄積したデータについて共通回帰を用いた一括解析が可能となり、安定性評

価の信頼性向上を図った。[落合雅樹、白土東子（ウイルス第二部)、武田直和（ウイルス第二部)、脇田隆字（ウイルス第二部)、堀内善信（医薬品医療機器総合機構)]

３．予防接種後健康被害ならびに副反応とワクチン成分及び性状に関する研究

ワクチン接種後副反応と品質管理試験成績あるいはワクチン成分との関連性は多くの場合不明である。したがって、ワクチン接種後副反応と品質管理試験成績あるいはワクチン成分との関連性を調査することで、副反応の発生に関連するワクチン側のリスク因子が明らかになることが期待される。そこで、現在定期接種に用いられるワクチンに対して実施されている国家検定の試験項目について、今後の調査および解析に用いるためのパラメータとして整理した。[落合雅樹、片岡紀代、山本明彦（細菌第二部)、内藤誠之郎、多屋馨子(感染症情報センター)、堀内善信（医薬品医療機器総合機構)]

４．血液製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

これまでの研究からアンチトロンビン製剤はエンドトキシン試験において強い反応阻害作用を示すことから、希釈による反応干渉因子の除去では感度が不足し本試験法の適用は不可能であった。そこで、LPS 親和性を示すペプチドを固相化したビーズを用いた測定法の可能性を検討した。その結果、本法によりアンチトロンビン製剤に添加したエンドトキシンの LAL 活性を阻害することなくライセート試薬により検出、定量出来ることがわかった。[落合雅樹、山本明彦（細菌第二部)、内藤誠之郎、鈴木政嗣（ペプタイドドア)、松本めぐみ（ペプタイドドア)、堀内善信（医薬品医療機器総合機構)]

５．ボツリヌス毒素の動物実験代替法に関する研究

A 型ボツリヌス毒素がシナプス前膜に存在する SNAP-25（Synaptosomal- associated Protein of 25 kDa）を特異的に切断するエンドペプチダーゼ活性を利用した、非動物系のA型ボツリヌス毒素活性測定法の国内技術移転を行った。本測定法が導入されれば、実験動物使用数の削減に加え試験精度の向上が期待できる。[落合雅樹、高橋元秀(細菌第二部)、Russell G.A. Jones (英国 NIBSC)、Dorothea Sesardic (英国 NIBSC)、Michael J. Corbel (英国 NIBSC)]

Ⅱ．標準品に関する研究

１．日本薬局方エンドトキシン標準品 Lot 9, 10, 11 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 9, 10, 11)候補品が作成され、標準プロトコールに従って、日本公定書協会、当研究所他(計７機関)で力価共同評定を実施した。３種のライセート試薬を用いてWHOエンドトキシン国際標準品に対する相対力価を算出し、エンドトキシン標準品 Lot 9, 10, 11 候補品の単位はそれぞれ 20,000、17,000、17,000 EU／バイアルと評価された。[落合雅樹、蒲地一成（細菌第二部)、中川ゆかり（日本公定書協会)、村井敏美（日本公定書協会)]

２．台湾百日せきワクチン力価試験用標準品候補品の標準化に対する研究協力

台湾で製造した百日せきワクチンの力価試験標準品候補品の標準化に、感染研、化血研および阪大微研の国内３機関が協力した。候補品と全菌体百日せきワクチン用の国際標準品を、脳内接種法による力価試験により比較した。国内３機関の測定結果からは、台湾国内標準品候補品の力価は 17.3 IU/バイアル（幾何平均)、14.2 IU/バイアル（加重平均）と評価された。[落合雅樹、蒲地一成（細菌第二部)、山本明彦（細菌第二部)、高橋元秀（細菌第二部)、渡邉治雄（副所長)、徳永英治（化血研)、大西敏之（阪大微研会)]

Ⅲ．新規ワクチンに関する研究

１．溶解性マイクロニードルを用いた経皮ワクチンに関する研究

溶解性マイクロニードルは、薬物を含有した水溶性・洩糸性高分子を、マイクロメートルオーダーの微小針に成型・乾燥させた新規の皮膚薬物送達システムである。微小針は皮膚上層のみに刺入・溶解し、薬物を皮内に無痛・効率的に送達する。この新規システムのワクチンへの応用可能性を検討するため、以下の研究を行った。

(1) 溶解性マイクロニードルの皮膚吸収の観察

エバンスブルーを含有した溶解性マイクロニードルをマウスの皮膚に投与した。エバンスブルーによる皮膚の青斑を観察することにより、皮膚に刺入されたマイクロニードルは、5 分以内に溶解・吸収されることが示された。青斑は、数時間かけて吸収され、24 時間後には見られなくなった。溶解性マイクロニードルによる皮膚への有害作用は、特に認められなかった。

(2) OVA 含有溶解性マイクロニードルに対する抗体応答

卵白アルブミン（OVA）を含有する溶解性マイクロニー

ドルをマウスに投与して、血中の OVA 特異的抗体応答を観察した。用量反応性の検討から、溶解性マイクロニードルは、抗原溶液を皮膚に塗布する方法に比べて、千分の一の抗原量で有意な抗体応答を誘導することが可能であり、皮内注射と比べても遜色ないことが確認された。

(3) OVA 含有溶解性マイクロニードルの皮膚吸収性

マウス皮膚投与後に残留したマイクロニードル中の OVA 量を ELISA 法により測定した。マイクロニードル中の OVA の 60～70%が皮膚に吸収されずに残留し、皮膚への正味吸収量は 30～40%であった。OVA の正味吸収量と血清中の OVA 特異的抗体量には正の相関が認められた。[内藤誠之郎、落合雅樹、片岡紀代、清原知子（ウイルス第二部)、前山順一（血液・安全性研究部）]

品質管理に関する業務

Ⅰ．国家検定・検査の品質マネジメントに関する業務

１．国家検定に関する SOP 原本の一元管理

国家検定に関する SOP の原本を検定検査品質保証室で一元管理することとなり、平成 20 年 3 月から各担当部･室が作成／承認した検定に関する SOP 原本の一元管理を開始した。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、部室ごとにファイルし、施錠保管庫に保管している。SOP 原本のタイトルなどは、検定 SOP マスターリストに登録し、検定検査品質保証室のホームページ上で確認できる。

一元管理開始時に回収された SOP 原本は、332 通であった。平成 20 年度中に、新規作成 28 通、修正 17 通、改訂 100 通、廃止 7 通の SOP を受け付けた。平成 20 年度末に有効な SOP は 353 通である。

[内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、山口一成]

２．検定検査試験手順書作成要綱の改定案の作成

現作成要綱の不備な点などを改め、SOP 標準様式を付け加えた改定案を作成して、品質保証運営委員会に提出した。[内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、山口一成]

３．生物学的製剤の国家検定における品質マネジメント指針の改定案の作成

品質マネジメント指針の「原則」および付属資料２などについて改定案を作成し、品質保証運営委員会に提出した。[内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、山口一成]

４．検定業務評価委員会による査察への協力

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。事前に査察対象室の SOP ファイルを準備して、査察委員に提出した。すべての査察に同行して意見を述べた。[落合雅樹、内藤誠之郎、内田孝子]

５．検定検査品質保証室のホームページの運営

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ており、このサイトを利用して、検定検査関係の各種の情報提供を行っている。あらたに情報の改訂が行われた検定・検査業務必携、検定 SOP マスターリストなどの更新を行い、最新情報を掲載するようにした。［内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、山口一成]

Ⅱ. 国家検定・検査業務品質管理コンピュータシステムに関する業務

１．検定コンピュータシステムの更新

検定コンピュータシステムの 4 年に 1 度の契約更新に当たり、システムの改善を図るため検定コンピュータ小委員会を中心に仕様の全面的な見直しを行い、システム開発業者との打ち合わせ、システム運用テストを経て、平成 20 年 7 月に新システムの運用を開始した。[落合雅樹、片岡紀代、検定コンピュータ小委員会]

２．検定コンピュータシステムの管理者業務

検定コンピュータシステムの日常メンテナンス業務およびシステム管理業務を実施するとともに、トラブル等への対応、必要に応じてシステムの改善を図った。またシステム開発業者と定例会を開催し、システムに関する情報の共有化および今後の方針について検討した。[落合雅樹、片岡紀代、内田孝子、内藤誠之郎]

Ⅲ. 検定検査関係の業務管理課支援業務

１．検定料金改定に関する業務

3 年に 1 回の検定料金改定（平成 21 年 4 月 1 日予定）に向けた検定・検査・製品交付の見直し作業を行った。各試験担当室より見直した試験単価表を集め、不整合がないか確認しながら単価の統一を図った。また、今年度の検定コンピュータ更新時期に併せて独立に設定していた試験項目名及び製剤名を一致させることにより、誤入力をなくすよう改善した。[片岡紀代、梅原勢津子（業務管理課)、内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、金田真千子（業務管理課)]

２．新製剤および参照品の登録業務

「細胞培養痘そうワクチン」及び「乾燥細胞培養痘そうワクチン」の生物学的製剤基準への追加に伴い「ポック法によるとき」「プラーク法によるとき」を追加し、検定料金の算出を行った。新製剤「乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン」の検定料金算出及び、検定コンピュータシステムへの登録作業を実施した。また、「麻疹ワクチン力価試験用自家参照品」を製品交付品に追加した。[片岡紀代、梅原勢津子（業務管理課）、内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、金田真千子（業務管理課）]

Ⅳ. ワクチン株製造施設（9 号棟）の運営支援業務

１．品質管理文書の整備に関する支援

9 号棟での新型インフルエンザワクチン株製造の稼働に向けて、品質管理文書を整備する業務を支援した。[内藤誠之郎、落合雅樹]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Hamaguchi I, Imai J, Momose H, 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 for pertussis vaccine safety control. Vaccine 26: 4686-96, 2008.

2) Mizukami T, Masumi A, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Naito S, Maeyama J, Furuhata K, Tsuruhara M, Hamaguchi I, Yamaguchi K. An improved abnormal toxicity test by using reference vaccine-specific body weight curves and histopathological data for monitoring vaccine quality and safety in Japan. Biologicals 37:8-17, 2008.

3) Gaines-Das, R., Ochiai, M., Douglas-Bardsley, A., Asokanathan, C., Horiuchi, Y., Rigsby, P., Corbel, M.J. and Xing, D.K.L. Transferability of dermal temperature histamine sensitisation test for estimation of pertussis toxin activity in vaccines. Hum Vaccin., 5 (3), 166-71, 2009.

4) Kataoka, M., Yamamoto, A., Ochiai, M., Harashima, A.,Nagata, N., Hasegawa, H., Kurata, T. and Horiuchi, Y. Comparison of acellular pertussis based combination vaccines by Japanese control tests for toxicities and laboratory models for local reaction. Vaccine, 27 (13), 1881-8, 2009.

２．和文発表

1）内藤誠之郎 :発熱性物質試験法. 新 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, 2008.

2）内藤誠之郎:経皮ワクチン. 日本臨床 66(10):1888-93, 2008.

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1）Horiuchi, Y., Kataoka, M., Yamamoto, A., Ochiai, M., Harashima, A., Nagata, N., Hasegawa, H. and Kurata, T. The success story of Japanese DTaP control and a further development of vaccine evaluation. 2nd World Conference on Magic Bullets (Ehrlich II), Oct. 2008.

２．国内学会

1）内藤誠之郎:自己溶解性マイクロパイルアレイによる経皮ワクチンの試み. 第 2 回ナノメディスン・アプリケーション研究会, 平成 20 年 9 月, 東京.

2）落合雅樹, 山本明彦, 堀内善信, 血液製剤に対するエンドトキシン試験法の適用と基準化に関する研究. 第 14 回日本エンドトキシン研究会, 平成 20 年 10 月, 仙台.

3）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, 益実厚子, 倉光 球, 滝沢和也, 野村信夫, 渡辺慎哉, 山口一成：網羅的迅速検出法（Luminex 法）によるインフルエンザワクチンの新しい安全性評価法の開発の試み. 第 12 回日本ワクチン学会, 平成 20 年 11 月, 熊本.

4）百瀬暖佳, 今井順一, 浜口 功, 河村未佳, 水上拓郎, 内藤誠之郎, 益実厚子, 前山順一, 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を用いた Vero 細胞由来日本脳炎ワクチンの評価. 第 12 回日本ワクチン学会, 平成 20 年 11 月, 熊本.

5）内藤誠之郎:経皮ワクチンのメカニズムおよびその利点と課題. 技術情報協会セミナー, 平成 21 年 3 月, 東京.

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。その後幾度か感染症法改正が行なわれているが、その都度サーベイランスの重要性が強調されている。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。現在これらのサーベイランスシステムは、NESID (Natonal Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases)と総称されている。

血清疫学調査は、感染症流行予測調査事業の中で行っている。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、あるいは新たに判明した感染症について過去に遡った血清抗体保有状況の検索なども 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。FETP も平成 20 年度には 10 期生を向かえた。

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、血清抗体保有状況、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）

国内や国外における公衆衛生インパクトの強い感染症流行の早期探知、感染症対策のための計画立案とそのための研究、院内感染対策に関する研究などを行っている。また積極的疫学調査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）。国際的な感染症対策の枠組みを中心とした国際的な対応も一室のテーマである。国際保健規則（IHR）の National Focal Point は厚労省厚生科学課の他に、感染症情報センター長および感染症情報センタ

一第一室室長がその役割をになっている。1997 年以来パンデミック対策は、感染症情報センター全員の協力の下、一室を中心にして感染症情報センター全体で取り組んでいる。

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。

より良いサーベイランスのための情報解析方法の研究、システム改善、蓄積された情報の効率よいまた分かりやすい還元方法の研究、メデイアとのコミュニケーションなども、二室の主なテーマである。

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(感受性調査)ならびに感染源調査の立案と実施、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。この一環として、新たに判明した感染症について過去に遡った血清抗体保有状況の検索なども行なっている。

また麻疹対策 (Measles Elimination)は世界においてまたわが国においても重要な課題であるが、国内における麻疹ゼロ作戦は、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。

さらに感染症に関するラボ診断法の開発なども行なっている。

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。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。 また、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、 新規検査法の開発研究なども行っている。

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。

麻疹対策 (Measles Elimination)は世界においてまたわが国においても重要な課題であることは 3 室においても述べたが、ラボ診断に関しては, 全国地衛研における麻疹実験室診断の標準化と強化など、ウイルス 3 部と協力して行なっている。

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、アドバンスト・サーベイランスの検討、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、森兼啓太、砂川富正、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及び検討方法の評価を継続して行い、全数報告疾患のうち 3 類、4 類及び 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。特に、咽頭結膜熱、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎の警報発生頻度が近年継続的に、急激に上昇したことに対して、昨年度に警報発生基準値変更が必要なことを提案し、本年度にこの提案が妥当であることを確認した。また、システム上も基準値の変更を行った。

［多田有希、谷口清州、重松美加、安井良則、島田智恵、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)、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」(研究代表者　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を評価・検討してきた。今年度は「電子システム」「届出基準・届出様式の変更」「麻疹サーベイランス」について行った。特に「電子システム」についてはグラフィカルな解析ツールを作成し、麻疹速報データの HP 上の公表に実際に役立てている。また、「届出基準・届出様式の変更」を腸管出血性大腸菌感染症における HUS 発生数の把握の観点で検討し、変更が有用であったことを確認できた。「麻疹サーベイランス」は、従来の定点把握から 2008 年に全数把握と変更されたことを群馬県における発生状況について評価し、適切な変更であったことを確認した。今後も検討を継続し、改善を図る。［多田有希、島田智恵、阿保満（東京都健康安全センター)、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（大阪府健康福福祉部)］

4. 症候群サーベイランスの実証的研究

7 月に実施された北海道洞爺湖サミット対策としてその前後 2 週間、計 1 ヵ月の期間、救急車搬送、調剤薬局、一般用医薬品について健康危機情報の収集を実施した。また、特に調剤薬局のサーベイランスについて全国約 1,600 の薬局の協力を得て実証的研究を行った。 学校欠席情報共有システムを 2 市町計 27 校において 9 月以降実施し、またその情報を保健所・県庁に提供し、早期共有に貢献した。さらに、外来受診時の症状や救急車搬送における症候群サーベイランスも併せて、統合的な評価体制を試験的に構築した。

[大日康史、山口亮（北海道庁)、杉浦弘明（出雲市医師会)、菅原民枝、吉田眞紀子、島田智恵、堀成美、杉下由行、安井良則、砂川富正、松井珠乃、谷口清洲、 夛田有希、多屋馨子、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

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. 百日咳発生ＤＢの構築・運用

平成 19 年の百日咳の集団発生を受けて、百日咳発生 DB を構築し、運用した。

［大日康史、菅原民枝 、山本久美 、多屋馨子 、安井良則 、岡部信彦］

7. 有志医師によるインフルエンザ DB の運用

2000 年から継続して実施している ML インフルエンザ前線情報 DB の運用を今年度も継続して行い、394 名の有志のご協力、73,903 件のインフルエンザ症例に関する報告を得られた。この DB は麻疹や百日咳の DB

のモデルともなったもので、今後新型インフルエンザ検出・推移の把握についても有用であることが期待される。

［砂川富正、谷口清州、西藤なるを（西藤こどもクリニック）、岡部信彦］

Ⅱ．パンデミック、バイオテロ、公衆衛生対策に関する研究

1. 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、山本久美、押谷仁（東北大学)］

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、中京圏、関西圏、宮崎市、沖縄県、札幌市に加えて、弘前市、むつ市、秋田市、宍道湖中海都市圏、高知市、徳島市、富山市、新潟市において、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、休校、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、岡部信彦］

3. バイオテロ対策の数理モデルの開発

昨年度に引き続き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、その成果およびプログラムはは厚生労働省をはじめ関係部局に提供した。本年度は特に、サーベイランスあるいは積極疫学的調査からの患者発生状況から暴露地点、日時、量を推測するアルゴリズムを検討した。

［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

「テロの可能性のある病原体等の早期検知・迅速診断法の開発とその評価法の確立に関わる研究班」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およびホームページの改良を行った。

［谷口清州、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

(1) 厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業「バイオリスク管理の包括的強化及び必要な教材等の開発と実践の評価に関する研究」（研究代表者：杉山和良）の研究分担として、効果的バイオリスク管理の実践のための教育方法の検討と教材作成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教育訓練法の検討と教材の作成提供について、米国、英国、カナダ、デンマーク、スウェーデン、国際学術団体と協力し、国際指針に基づく研修の作成、ワークショップやシンポジウムの開催、翻訳な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配布版作成のための検討、バイオリスク評価理論の確立へ向けての国際調査とリスク評価を行った。郵便事業の再編に伴う問題点の検討を行った。

(2) バイオリスク管理の国際基準作成「CEN WORKSHOP AGREEMENT 15793」の策定に続き、カナダ公衆衛生局のイニシアチヴによる、バイオリスク評価手法論の確立と、同評価ツールのための基礎調査とモデル作成に着手した。

[重松美加、安藤秀二（ウイルス第一部）、佐多徹太郎（感染病理）、Jennifier Gaudioso (Sandia National Laboratories), Susan Caskey （同）]

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」（研究代表者：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、効果的なリスクコミュニケーションのための研修方法に必要な事例情報に関する情報収集と、研修用シナリオ作成の基礎的検討を行った。

[重松美加、谷口清州]

7. バイオテロ防止およびバイオテロ下における効果的な医療体制のあり方および評価に関する研究

厚生労働科学研究費補助金　健康安全・危機管理対策総合研究事業「健康危機管理における効果的な医療体制のあり方に関する研究」（主任研究者：大友康裕）の分担研究として、感染症医療体制と災害・救急医療体制の連携方法に関する研究、特に、バイオテロ関連疾患、新型インフルエンザについて情報を収集し、救急や災害医療の役割について検討を行った。得られた情報を、同研究班の DMAT 研修の場で現場の医師等に還元し、協議を行った。また、7 月の洞爺湖サミットの場において、同研究班メンバーを中心とする NBC 対応チームとの協議を行うことで実際に機能した。

また、バイオテロ関連疾患、新型インフルエンザと医療体制について、課題を整理した。

[砂川富正、松井珠乃、谷口清州、岡部信彦、大友康裕（東京医科歯科大学大学院救急災害医学分野）]

8. 健康危機情報の早期検知とリアルタイムの対策活用を可能とするシステムデザインのための研究

厚生労働科学研究費補助金　特別研究事業「健康危機情報の積極的収集と分析および健康危機管理行政への情報提供のためのシステム開発と運用に関する研究」（研究代表者：ナイジェル・コリアー）の分担研究として、日本の現状を総括し、World Wide Web 上のニュース、ブログ、プレスリリース、ルーモア等から健康危機情報の早期検知を行っている世界の 6 つのシステムについての調査と比較解析を行った。その結果を踏まえ、言語処理技術を用いて WWW 上からの情報をデータベースに保存可能な構造化情報に変換し、コンピュータによる分析者支援を実現することで、日本の将来的な健康危機情報早期検知システムのデザインに必要なアプローチ方法の提言を行った。

[重松美加、谷口清州、Nigel Collier （国立情報学研究所）、Son Doan（同）]

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、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、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、鈴木里和（細菌第二部）、山根一和（同）、筒井敦子（同）、荒川宜親（同）］

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）］

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」（研究代表者　岸本寿男、研究分担者　岡部信彦）により、四国 4 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、自治体および医療機関へ情報還元を行った。また、大阪、兵庫等において、一般市民のリケッチア症に関する認知度調査を行った。

［松井珠乃、佐藤弘、藤本嗣人、岡部信彦］

7. 食中毒調査の精度向上のための手法の開発

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）「食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究」（研究代表者　岡部信彦）により、米国、オーストラリア等の食中毒対策の現状について調査を行った。その結果等に基づき、日本において市中で症例対照研究を実施するための基礎的な研究を実施した。

[松井珠乃、春日文子、岡部信彦]

8. レプトスピラ症に関する意識調査に関する研究

ヒト及び犬のレプトスピラ症についての、医療関係者（医師&獣医師）における KAP（Knowledge, Attitude, & Practice）調査を FETP 研修員らとともに計画し、細菌第一部（小泉）とともに沖縄県、熊本県、佐賀県で質問票調査を実施した。(1~3 月）現在、解析中である。

[大山卓昭、小泉信夫（細菌第 1 部）]

9. インフルエンザ脳症の発生報告について

2007/08 シーズンおよび 2008/09 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、山本久美、岡部信彦、森島恒雄（岡山大学大学院小児医科学）］

10. 性感染症（STD）発生動向に関する研究

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」（研究代表者　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。特に定点把握については、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、前述の研究「性感染症（STD）発生動向調査の評価と解析」と合わせて評価することが、引き続き今後の課題である。

［岡部信彦、多田有希］

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」（研究者代表者　多田有希）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、佐藤弘、高山直秀（都立駒込病院）]

12. 急性脳炎・脳症の発生動向に関する研究

科学研究費補助金事業　基盤研究A「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（研究代表者：森島恒雄）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 2004～2008 年に報告された急性脳炎･脳症の発生状況をまとめた。5 年間に 933 例が報告され、このうち 15 歳未満の小児は 544 例報告された。933 例のうち少なくとも 95 例の死亡が報告され、年齢中央値は 9 歳、最も多い病原体はインフルエンザであった。5 年間に 1 例の報告されていない自治体もあり、報告漏れがあることも示唆された。届出の徹底、転帰の把握、病原体検索などが課題である。

[岡部信彦、多田有希]

13. 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、2008 年 4 月号：アデノウイルス感染症、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：HIV/AIDS、7 月号：感染症法および検疫法の改正と麻疹対策強化、8 月号：細菌性食中毒、9 月号:性感染症、10 月号:RS ウイルス感染症、11 月号:インフルエンザ、12 月号:レジオネラ症、2009 年 1 月号：エンテロウイルス髄膜炎、2 月号：麻疹、3 月号：破傷風である。

［山下和予、赤塚昌江、加藤信子、徳永真里子、野地元子、齊藤剛仁、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、池辺忠義、倉文明、前川純子（細菌第一部）、倉根一郎、岸本寿男（ウイルス第一部）、脇田隆字、清水博之（ウイルス第二部）、田代真人、小田切孝人、駒瀬勝啓（ウイルス第三部）、荒川宜親、新谷三春、山本明彦、高橋元秀、見理剛（細菌第二部）、野崎智義（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、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）、五十君静信、山本茂貴（国立衛研）、北島智子、藤井紀男（企画調整主幹）、宮村達男（所長）、吉倉廣（前所長）、三宅邦明、津曲淳、辻井憲一、江浪武志、小林一司、難波吉雄、、蟹江誠、小島三奈、柴辻正喜、堀内直哉（厚生労働省）］

14. インフルエンザ脳症の発生報告について

2007/08 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、山本久美、岡部信彦、森島恒雄（岡山大学大学院小児医科学）］

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. 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)「予防接種後健康被害審査の効率化に関する研究（研究代表者　多屋馨子)」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の構築を行った。また、海外での情報収集を行った。

［多屋馨子、岡部信彦、砂川富正、安井良則、新井智、佐藤弘、山本久美、荒木和子、北本理恵、田中敏博（カナダトロント小児病院、落合雅樹（検定検査品質保証室］

2. 麻疹、風疹ワクチンに関する研究

(1) 麻疹排除に向けた対策の構築ならびに実施

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（研究代表者　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、国が定める「麻疹対策技術支援チーム」として、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。

〈予防接種の徹底と接種率向上に向けた取り組み〉

－自治体別の定期的な接種率の評価と還元

－教育啓発ツールの作成・提供

〈患者発生動向の評価〉

－全数把握制度における麻疹患者発生の評価、解析と定期的な還元

〈集団発生対応〉

－集団発生に対する技術的助言の実施

〈各種ガイドライン作成〉

－都道府県における麻しん対策会議のガイドライン

－麻疹排除に向けた積極的疫学調査ガイドライン第二版

－医療機関での麻疹対応ガイドライン第二版

－学校における麻しん対策ガイドライン

－医師における麻しん届け出ガイドライン第二版

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ている。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。

［岡部信彦、多屋馨子、山本久美、佐藤弘、多田有希、山下和予、安井良則、島田智恵、谷口清州、大日康史、菅原民枝、砂川富正、松井珠乃、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）、小林一司（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）］

(2) 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（研究代表者 : 清水博之）の分担研究として、東京都内の医療機関に入院した麻疹患者について検討を行うとともに、平成 20 年度本研究班で作成した麻疹教育啓発 DVD を約 2000 の教育機関、行政機関、医療機関に配布した。

［多屋馨子、山本久美、谷口無我、山本明史、岡部信彦］

(3) 第 3 期・第 4 期麻疹風疹ワクチンにおける接種率向上に向けた自治体の取り組み

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（研究代表者　岡部信彦)」の研究の一貫として、第 3 期、第 4 期の麻疹・風疹ワクチンの接種率が高い自治体と低い自治体に対して、高かった理由、困難であった理由を調査し解析した。

［山本久美、多屋馨子］

(4) 0 歳児の麻疹に関する検討

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（研究代表者　岡部信彦)」の研究の一貫として、定期接種が導入される前の

0 歳における麻疹の罹患状況や抗体保有状況を調査するとともに、感染経路等について検討した。
［佐藤弘、島田智恵、多屋馨子、多田有希、岡部信彦］

(5) 学校における麻疹･風疹対策に関する調査「JR 中央線・京浜東北線電車内トレインチャンネル等での情報提供後調査」

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「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（研究代表者　岡部信彦）」の研究の一貫として、ＪＲ電車内のトレインチャンネルで上映したＣＭの効果について検討した。
［山本久美、多屋馨子、佐藤弘、岡部信彦］

(6) 学校における麻疹排除に向けた取り組みと今後の麻疹対策に関する研究

麻疹に関する知識を普及させるために、調査と啓発を兼ね備えた調査用紙を作成し、世代の違いにおける麻疹に関する意識の違いについて検討し、麻疹対策に活用した。
［多屋馨子、谷口無我、山本明史、山本久美、佐藤弘］

(7) テレビ・ラジオCM、ポスター等の媒体を用いた麻しん風しん混合ワクチン接種推進活動の効果に関する検討

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（研究代表者　岡部信彦)」の研究の一貫として、各種媒体を用いた麻疹啓発に関して、評価・解析を行った。
［砂川富正、知念正雄(知念小児科)、浜端宏英（アワセ第一病院)、町田孝(沖縄県)、糸数公(沖縄県)、安井良則、山本久美、山田隆雄(厚生労働省)、多屋馨子、岡部信彦］

(8) ラオスにおける麻疹・風疹と CRS の疫学

WPRO における 2012 年の麻疹排除、および今後の EPI 戦略にかかわる風疹の血清抗体保有状況に関して、ラオスの首都ビエンチャンに居住する小学生を対象に血清疫学調査を実施した。麻疹は、予防接種キャンペーンが実施されたため、ワクチンによる免疫の獲得が考えられるが、風疹はラオス国内において、ワクチンは導入されていない。今後、感染等にかかわる危険因子の解析、さらなる調査を計画している。
[ペンサイ・マニライ(ウイルス第 3 部)、山本久美、牛島廣治(藍野大学)、駒瀬勝啓(ウイルス第 3 部)、渡邉治雄]

(9) 風疹に関する予防対策, 今後の風疹ワクチンのあり方に関する研究

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(研究代表者　岡部信彦、研究分担者　平原史樹)」の一貫として、先天性風疹症候群ならびに風疹対策として、国内の風疹患者、抗体保有状況、予防接種状況を検証し風疹罹患妊娠女性に関する二次相談窓口が設置ならびに産科領域における麻疹、水痘、ムンプスなどの院内感染問題についても検討した。
［平原史樹(横浜市立大学)、奥田実加(横浜市立大学)、駒瀬勝啓(ウイルス第 3 部)、寺田喜平(川崎医科大学)、種村光代（種村ウィメンズスクリニック)、川名尚（帝京平成看護短期大学)、多屋馨子、岡部信彦］

(10) 麻疹排除に対する効果的な社会動員に関する研究

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)」の委託研究として、麻疹排除を効果的に進めるためのテレビ・ラジオ用 CM を作成し、ポスターを作製した。これらのイメージキャラクターとして、沖縄県出身の歌手「Kiroro」の全面的な協力を得て起用した。CM は試験的な運用として沖縄県全域にて 5－7 月において放送し、その結果を約 3000 人規模のアンケートを実施し検証した。Kiroro を起用した CM の認知度は各年代において高かったが、3 期・4 期においては相対的に低く、また、麻疹の怖さが伝わらなかったとの結果となり、今後の改善が必要との結果になった。ポスターは厚生労働省・文部科学省・日本医師会の協賛として全国の保健・教育関係に数百万枚が配布された。

［砂川富正、山本久美、多屋馨子、安井良則、島田智恵、多田由紀、知念正雄（沖縄県はしか“0”プロジェクト）、岡部信彦］

3. 疾病の流行状況とワクチンの意義に関する研究

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）の協力研究者として、三重県下3市における、ロタウイルス感染性胃腸炎の入院例の調査を行った。また、この地域でのロタウイルスの流行株の特定、さらにはこれらの結果に基づいて、ロタウイルスワクチンの我が国への導入の検討を行った。

［中野貴司（国立病院機構三重病院）、井上和正（山田日赤病院小児科）、神谷敏也（松阪中央総合病院小児科）、井戸正流（三重中央医療センター小児科）、谷口孝喜（藤田保健衛生大学ウイルス、寄生虫学講座教授）、神谷元］

4. 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た。また、ワクチン需給予測プログラム開発事業において、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］

5. 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］

6. 自治体における予防接種管理ソフトの改良と普及に関する研究

各自治体において、定期予防接種あるいは自治体独自の任意接種に対する公費補助を一元的に管理する予防接種管理ソフトを改良し、普及に努めた。本年度は予防接種台帳出力機能を備えた。

［大日康史、菅原民枝、岡部信彦］

7. Hibワクチンに関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「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（研究代表者　岡部信彦）」の研究の一貫として、Hibワクチン接種後の健康状況調査ならびに副反応報告を迅速に収集するサーベイランス機能を構築し、無作為抽出した医療機関に調査依頼を行った。

［多屋馨子、岡部信彦、廣田良夫（大阪市立大学）、富樫武弘（札幌市立大学）］

8. 百日咳集団発生の調査に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「インフルエンザ及び近年流行が問題になっている呼吸器感染症の分析疫学研究（主任研究者　廣田良夫）」の分担研究として、高知県、秋田県、北海道における百日咳の集団発生における過去のワクチン接種の効果に関する研究を行った。百日咳は、年長者あるいは若年成人の間で流行が懸念されており、わが国においてもTdapなどの年長者向けワクチンの導入が今後要検討である。その基礎データを蓄積することを目的としている。

［砂川富正、島田智恵、神谷元、田中好太郎］

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」（研究代表者　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報告されたB型肝炎の発生状況をまとめた。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考えられた。

［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」(研究代表者　水落利明）の分担研究として、保育施設における血液の取り扱いに関する検討を行い、B型肝炎ワクチンの universal vaccination に向けた研究を行った。

［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（研究代表者神谷齊）の分担研究として、ポータルサイト“楽天Infoseek”、広島テレビ子育て応援団を利用した麻疹風疹予防接種に関する教育啓発に関して検討した。

［山本久美、多屋馨子、岡部信彦］

12.　日本脳炎に関する研究

(1)　わが国における日本脳炎の疫学に関する検討

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業　「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究　研究代表者　高崎智彦）の分担研究として、わが国における日本脳炎の現状と、日本脳炎ウイルスに関する検討を行った。近年の日本脳炎ウイルス活動状況を感染症流行予測調査事業、調査結果から解析し、予防接種状況と合わせて検討した。

[多屋馨子、佐藤弘、新井智、岡部信彦]

(2)　日本脳炎ウイルスに関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業（我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究　研究代表者　高崎智彦）の分担研究として、2003 年と 2008 年のブタ血清から分離したウイルス、家畜用に用いられている生ワクチン株に関してウイルス学的な検討を行った。［新井智、多屋馨子、小西英二(神戸大医学部)、高崎智彦(ウイルス一部)、倉根一郎(ウイルス一部)］

(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

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（研究代表者　岡部信彦)」の研究の一貫として、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を実施した。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、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。

［砂川富正、中島一敏、山本久美、佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦］

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

昨年度に続き、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。検体採取方法および検体運搬保存液を改良し、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た. MDCK 細胞によるウイルス分離および RT-PCR によるウイルスゲノムの検出と同定を行った。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」 (研究代表者　山口一成、研究分担者　多屋馨子)の一貫として、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(山口内科耳鼻咽喉科医院)、多屋馨子、荒木和子、佐藤弘、藤本嗣人、岡部信彦]

3. OPV 投与後のポリオウイルスの排出

初回 OPV 接種した乳幼児計(３名)の糞便を約 35 日間採取し、糞便中に排出されたポリオウイルス量を Real-time PCT により血清型別に検討し、排出量および排出期間について検討した。

[荒木和子、佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦]

4. 麻疹疑い例における検査室診断の実施

2008 年に発生した麻疹疑い例（鳥取県、東京都）について、抗体価測定および遺伝子検出による検査室診断を実施した。

［佐藤弘、多屋馨子］

5. 新しいハンタウイルスの検索

動物由来感染症対策の一環として新しいハンタウイルスの検索を行った。その結果、日本のモグラ科動物の一つであるヒミズに Asama virus の感染を確認した。本ウイルスは、典型的な食虫目由来ハンタウイルスがモグラ科動物に感染し、その後定着したウイルスであることが予想された。[新井智、岡部信彦、大館智志(北大低温研)、淺川満彦(酪農大獣医)、有川二郎(北大大学院)、Jin-Won Song(韓国コリア大学), Richard Yanagihara(米国ハワイ大学医学部)]

6. ダニ媒介性疾患発生地域における不明熱疾患の検索

ダニ媒介性疾患発生地域には、ダニ媒介性疾患が疑われるものの、感染源の明らかにならない熱性疾患の発生が認められている。その原因を検索する一環として島根県下のダニ媒介性疾患発生地域における不明熱疾患患者および病原体の検索を行った。その結果、ネオエルリキアを含む、複数のダニ媒介性感染体の存在を確認した。[新井 智、岡部信彦、田原研司 (島根県環境衛生研究所)、石原智明(酪農大獣医)]

7. フロックドスワブのウイルス検査における有用性に関する研究

臨床検体中のウイルス採取効率の最適化をする目的で、これまで使用してきたポリエステル製スワブとフロックドスワブ(microRheologicsS.r.l)を比較した。プレートに培養した細胞に感染させたアデノウイルスをぬぐって回収されたウイルスゲノム量を比べた。その結果、フロックドスワブが平均 9.46 倍（3.59～23.4 倍）アデノウイルス DNA の回収量が高く、アデノウイルス遺伝子検査の偽陰性を防ぐ一助になることが示唆された。

[藤本嗣人、榎本美貴(兵庫県立健康環境科学研究センター)、小長谷昌未、谷口清州]

8. 高速 PCR 法によるウイルス検査システムの開発

超高速 PCR システム(HyperPCR)をアデノウイルス診断へ適用した。その結果、17 分程度でこれまでの通常のリアルタイム PCR と感度および精度でアデノウイルスを定量的に検出できることがあきらかになった。

[藤本嗣人、小長谷昌未、坪井邦雄(トラスト)、谷口清州、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]

9. PCR による脳炎患者髄液からのエンテロウイルス 71 遺伝子の検出および定量

生後 20 ヶ月の脳炎患者髄液からエンテロウイルス 71 遺伝子を検出した。患者の髄液、咽頭ぬぐい液、直腸ぬぐい液からエンテロウイルス 71 が RT-nesuted PCR により検出され、髄液からは pan-enterovirus RT-nested PCR を使用してエンテロウイルス 71 が検出されたシークエンシングにより同定された。リアルタイム PCR による定量で咽頭ぬぐい液、直腸ぬぐい液、および髄液はそれぞれ 1.8×10^4 , 9.8×10^4 および 1.8×10 コピーのエンテロウイルスゲノムを含んでいた。培養によって直腸ぬぐい液からのみエンテロウイルス 71 が分離された。

10. 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。全ゲノム配列を解析中である。
（宗村徹也、藤本嗣人）

11. 急性胃腸炎の流行時の病原体検索

山梨県、徳島県等で発生した下痢症の流行に際して、病原体検索を実施してノロウイルスおよびロタウイルス、アデノウイルス等を検出して流行の病原体を明らかにした。
[松野重夫、藤本嗣人、村上裕子、岡部信彦]

12. 腸管凝集性付着性大腸菌（ＥAggＥＣ）の研究

既知の 4 種類の線毛遺伝子を保有しない EAggEC（*aggR* 陽性）について新しい線毛遺伝子を調べた。日本の主要な血清型 O111:H21 の株は病原関連遺伝子 *agg3B* と *astA* を保有していた。すでに明らかになっている AAF/III の遺伝子配列では agg3 遺伝子群は *agg3D*、*agg3C*、*agg3B*、*agg3A* と並び *astA* が逆向きに配置している。同じ配列なら *agg3B* と *astA* の forward primer の組み合わせで PCR 産物が増幅されることが予想され、試したところ予想通りの産物が増幅された。この産物の塩基配列は今までに報告されているどの線毛とも異なり、5 番目の線毛遺伝子であることが判明した。
[伊藤健一郎、蛭田徳昭(横須賀市)]

13. 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)］

14. 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査した。［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）］

15. Real-time RTPCR による新たな麻疹ウイルス遺伝子定量検出法の開発

Real-time RT PCR による麻疹ウイルス N 遺伝子の定量・検出法を開発した。新たなプライマー及びプローブの開発も行った。本法により、種々の遺伝子型（A, D3, D5, D9 及び H1）の麻疹ウイルス遺伝子が高感度かつ特異的に定量可能になった。［秋山美穂、塚越博之（群馬県衛生環境研究所）、水田克巳、（山形県衛生検査所）、平良勝也（沖縄県衛生環境研究所）、秋山美穂、野田雅博（ウイルス第 3 部）、田代真人（同）、岡部信彦、木村博一］

Ⅵ. 学会の中での研究、貢献

1. 日本ワクチン学会

理事として、ワクチン関連トピックスの原稿作成、学会運営に関与した。
［岡部信彦、谷口清州、多屋馨子］

2. 日本小児科学会

予防接種・感染対策委員会の委員として活動した。
［岡部信彦（委員長）、多屋馨子（委員）］

3. 日本環境感染学会

ワクチン接種プログラム作成委員会の委員として活動した。
［岡部信彦（委員長）、多屋馨子（委員）］

4.　日本小児保健学会

予防接種感染症委員会の委員として活動した。
［多屋馨子］

5.　日本小児感染症学会

研究教育委員会の委員として活動した。
［多屋馨子］
情報委員会委員長として活動した［岡部信彦］

6.　日本性感染症学会

平成 20 年度性感染症学会学術大会総会の運営を行なった（大会長　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、齊藤剛仁、佐藤弘、冨澤伸五、加藤信子、大竹由里子、前田明日香、FETP 研修生 9・10 期生、神谷元、松井一乃、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ー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、「海外感染症情報」として WHO の感染症アウトブレイクニュースを中心に最新の海外感染症に関する記事を紹介している。その他、本年度は不十分ではあったが、「感染症の話」として感染症法に規定された疾患など感染症の解説を行い、「読者のコーナー」として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公開している。

［岡部信彦、多田有希、安井良則、島田智恵、齊藤剛仁、、森兼啓太、佐藤弘、神谷元、谷口清州、多屋馨子、山下和予、赤塚昌江、徳永真里子、加藤信子、冨澤伸五、大竹由里子、前田明日香、FETP 研修生 9&10 期生、松井珠乃、砂川富正、大山卓昭、山本久美］

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。2008 年 1 月ー2008 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 7,572 件、病原体個票は病原菌が地研・保健所 4,030 件、検疫所 4 件、ウイルス（リケッチア，クラミジアを含む）が地研 14,662 件、検疫所 6 件、集団発生病原体票は病原菌が地研 267 件、検疫所 15 件、ウイルスが地研 837 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌が地研 322 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 29 巻）および第 29 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 2004 年年報を、Japan J. Infect. Dis., 2005 Vol.58 Supplement として編集中である。

(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 959 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、齊藤剛仁、岡部信彦］

4. 感染症発生動向調査 週報・月報 速報データの作成・公開

感染症発生動向調査により集計された報告数を、感染症週報での公開（通常金曜日）より早く公開するため、2008 年第 47 週から、速報データとしての公開を実施している。

［島田智恵、前田明日香、加藤信子、安井良則、多田有希］

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。2008 年度は 2007/2008 年シーズンに含まれる 2008 年第 14 週～第 20 週、2008/2009 年シーズン中の 2008 年第 45 週～2009 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］

6. 麻しん速報グラフの作成

感染症発生動向調査により得られた麻しんの報告をもとにグラフ及び日本地図を作成し、毎週火曜日に感染症情報センターのホームページ上に公開した。この公開は2008年第3週から新たに開始したものであり、週別報告数（第 1 週～当該週の棒グラフ）、都道府県別報告数（当該週分の棒グラフ）、都道府県別病型別報告数（第 1～当該週累積分の棒グラフ）、都道府県ワクチン接種歴別報告数（第 1～当該週累積分の棒グラフ）、年齢群別ワクチン接種歴別報告数（第 1～当該週累積分の棒グラフ）、都道府県別累積報告数（第 1～当該週累積分の日本地図）、都道府県別報告状況（第 1～当該週の週毎の日本地図）の 7 種類の作成を行った。

［島田智恵、前田明日香、徳永真里子、加藤信子、山下和予、安井良則、多田有希、阿保満（東京都健康安全研究センター）］

7. 麻しん報告数のWHO西太平洋事務局への報告

感染症発生動向調査により得られた麻しんの報告数をもとに、WHO の報告形式に適合した集計表を月毎に作成し、WHO 西太平洋事務局に報告した。

［島田智恵、山下和予、安井良則、多田有希、岡部信彦］

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。2006 年 4 月に新たなシステム（NESID）が稼動開始された。NESID 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てきた。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、島田智恵、加藤信子、冨澤伸五、大竹由里子、前田明日香、柴田博子、谷口清州］

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、ボカウイルスなど新しく発見された病原体や型別追加に対応するため、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

2006年4月から運用開始した感染症流行予測調査システムは、運用3年目に入り2008年度のデータ登録、集計、検索など一連の作業が滞りなく行われた。しかし、以前から各自治体より要望されている担当者の作業時間の負担を軽減するための改善はまだ実現されていない。データ登録の効率化と確実性を図る改善を今後も引き続きの課題としてシステム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、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、齊藤剛仁、神谷元、FETP研修生9期&10期生、浜本いつき、菅原民枝、森兼啓太、大山卓昭、砂川富正、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。2008年度にはインフルエンザのコーナーにおいて流行状況やインフルエンザに関するQ&Aを掲載し、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。百日咳のコーナーでは、百日咳の流行状況や2008年から開始した百日咳DB（データベース）を掲載し、情報の提供を行った。2007年、2008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、大竹由里子、前田明日香、加藤信子、森兼啓太、佐藤弘、山

本久美、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 18 年度（2006 年度）報告書を作成した。

［多屋馨子、佐藤弘、山本久美、北本理恵、谷口無我、山本明史、荒木和子、浜本いつき、新井智、岡部信彦］

2.　感染症流行予測調査結果速報の発信

平成 20 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 2008 年 11 月 28 日から 2009 年 1 月 23 日まで計 3 回、ブタの日本脳炎 HI 抗体保有状況を 2008 年 7 月 4 日から 11 月 28 日まで計 18 回、ならびにポリオ、日本脳炎、風疹、麻疹の抗体保有状況、予防接種状況を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、山本久美、荒木和子、新井智、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 20 年度版を作成した。

［多屋馨子、佐藤弘、谷口無我、山本明史、山本久美、北本理恵、荒木和子、新井智、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月に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。衛生微生物技術協議会の関連会議として感染症流行予測調査事業担当者会議を開催し、当該年度の調査に対する注意点や変更点などの説明や検査現場の声を関係者が共有化する場を設け事務局として業務の円滑な運営を進めている。

［多屋馨子、佐藤弘、山本久美、北本理恵、荒木和子、新井智、岡部信彦］

Ⅴ．サーベイランス事業の支援

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）、筒井敦子（同）、小西敏郎（NTT 東日本関東病院）、針原康（同）、キーウェアソリューション株式会社、清哲郎（厚生労働省医政局指導課）］

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、山本久美、大日康史、夛田有希、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運用した。昨年度までに収集した評価済み情報データベースの維持を行い、2008 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、より良い検出アルゴリズム開発、言語学的処理技術を駆使した情報選別の技術導入等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、大山卓昭、FETP 9 期&10 期、大竹由里子、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、森兼啓太、山本久美、多屋馨子、大日康史、神谷元、谷口清州、岡部信彦、］

5. インフルエンザパンデミック対策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、夛田有希、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. 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、2007 年に同リスクコミュニケーションとリスクマネジメントの WG が発案した CBRN 早期検知と早期対応のプロジェクト（EAR Project）について、アジアの中の日本の立場から議論に参加し、情報インテリジェンスに関しての技術支援を行った。

[重松美加、Nigel Collier（国立情報学研究所）、谷口清州、牧野友彦（厚生労働省大臣官房厚生科学課）]

2. 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、会議における議長あるいは副議長担当など、技術的支援、貢献を行った。

[森兼啓太、砂川富正、松井珠乃、重松美加、谷口清州、多屋馨子、多田有希、岡部信彦]

3. 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。

[砂川富正、村上仁（国立国際医療センター）]

4. JICA インドネシア鳥インフルエンザサーベイランス強化プロジェクト支援

2008 年 10 月から開始された JICA による同プロジェクトの先遣調査隊として、7 月にインドネシアにて調査を行った。また、プロジェクト開始後は、インドネシア南スラウェシ州にて、現地に於ける支援を行った。今後、本プロジェクトは 3 年をかけて行われることとなり、継続的な協力を行っていく。また、平成 21 年 4 月 25 日、26 日 Indonesia, Makassar, SouthSulawesi にて行われた新型インフルエンザアウトブレイクの演習へも参加した。

[砂川富正、島田智恵、神谷元、吉田真紀子、田中好太郎、谷口清州、岡部信彦]

Ⅱ．国際研修

海外からの来所者への感染症情報センターの活動および感染症対策に関する情報提供と広報

国立国際医療センター海外研修生、JICA 留学生、各国保健医療および政府関係者などの来所時に、感染症情報センターの活動、国内感染症の発生動向、国内および国際連携による感染症対策の現状、予防接種、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、藤本嗣人、大日康史、重松美加、森兼啓太、大山卓昭、砂川富正、山下和予、夛田有希、多屋馨子、山本久美］

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 10 年目となり、平成 20 年 4 月、10 期生 4 名（山岸拓也、土橋酉紀、冨岡鉄平、高橋秀明）を迎えた。平成 21 年 3 月には 9 期生 6 名（池田雄史、田中好太郎、掘成美、吉田眞紀子、杉下由之、土田賢一）が研修終了した。また平成 13 年度から継続して招聘していた長期コンサルタント Dr. John Kobayashi（Washington University, 米国）は、本年度から短期コンサルタントとして招聘することになった。

2. 感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 20 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。

施設内呼吸器感染症集団発生事例（静岡県藤枝市）
細菌性赤痢集団発生事例（福岡県福岡市）
レプトスピラ症集団発生事例（沖縄県那覇市・名護市）
施設内アシネトバクター分離症例集積事例（福岡県福岡市）

3. 研修活動

FETP のトレーニングの一環として、初期導入研修前期（John Kobayashi ; 4 月）、初期導入研修後期（John Kobayashi, Chan-Hsien Chiu, & Donald Dah-Shyong Jiang; 7-8 月）とともに、性感染症の予防と対策（Somesh Guputa; 12 月）、国際的なインフルエンザ・パンデミック対応（Tim Uyeki ; 2 月）、アフリカにおける感染症対策（Afari： 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、新型インフルエンザ対策ブロック会議での講義、地方自治体の感染症危機管理研修会（秋田県、群馬県、京都、沖縄県、大阪府等）での講義・討論をおこなった。

5. 感染症疫学研究

平成20年度に研修終了した9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。

「結核病棟および一般病棟を有する病院における、結核病棟看護職員、一般病棟看護職員の間での、QFT を用いた結核感染率の比較と検討」池田雄史、「小児におけるペニシリン中等度耐性肺炎球菌を起因菌とする急性中耳炎の関連因子について」田中好太郎、「HIV 感染症診療におけるパートナー健診勧奨の現状と課題」掘成美、「調剤薬局ネットワークの構築とインフルエンザ・サーベイランスシステムに関する研究」吉田眞紀子、「救急搬送サーベイランスの早期警告システムとしての有用性についての検討」杉下由之、「医療機関の感染症の発生動向に関する情報の入手と活用に関する研究」土田賢一。

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、レプトスピラ症の発生動向、性感染症の発生動向に基づいた提言、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、百日咳など）、鳥インフルエンザ等に関する問い合わせ（電話・電子メールなど）に対応した。

［岡部信彦、FETP 9 期&10 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18日、19日に開催した。2008年度の事務局は、砂川富正、大山卓昭、長壁美智子が担当した。研修内容として、「国の危機管理体制について」「感染症法改正について」「予防接種に関する政省令の変更について」「わが国におけるプレパンデミックワクチン開発の現状と臨床研究」「公衆衛生対応について－自治体で検討すべきこと－」「Phase5以降における疫学調査（試案）とリスクコミュニケーションについて」「インフルエンザの新しいワクチン（粘膜ワクチンを中心に）」「行政検査に欠かせない病原体採取方法の一般的な原則について」「医療器具による感染リスクとその対策について」「アウトブレイク対応の実例① 大学で発生した百日咳に対する対応」「アウトブレイク対応の実例② 静岡県藤枝市における肺炎集団発生事例」「アウトブレイク対応の実例② 秋田県における麻疹対応（大館市事例を中心に）」「麻疹排除計画初年度の状況」「ワクチンの考え方」「改訂国際保健規則（IHR2005）導入の国内外における進捗状況」「国際的な感染症の移動－最近の昆虫媒介感染症の動向を例に－」「食中毒、特に広域事例の動向・対策について」「感染症集団発生時の疫学調査」、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. 国立保健医療科学院による新興再興感染症技術研修の実施

国立保健医療科学院による新興再興感染症技術研修を、平成２０年 11 月４日から 11 月２１日まで、感染症研究所村山庁舎で行った。地方衛生研究所あるいは保健所において細菌検査業務に従事する中級者を対象として、細菌学の体系的な理解と新しい知識及び技術の習得を目的としている。保健所・地方衛生研究所合計２０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、大分県衛生環境研究センター、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］

2. 短期研修ウイルス研修

国立保健医療科学院による特定課程新興再興感染症技術研修を、平成20年9月30日から10月30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ウイルス検査業務に従事する専門職員を対象として、種々の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、地方衛生研究所23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、岡部信彦］

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20年度は対象疾患（および病原体）として、麻疹・風疹、アルボウイルス（チクングニヤウイルス）、インフルエンザウイルス、アタマジラミ、リフトバレーウイルス、赤痢、野兎病・ブルセラ症、寄生虫症（原虫症、アニサキス症など）、ダニ媒介性感染症（リケッチア症など）が取り上げられた。また、法改正に伴う病原体管理についても講義された

研修会は平成20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、72地研、約128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、ウイルス第三部、細菌第一部、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、獣医科学部、感染症情報センター等の協力により行われた。

［藤本嗣人、松野重夫、岡部信彦、倉根一郎（ウイルス第一部）］

2. 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、予防接種に関して研修を行った。

［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、神谷元、夛田有希、安井良則、多屋馨子、佐藤弘、山本久美、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、佐藤弘、山本久美、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、鳥インフルエンザ国内発生例対応、パンデミック対策ガイドライン解説、麻疹流行状況、百日咳流行状況、食中毒情上、およびこれらの予防対策など）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 社、150 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．血清の保管および血清払い出し業務

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 20 年度に受け入れた血清は、計 3,777 であった。また、血清使用申請があった場合には血清銀行委員会の審査後払い出しを行っている。平成 20 年度は申請がなかったため、払い出しは行わなかった。

［多屋馨子、荒木和子、谷口無我、山本明史、佐藤弘、山本久美、新井智、岡部信彦］

２．職員血清の保管業務

平成 20 年職員血清、計 474 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、山本久美、新井智、岡部信彦］

Ⅲ．予防接種に関する業務

1．　予防接種情報公開に関する業務

(1)　感染症情報センターHP 内に日本の予防接種スケジュール 2008 を公開した。

(2)　感染症情報センターHP 予防接種のページを更新した。

［多屋馨子、前田明日香、佐藤弘、山本久美、岡部信彦］

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 2007～2008 年シーズンに引き続き、2008 ～2009 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、小長谷昌未、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、大日康史、山本久美］

ワクチン産業ビジョン推進委員会

［岡部信彦、大日康史］

ワクチン産業ビジョン推進委員会ワーキンググループ

［多屋馨子、神谷元］

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。

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）

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』）
- 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）

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）
- 東京医療保健大学非常勤講師（感染制御学）

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）

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

・群馬大学医学部医学科講師（ウイルス学・感染症学）

Ⅶ. 検査実施状況

	行政	研究	合計
ウイルス分離同定	63	573	636
核酸・抗原検出	0	920	920
血清反応	0	14	14
合計	63	1507	1570

［藤本嗣人、佐藤弘、荒木和子、多屋馨子］

Ⅷ. 研究員・研究生

氏　　名	身　　分	期　　間	出　　身
中村明子	客員研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東京大学
金沢　保	客員研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	産業医科大学
押谷　仁	客員研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東北大学大学院
西尾　治	客員研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	元職員
John M. kobayashi	客員研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	ワシントン保健局
木村幹男	客員研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	財団法人結核研究所
浜本いつき	流動研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	ヒューマンサイエンス新興財団
山岸拓也　（FETP）	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	大和市立病院
冨岡鉄平　（FETP）	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	自衛隊中央即応集団司令部
土橋酉紀　（FETP）	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	岡山大学大学院
高橋英明　（FETP）	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	実地疫学専門家養成コース
五十嵐正巳	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	自衛隊舞鶴病院
高橋亮太	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	厚生労働省結核感染症課
池田雄史	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	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	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	都立駒込病院
吉田眞紀子	協力研究員	H19. 4. 1- H20. 3.31	市立堺病院
杉下由行	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東京都福祉保健局
土田賢一	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	横浜市港南福祉保健センター
徳田浩一	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	鹿児島大学医学部
山田文也	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	埼玉県衛生研究所
中瀬克巳	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	岡山市保健所
加來浩器	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東北大学大学院
田中　毅	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	福岡保健所
浦島充佳	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東京慈恵会医科大学
松永泰子	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	元職員
藤井達也	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	三宿病院・自衛隊中央病院
堀　佳美	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	医療法人済恵会須藤病院
島田　靖	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	日本医科大学救急医学講座
吉田英樹	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	大阪市保健所
森　伸生	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	関西医科大学小児科
齋藤章暢	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	埼玉県衛生研究所
三村敬司	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	陸上自衛隊衛生学校
山口　亮	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	北海道庁石狩保健福祉事務所

森山和郎	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	大阪府健康づくり感染症課
鈴木葉子	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 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	H20. 4. 1- H21. 3.31	岩手県環境保健研究センター
森下高行	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	愛知県食品衛生検査所
松崎充宏	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	(社)日本海事検定協会
宗村徹也	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	横浜市食肉衛生検査所
飯田真里子	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東京医科歯科大学大学院
太田正樹	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	財団法人結核研究所
神垣太郎	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東北大学大学院
小林幹子	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東北大学先進医工学研究機構
登坂直規	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東京医科歯科大学
阿保　満	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東京都福祉保健局健康安全室
鷲見　宏	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	兵庫県西播磨県民局
鈴木智之	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	群馬県衛生環境研究所
愛木智香子	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	(財)日本冷凍食品検査協会
宮城裕人	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	聖マリア病院
井内田科子	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	内閣府大臣官房国際課
Nguyen Minh	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.9	東京大学、ﾍﾞﾄﾅﾑ国立衛生疫学研究所
村上裕子	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	獣医師
岡崎　薫	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	東京都立八王子小児病院
赤尾寿美子	協力研究員	H20. 4. 1- H20. 11.20	マニハ食品(株)
神谷　元	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	エモリー大学大学院
小長谷　昌未	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	トラスト(株)
橋本　和宏	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	トラスト(株)
榎本美貴	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	兵庫県健康環境科学研究センター
有田知子	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	(独)日本スポーツ振興ｾﾝﾀｰ
吉田昌功	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	防衛省
牧　隆之	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	防衛省
川端利信	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	防衛省
柏原　茂	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	防衛省
小田興志郎	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	防衛省
成松浩志	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	大分県衛生環境研究センター
高木雅之	協力研究員	H20. 4. 1- H21. 3.31	防衛省
Bi Zhenwang	協力研究員	H20. 9. 29- H21. 10.10	山東省疾病予防控制中心伝染病防制所
Wu Xuehong	協力研究員	H20. 9. 18- H21. 8.31	広州市疾病予防ｺﾝﾄﾛｰﾙｾﾝﾀｰ
井上浩利	研究生	H20. 7. 14- H20. 7.26 H20. 9. 1- H20. 9.13	福岡大学医学部

発表業績一覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1) Kamiya, H, Okabe, N. Leadership in Immunization: The relevance to Japan of the U.S.A. experience of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Vaccine*. 27 (11)：1724-1728. 2009.

2) Okabe, N. Combined MR vaccine introduced in Japan. *Jap Med Assoc J*. 51(3): 191-196. 2008.

3) Ogata, T., Yamazaki, Y., Okabe, N., Nakamura, Y., Tashiro, M., Nagata, N., Itamura, S., Yasui, Y., Nakashima, K., Doi, M., Izumi, Y., Fujieda, T., Yamato, S. and Kawada, Y.: Human H5N2 avian influrnza infection in Japan and the factors associated with high H5N2-neutralizing antibody titer.. *Journal of Epidemiology.* 18(4): 160-166. 2008.

4) Kobayashi, S., Murayama, S., Takanashi, S., Takahashi, K., Miyatsuka, S., Fujita, T., Ichinohe, S., Koike, Y., Kohagizawa, T., Mori, H., Deguchi, Y., Higuchi, K., Wakasugi, H., Sato, T., Wada, Y., Nagata, M., Okabe, N., and Tatsuzawa, O. Clinical features and prognosisi of 23 patients with CGD followed 21 years by a single hospital in Japan. *European Journal of Pediatrics.* 167:1389-1394. 2008.

5) Nagano T, Morishima T, Kimura H, Yokota S, Yamashita N, Ishiwata T, Kurihara M, Miyazaki C and Okabe N. Acute encephalopathy in Japan

6) Maeda, H., Ohkusa, Y., Aihara, K. Effect of facility in the SEIR epidemic model. *Artif Life Robotics*, 12：172-175, 2008

7) Ohkusa, Y., Maeda, H., Aihara K. Assessing the potential Effectiveness of Shutting Down Transportation Systems to Contain Pandemic Influenza in a Megacity Area. *Mathematical engineering technical reports*, 1-13, 2008.

8) Ohkusa, Y., Sugawara, T. Simulation Model of Pandemic Flu in the Whole of Japan, *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 62(2): 98-106. 2009.

9) Mondal, Md. N. I., Takaku, H., Ohkusa, Y., Sugawara, T., Okabe, N. HIV/AIDS Acquisition and Transmission in Bangladesh: Turning to the Concentrated Epidemic. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 62(2)：111-119. 2009.

10) Yoshida, M., Matsui, T., Ohkusa, Y., Kobayashi, J., Ohyama, T., Sugawara, T., Yasui, Y., Tachibana, T., Okabe, N. Seasonal influenza surveillance using prescription data for anti-influenza medications manuscript. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 62(2)：233-235. 2009.

11) 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, K., Matsuimoto, A., Okabe, N. An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan. *Epidemiology and Infection.* 136：492-495. 2008.

12) Collier, N., Kawazoe, A., Doan, S., Shigematsu, M., Taniguchi, K., Jin, L., McCrae, J., Chanlekha, H., Dien, D., Hung, Q., Nam, V.C., Takeuchi, K., Kawtrakul, A. Detecting Web rumours with a multilingual ontology supported text classification system. *Advances in Disease Surveillance*. 4：242. 2007.

13) Collier, N., Kawazoe, A., Doan, S., Shigematsu, M., Taniguchi, K., Jin, L., McCrae, J., Dien, D., Ngo, Q.H., Takeuchi K., Kawtrakul, A. Ontology-driven influenza surveillance from Web rumours. Proceedings of the 2007 Options for the Control of Influenza VI, ed. Katz JM. *International Medical Press.* 225-226. 2008.

14) Kawazoe, A., Chanlekha, H., Shigematsu, M., Collier, N. Structuring an event ontology for disease outbreak detection. *BMC Bioinformatics*. 9 (Suppl 3) : S8. 2008.

15) Yasuda, H., Yoshizawa, N., Kimura, M., Shigematsu, M., Kawachi, S., Oshima, M., Yamamoto, K., Suzuki, K. Preparedness for the spread of influenza: prohibition of traffic, school closure, and vaccination of children in the commuter towns of Tokyo. *Journal of Urban Health*. 85 (4)： 619-635. 2008.

16) Collier, N., Doan, S., Kawazoe, A., Goodwin, R.M.,

Conway, M., Tateno, Y., Ngo Q.H., Dien, D., Kawtrakul, A., Takeuchi, K., Shigematsu, M., Taniguchi, K. BioCaster: detecting public health rumors with a Web-based text mining system. *Bioinformatics*. 24 (24)：2940-2941. 2008.

17) Yamamoto, A., Iwahori, J., Vuddhakul, V., Charernjiratragul, W., Vose, D., Osaka, K., Shigematsu, M., Toyofuku, H., Yamamoto, S., Nishibuchi, M., Kasuga, F. Quantitative modeling for risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in bloody clams in southern Thailand. *International Journal of Food Microbiology*. 124 (1)：70-78. 2008.

18) Mori, N., Ohkusa, Y., Ohyama, T., Tanaka-Taya, K., Taniguchi, K., Kobayashi, J.M., Doy, M., Okabe, N. Estimation of measles vaccine coverage needed to prevent transmission in schools. *Pediatrics International*. 50(4)：464-468. 2008.

19) Sunagawa, T. Global Alert and Response Against Emerging and Reemerging Infectious Diseases - an Overview-. *Global Environmental Research*. 12: 63-67. 2008.

20) Sunagawa, T., Shimada, T., Ueno-Yamamoto, K., Yamashita, K., Tanaka-Taya, K., Tada, Y., Yasui, Y., Matsui, T., Taniguchi, K., Kobayashi, J., Okabe, N. Progress Toward Measles Elimination – Japan, 1999-2008. *MMWR* 57：1049-1052. 2008.

21) Tada, Y., Okabe, N., Kimura, M. Traveler's risk of malaria by destination country: A study from Japan. *Travel Medicine and Infectious Disease* 6: 362-372. 2008.

22) Saitoh, T., Iyoda, S., Yamamoto, S., Lu, Y., Shimuta, K., Ohnishi, M., Terajima, J., Watanabe, H. Transcription of enterohemolysin gene is positively regulated by GrlA, a global regulator encoded within the locus of enterocyte effacement in enterohemorrhagic *Escherichia coli. Journal of Bacteriology.* 190(14): 4822-4830. 2008.

23) Ohkusa, Y., Ohyama, T., Tanaka-Taya, K., Taniguchi, K., Kobayashi, J. M., Doy, M., Okabe, N. Estimation of measles vaccine coverage needed to prevent transmission in schools. *Pediatrics International*. 50(4): 464-468. 2008.

24) Ohji, G., Satoh, H., Satoh, H., Mizutani, K., Iwata, K., Tanaka-Taya, K. Congenital measles caused by transplacental infection. *Pediatric Infectious Diseases Journal*. 28(2): 166-167. 2009.

25) Sugawara, T., Ohsuka, Y., Tanaka-Taya, K., Yasui, Y., Wada, N., Sakano, M., Koshida, R., Fujii, F., Shibata, S., Hashimoto, G., Utsumi, H., Sumitomo, M., Ishihara, M., Kondo, H., Sato, H., Ueno, K., Araki, K., Okabe, N. Diarrhea as a minor adverse effect due to oral polio vaccine. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 62(1): 51-53. 2009.

26) Arai, S., Bennett, S. N., Sumibcay, L., Cook, J. A., Song, J. -W., Hope, A., Parmenter, C., Nerurkar, V. R., Yates, T. L., Yanagihara, R. Phylogenetically Distinct Hantaviruses in the Masked Shrew (*Sorex cinereus*) and Dusky Shrew (*Sorex monticolus*) in the United States. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 78: 348-351. 2008.

27) Arai, S., Matsunaga, Y., Takasaki, T., Tanaka-Taya, K., Taniguchi, K., Okabe, N., Kurane, I. and VDSJ. Japanese Encephalitis: surveillance and elimination effort in Japan from 1982 to 2004. *Japanese Journal of Infectious Diseases.* 61: 333-338. 2008.

28) Oka, H., Tabara, A., Fujisawa, K., Jinnai, M., Nakajima, R., Arai, S., Ishihara, C and Tsuji, M. *Babesia rodhaini*: The protective effect of pyruvate kinase deficiency in mice. *Experimental Parasitology.* 120: 290-294. 2008.

29) Arai, S., Ohdachi, D. S., Asakawa, M., Kang, H. J., Mocz, G., Arikawa, J., Okabe, N. and Yanagihara, R. Molecular phylogeny of a newfound hantavirus in the Japanese shrew mole (*Urotrichus talpoides*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 105: 16296-16301. 2008.

30) Fujimoto, T., Yoshida, S., Munemura, T., Taniguchi, K., Shinohara, M., Nishio, O., Chikahira, M., Okabe, N. Detection and quantification of enterovirus 71 genome from cerebrospinal fluid of an encephalitis

patient by PCR applications. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 61(6): 497-499. 2008.

31) Suzuki, S., Shibata, N., Yamane, K., Wachino, J., Ito, K., Arakawa, Y. Change in the prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 63(1): 72-79. 2009.

32) Okazaki, K., Kondo, M., Kato, M., Kakinuma, R., Nishida, A., Noda, M., Taniguchi, K., Kimura, H. Serum cytokine and chemokine profiles in neonates with meconium aspiration syndrome. *Pediatrics*. 121(4): e748-e753. 2008.

33) Taira, K., Nakamura, M., Okano, S., Nidaira, M., Kudaka, J., Itokazu, K., Taira, T., Itokazu, T., Chinen, M., Sunagawa, T., Kimura, H. Phylogenetic analysis of nucleoprotein (N) gene of measles viruses prevalent in Okinawa, Japan during 2003-2007. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 61(3): 248-250. 2008.

34) Yamaguchi, T., Kimura, H., Kurabayashi, M., Kozawa, K., Kato, M. Interferon-γ enhances human eosinophil effector functions induced by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor or interleukin-5. *Immunology Letter*. 118(1): 88-95. 2008.

35) Mizuta, K., Abiko, C., Aoki, Y., Suto, A., Hoshina, H., Itagaki, T., Katsushima, N., Matsuzaki, Y., Hongo, S., Noda, M., Kimura, H., Ootani, K. Analysis on monthly isolation of respiratory viruses from children by cell culture using a modified microplate method: a two-year study from 2004 to 2005 in Yamagata, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 61(3): 196-201. 2008.

36) Nakazato, Y., Tanaka, R., Seki, E., Iijima, M., Kojima, M., Yoshizumi, M., Kato, M., Kimura, H., Kozawa, K., Goya, T. Differential diagnosis of primary versus metastatic pulmonary adenocarcinomas using gene mutation analyses: A case report. *Journal of Thoracic Oncology*. 3(8): 931-984. 2008.

37) Yoshizumi, M., Nakamura, T., Kato, M., Ishioka, T., Kozawa, K., Wakamatsu, T., Kimura, H. Release of cytokines/chemokines and cell death in UVB-irradiated human keratinocytes, HaCaT. *Cell Biology International*. 32(11): 1405-1411. 2008.

38) Okazaki, K., Kondo, M., Kato, M.., Nishida, A., Shigeru, N., Takahashi, H., Noda, M., Kimura, H. The temporal alterations of sera cytokines/chemokines concentrations with sepsis due to group B streptococcus infection in a neonate. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 61(5): 382-385. 2008.

39) Ogane, T., Hirata, A., Funatogawa, K., Kobayashi, K., Sato, T., Kimura, H. Food Poisoning Outbreak Caused by Norovirus GII/4 in School Lunch, Tochigi Prefecture, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 61(5): 423-424. 2008.

40) Boonmar, S., Markvichitr, K., Chaunchom, S., Chanda, C., Bangtrakulnonth, A., Pornrunangwong, S., Yamamoto, S., Suzuki, D., Kozawa, K., Kimura, H., Morita, Y. Prevalence of Salmonella in Slaughtered Pigs and Buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. *Journal of Veterinary Medical Sciences*. 70(12): 1345-1348. 2008.

41) Mukai, H., Hokari, Y., Seki, T., Takao, T., Kubota, M., Matsuo, Y., Tsukagoshi, H., Kato, M., Kimura, H., Shimonishi, Y., Kiso, Y., Nishi, Y., Wakamatsu, K., Munekata, E. Discovery of mitocryptide-1, a neutrophil-activating cryptide from healthy porcine heart. *Journal of Biological Chemistry*. 283 (45): 30596-30605. 2008.

42) Saitoh, M., Kimura, H., Kozawa, K., Shoji, A. Molecular evolution of HA1 in influenza A (H3N2) viruses isolated in Gunma, Japan, from 1989 to 2006. *Intervirology*. 51(6): 377-384. 2009.

43) Shinkawa, N., Noda, M., Yoshizumi, S., Tokutake, Y., Shiraishi, T., Arita-Nishida, T., Nishio, O., Oka, T., Hansman, G. S., Takeda, N., Kimura, H. Molecular epidemiology of noroviruses detected in food handler-associated outbreaks of gastroenteritis in Japan. *Intervirology*. 51(6): 422-426. 2009.

44) Sakano, C., Morita, Y., Shiono, M., Yokota, Y., Mokudai, T., Sato-Motoi, Y., Noda, A., Nobusawa, T., Sakaniwa, H., Nagai, A., Kabeya, H., Maruyama, S., Yamamoto, S., Sato, H., Kimura, H. Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars (*Sus*

scrofa leucomystax) and pigs in Gunma Prefecture, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 71(1): 21-25. 2009.

45) Nakagawa-Okamoto, R., Arita-Nishida, T., Toda, S., Kato, H., Iwata, H., Akiyama, M., Nishio, O., Kimura, H., Noda, M., Takeda, N., Oka, T. Detection of Multiple Sapovirus Genotypes and Genogroups in Oyster-Associated Outbreaks. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 62(1): 63-66. 2009.

46) Mizuta, K., Matsuzaki, Y., Hongo, S., Ohmi, A., Okamoto, M., Nishimura, H., Itagaki, T., Katsushima, N., Oshitani, H., Suzuki, A., Furuse, Y., Noda, M., Kimura, H., Ahiko, T. Stability of seven hexon hypervariable region sequences of adenovirus types 1-6 isolated in Yamagata, Japan between 1988 and 2007. *Virus Research*. 140(1-2): 32-39. 2009.

47) Zaraket, H., Saito, R., Tanabe, N., Taniguchi, K., Suzuki, H. Association of early annual peak influenza activity with El Niño southern oscillation in Japan. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 2(4) : 127-130, 2008

48) Taniguchi, K., Yoshida, M., Sunagawa, T., Tada, Y., Okabe, N. Imported infectious diseases and surveillance in Japan. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 6 : 349-354, 2008.

２．和文発表

1) 岡部信彦：天然痘．特集：新興再興感染症．最新医学 63:650-660. 2008.

2) 岡部信彦：定期予防接種の改正（平成 20 年 4 月より）．小児臨床． 61(4):889-894. 2008.

3) 岡部信彦：感染症対象疾患分類の見直し．化学療法の領域 24(4)：541-546. 2008.

4) 岡部信彦：わが国における麻疹排除へのスタート．小児科．49(4)481-487. 2008.

5) 岡部信彦：出血性大腸菌感染症およびその他の細菌性腸管感染症．特集:小児科領域の院内感染. 小児科．49(5):643-648. 2008.

6) 岡部信彦：一類感染症．特集:改正感染症法の基礎知識．臨床と微生物．35(3):217-222. 2008.

7) 岡部信彦：わが国における予防接種対策．－最近の麻疹流行の問題点と対策の変化-．感染・炎症・免疫．38(2):172-174. 2008.

8) 岡部信彦：ウイルスによる新興感染症とその対策．ウイルスハンドブック． 編集・河野 茂. 日本医学館．pp. 10-13. 2008. 6.

9) 岡部信彦：新型インフルエンザの動向．保育と保健 14(2):114-118. 2008.

10) 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器具と準備の必要性-．警察学論集. 61(8)： 125-138. 2008.

11) 岡部信彦．H5N1 鳥インフルエンザの現状について．小児感染免疫．20(3):323-329. 2008.

12) 岡部信彦、山本久美、佐藤弘、島田智恵、安井良則、山下和予、松井珠乃、砂川富正、中島一敏、木村博一、多田有希、谷口清州、多屋馨子．予防接種法および感染症法改正後の麻疹およびその対策の状況．小児科臨床 61(11):2149-2156. 2008.

13) 岡部信彦．かぜとインフルエンザ．少年写真新聞社 2008. 11.

14) 高山直秀、崎山 弘、岡部信彦、橋本 哲．改正結核予防法施行後の全国ＢＣＧワクチン累積接種率－2007 年調査-． 日本医事新報 4386:75-78. 2008.

15) 加来浩器、岡部信彦：生物剤．ＮＢＣテロ対処ハンドブック．pp. 33-44 編・CBRNE テロ対処研究会 診断と治療社 2008. 5.

16) 谷口清州:これからのインフルエンザ対策－プラス新型のデュアルモード時代.感染対策 ICT ジャーナル，3(4)：351-356，2008.

17) 谷口清州：新型インフルエンザ概論.Monthly 保健センター 11：3，2008.

18) 谷口清州：.新型インフルエンザにおける情報の収集と解析の重要性．メビオ，25(11)：：76-82，2008.

19) 谷口清州.：新型インフルエンザの最新情報と対策．.老年医学，11：1343-1346，2008.

20) 谷口清州:新型インフルエンザパンデミック時の対応－国家レベル．成人病と生活習慣病，38(11)：1274-1279，2008.

21) 谷口清州：世界におけるインフルエンザ対策．からだの科学，259：139-142，2008.
22) 谷口清州:鳥インフルエンザと新型インフルエンザ．Neuroinfection，12(1)：68-73，2007.
23) 谷口清州：新型インフルエンザ．小児科，49(5)：755-759，2008.
24) 谷口清州：鳥インフルエンザ．東京都感染症マニュアル．東京都福祉保健局．2009年3月.
25) 谷口清州：パンデミック時対応．成人病と生活習慣病，38(11)：1274-1278，2009.
26) 谷口清州：国際的な感染症対策の枠組み．JVM，62(6)：448-452，2009.
27) 神谷元、神谷齊：米国のワクチン行政に学ぶ．日本臨床，66(10)：1858-1864，2008.
28) 神谷元、島田智恵、岡部信彦：ワクチンにて予防可能な細菌・ウイルス性感染症の我が国での発生状況．日本医師会雑誌，138(4)：654-658，2009.
29) 齋藤昭彦、中野貴司、神谷元：Hibワクチンの普及、そしてVPD感染をなくすために（座談会）．週刊医学界新聞，2009．6.
30) 森兼啓太:院内感染アウトブレイク対応.小児科，49(5)：545-550，2008.
31) 森兼啓太：新・隔離予防策の概念と改訂経緯・その背景．感染対策ICTジャーナル，3(2):122-125，2008.
32) 森兼啓太：感染症・感染対策 Up to date． ナース専科，28(7)：8-13，2008.
33) 森兼啓太：SSIのリスク因子と対策の最新コンセンサス．消化器外科 NURSING，13(7)：667-676，2008.
34) 森兼啓太:新型インフルエンザに関する最新の情報．複十字，322：27，2008.
35) 森兼啓太：世界のH5N1感染の状況（トリおよびヒト）．病原微生物検出情報（IASR），29(7)：183-185，2008.
36) 森兼啓太：SHEA 2008参加報告．感染制御，4(3)：221-224，2008.
37) 森兼啓太:新型インフルエンザ対策におけるワクチン戦略．INFECTION CONTROL，17(9)：902-905，2008.
38) 森兼啓太:耐性菌対策のいまー監視培養も含めてー．INFECTION CONTROL，17(10)：1008-1009，2008.
39) 森兼啓太:新型インフルエンザ対策－国策としてのグランドデザイン．感染対策ICTジャーナル，3(4)：390-395，2008.
40) 森兼啓太：SHEAでの注目すべき情報．INFECTION CONTROL，17(12)：1204-1206，2008.
41) 森兼啓:欧州感染対策事情－透析関連学会とイタリアの透析施設の視察よりー．感染制御，4(5)：413-418，2008.
42) 森兼啓太:手術部位感染防止のための周術期管理の最新情報．INFECTION CONTROL，18(1)：30-34，2009.
43) 森兼啓太：JANIS データの活用． INFECTION CONTROL，18(2)：58-62，2009.
44) 森兼啓太：事業者・職場における新型インフルエンザ対策ガイドラインのポイント.先見労務管理，47(1365)：34-38，2009.
45) 森兼啓太:最近のCDCガイドラインのポイントと変更点．Medical Technology，37(4)：332-335，2009.
46) 森兼啓太:アメリカの中小規模医療施設における感染制御．感染制御，5(1)：18-21,2009.
47) 針原康、小西敏郎、森兼啓太、佐和章弘、塚本泰司、高橋聡、久田友治、菅原えりさ：SSIサーベイランスの全国集計結果および第10-13回SSIサーベイランス研究会報告.日本環境感染学会誌，24(3)：202-205，2009.
48) 森兼啓太:III 術後肺炎サーベイランス、IV おさえておきたいサーベイランスのシステム:NNIS、NHSN． pp176-178、195-198 崎浜智子・森兼啓太（編集） 感染対策のためのサーベイランス協力サポートブック．メディカ出版，大阪 2008.
49) 森兼啓太：C 各論 一口メモ 標準予防策．p334． 和田攻（監修）．産業保健ハンドブック．VI 職場の感染症対策．財団法人産業医学振興財団，東京，2008.
50) 森兼啓太：第7章 消毒法とその用途．pp113-126，遠藤明ら（編集）．管理理容師・管理美容師資格認定講習会テキスト.財団法人理容師美容師試験研修センター，東京，2009.
51) 森兼啓太：Q19 SSI 予防．pp.631-636，岩田健

太郎（編集）. 感染症診療 Q&A. 総合医学社, 東京, 2009.

52) 大日康史、山口亮、杉浦弘明、菅原民枝、吉田真紀子、島田智恵、堀成美、杉下由行、安井良則、砂川富正、松井珠乃、谷口清州、多田有希、多屋馨子、今村友明、岡部信彦：北海道洞爺湖サミットにおける症候群サーベイランスの実施. 感染症学雑誌, 83(3)：236－244, 2009.

53) 菅原民枝、杉浦正和、大日康史、谷口清洲、岡部信彦:新型インフルエンザ流行時における一般住民の外出自粛に関する意識の検討. 感染症学雑誌, 82 (5)：427-433, 2008.

54) 菅原民枝、大日康史、杉浦弘明、谷口清州、岡部信彦:感染症流行の早期探知のための電子カルテを用いた自動的な症候群サーベイランスの構築. 医療情報学, 28(1)：13-20, 2008.

55) 大日康史、菅原民枝：全国版新型インフルエンザ流行シミュレーション. インフルエンザ, 1.9(3)： 66(240)～71(245)，2008.

56) 大日康史、菅原民枝：新型インフルエンザパンデミックの経済的損失のインパクトの予想と対策. 臨牀と研究, 85(12)：41(1717)-45(1721)，2008.

57) 大日康史、菅原民枝：新型インフルエンザのシミュレーションと被害予測. 日本医師会雑誌, 137(10)：2086-2090, 2009.

58) 大日康史、菅原民枝：応用研究「新型インフルエンザ拡大伝播モデルシュミレーション」ウイルス感染の時間的、空間的広がりを予測！. パーソントリップ調査－ガイドブック－, 東京都市圏交通計画協議会. 9: 2008.

59) 大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：2006／07 シーズンにおける超過死亡の評価. 病原微生物検出情報, 29 (1)：105-107. 2008.

60) 大日康史、菅原民枝：5 歳児健診における軽度の発達障害児の発見についての費用対効果分析. 小枝 達也(編者) 5 歳児健診　発達障害の診療・指導エッセンス. 診断と治療社. 46～48. 2008.

61) 永井美之、押谷仁、田代眞人、伊藤善典、工藤宏一郎、梅田珠実、河岡義裕、大日康史、飯沼雅明：狼は来るのか？その対策は - 新型インフルエンザ徹底討論. 日本医師会雑誌. 137(10)：2023-2044. 2009.

62) 大日康史：Person trip date に基づいた感染拡大シミュレーション. 肥満と糖尿病. 2812. 2009.

63) 重松美加, 岡部信彦：感染症サーベイランスと地理学情報. 保健医療科学. 57(2)：3-7. 2008.

64) 吉川肇子, 重松美加：リスク・コミュニケーションとは------その歴史と現代における課題. 医事新報, 4397：78-83. 2008.

65) 重松美加（翻訳）：世界保健機関「感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2007－2008 版」日本語翻訳. 2008.

66) 砂川富正：偽性アウトブレイクに関する注意. Infection Control, 17 (3)：284 - 286. 2008.

67) 砂川富正:世界および国内の鳥インフルエンザの状況－H5N1 を中心にー. 食品衛生研究. 58(3)： 9－15. 2008.

68) 砂川富正。しのび寄る蚊媒介感染症への対策は十分かーチクングンニャを例にー。61(3)： 491－494. 2008.

69) 徳田浩一、砂川富正、岡部信彦：百日咳の疫学－わが国の最近の状況を中心にー. 化学療法の領域, 24(5)： 697－705. 2008.

70) 倉本秋、有瀬和美、瀬尾宏美、脇口宏、徳田浩一、吉田眞紀子、砂川富正：百日咳の復興. ＪＩＭ, 18(7)：572－577. 2008.

71) 西藤成雄、砂川富正：ML インフルエンザ流行前線情報データベースの紹介. 日本医師会雑誌, 136(12)： 2439-2443. 2008.

72) 五十嵐正巳、砂川富正：チャートで考える腸管出血性大腸菌 0157 の対応. INFECTION CONTROL, 17(3)： 248-253. 2008.

73) 多田有希:事業所で問題となる国内外の主な感染症の臨床・予防対処法・管理（各論 麻疹）. 産業保健ハンドブックⅥ　職場の感染症対策－予防管理・発生時対策・臨床・補償のすべて（和田　攻監修）. 2008

74) 安井良則：2008年の麻疹の発生状況. こどもの感染症の診かた 11巻 8-10. (2008.5)

75) 島田智恵：冬に流行するウイルス感染症. チャイルドヘルス 11 (11)：754-758. 2008.

76) 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 28 巻 4 号-29 巻 3 号. 2007-2009.

77) 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.436-447. 2008- 2009.

78) 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・予防接種レター　いよいよ始まったHibワクチン. 小児保健研究68(2)：298-300. 2009.03

79) 多屋馨子：2012 年までに麻疹(はしか)をゼロに! 地域、学校における麻疹対策について. 小児保健研究. 68(2)：212-218. (2009.03)

80) 岡部信彦, 山本久美[上野], 多屋馨子:保育と保健最新情報　麻疹(はしか)・風疹ワクチンの接種状況. 保育と保健15(1)：122-125. (2009.01)

81) 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：感染症・予防接種レター　ムンプス最近の話題. 小児保健研究. 68(1)：125-126. (2009.01)

82) 多屋馨子:わかりやすいワクチンの話　母親でもある小児科医からお母さんへ. 外来小児科. 11(4)：434-435. 2008.

83) 多屋馨子：命定めの病「はしか」近年の麻疹の流行とその対策. Biophilia. 4(4)：15-20. 2008.

84) 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：感染症・予防接種レター　増加している成人百日咳. 小児保健研究. 67(6)：896-898. 2008.

85) 多屋馨子:「麻しんに関する特定感染症予防指針」の告示とその紹介. 臨床と微生物. 35(6)：75-79. 2008.

86) 多屋馨子：【変貌する感染症　人類の備えは十分か?】麻疹. 綜合臨床. 57(11)：2650-2655. 2008.

87) 多屋馨子：「予防接種－ここがポイント－」国立感染症研究所感染症情報センター予防接種室に寄せられた質問より. 小児科臨床. 61(11)：2137-2148. 2008.

88) 多屋馨子：【小児ウイルス感染症の現状】 麻疹. 化学療法の領域. 24(10)：1440-1451. 2008.

89) 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：感染症・予防接種レター　新型インフルエンザ対策におけるワクチンの現況. 小児保健研究. 67(5)：811-812. 2008.

90) 多屋馨子：ワクチン効果と感染症疫学の現状. Medical Science Digest. 34(10)：452-455. 2008.

91) 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･感染小委員会：感染症・予防接種レター　MRワクチン 2 期接種の安全性・効果・接種率. 小児保健研究. 67(4)：670-672. 2008.

92) 多屋馨子:小児感染症の治療　適正な薬剤の選択 麻疹・風疹の予防. カレントテラピー. 26(8)：707-711. 2008.

93) 多屋馨子：【小児科領域の院内感染】 予防接種と院内感染. 小児科. 49(5)：617-624. 2008.

94) 多屋馨子：【変貌する感染症】 ワクチンの種類と接種時期. JIM：Journal of Integrated Medicine. 18(7)：550-556. 2008.

95) 多屋馨子, 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, 馬場宏一, 三田村敬子, 日本小児保健協会予防接種･感染症委員会：感染症・予防接種レター　2006～2008 年の麻疹流行と、2012 年国内麻疹排除に向けた取り組み. 小児保健研究. 67(3)：537-539. 2008.

96) 多屋馨子：特集「ワクチンの現状」各論　ワクチン効果と感染症疫学の現状. Medical Science Digest. 2008 年 9 月号

97) 多屋馨子：「トピックス」　今期のインフルエンザワクチン　予想と決定. 保育と保健ニュース No.44　2008 年 11 月

98) 多屋馨子：2008 年版インフルエンザ Q&A. No.2. pp1, 5, 11. 2008.

99) 多屋馨子:インフルエンザワクチンの有効性と必要性. 大阪大学医学部学友会会誌（2008 年第 28

号)

100) 多屋馨子：今、麻疹対策をどうするか？～今年の流行から学ぶこと～.横浜市小児科医会ニュース No.37. 2008.

101) 多屋馨子：第3期、第4期のMRワクチンの接種率、接種の必要性. 日本学校保健会会報「学校保健」275号2009年1月

102) 多屋馨子:我が国の予防接種制度～新しい制度の紹介と今後の展望～. 広島県小児科医会会報. 2009.

103) 多屋馨子：「健康安全講座」. ノロウイルス感染症ー症状と保育施設での対応ー.保育と保健ニュース No.45. 2009年3月

104) 多屋馨子：2012 年までに麻疹（はしか）をゼロに！ー地域、学校における麻疹対策についてー. 小児保健研究68(2)： 2009年3月

105) 山本(上野)久美： 医療機関における麻疹対応ー2012年麻疹Eliminationに向けてー.感染制御. 4(1)： 65-68. 2008.

106) 山本(上野)久美：チャートで考える麻疹の対応. Infection Control. l.17 (3)：76(278)-80(282) 2008.

107) 山本(上野)久美：【よくわかる予防接種の知識】麻疹ワクチン・風疹ワクチン(解説/特集). チャイルド ヘルス. 11(3)： 165-167. 2008.

108) 山本(上野)久美:麻疹対策の変化とその後の疫学状況. メディカル朝日第38巻第1号、通巻第446号: 26-27. 2009.

109) 佐藤 弘、多屋馨子：かぜ・インフルエンザを予防する 日本におけるインフルエンザ対策. からだの科学. 259号： 134-138. 2008.

110) 佐藤 弘、多屋馨子：周産期臨床検査のポイント新生児編 ウイルス検査. 周産期医学. 38巻： 411-416. 2008.

111) 佐藤 弘、多屋馨子、岡部信彦：ワクチンで予防可能な疾患の病原診断とその読み方 麻疹. 小児科. 50巻： 3-8. 2009.

112) 佐藤 弘、多屋馨子：治療における最近の新薬の位置付け〈薬効別〉～新薬の広場～ ワクチン. 医薬ジャーナル. 45巻： 123-127. 2009.

113) 藤本嗣人、山下和予：エコーウイルス30型、エンテロウイルス71型、コクサッキーウイルスA16型が検出された検体の種類－1980～2008 年. 病原微生物検出情報月報. 30(1)：10. 2008.

114) 清水英明, 石丸陽子, 藤本嗣人:白金―金コロイドイムノクロマトグラフ法を使用したアデノウイルス検査キットの有用性. 感染症学雑誌. 83(1)：64-65, 2009.

115) 藤本嗣人：咽頭結膜熱（プール熱）・アデノウイルス感染症. チャイルドヘルス. 11(11)：34-37, 2008.

116) 榎本美貴, 近平雅嗣, 藤本嗣人：アデノウイルスに対するL20B細胞（ポリオウイルス特異検出細胞)の感受性－兵庫県.病原微生物検出情報月報. 29(4)：101-102. 2008.

117) 藤本嗣人, 安井良則, 森兼啓太：アデノウイルス感染対策. 病原微生物検出情報月報. 29(4)：95-95, 2008.

118) 藤本嗣人, 浜本いつき, 谷口清州, 岡部信彦, 近平雅嗣:咽頭結膜熱を引き起こしたアデノウイルス3型の分子疫学－兵庫県.病原微生物検出情報月報. 29(4)：100-100. 2009.

119) 大金映子, 船渡川圭次, 藤本嗣人, 浜本いつき, 岡部信彦:栃木県における流行性角結膜炎患者からの5種類の細胞によるウイルス分離結果.. 病原微生物検出情報月報. 29(4)：101-101. 2008.

120) 藤本嗣人：アデノウイルス. バイオセーフティの事典. 244 - 246. 2008.

121) 若井公子, 嶋田明, 竹内紗耶香, 青木由貴, 水谷修紀, 木村博一, 林泰秀: Ommen症候群の臍帯血移植後に発症した *Mycobacterium avium* complex感染症. 日本小児血液学会雑誌. 22(2)：129-132. 2008.

122) 有田知子, 木村博一, 野田衛, 西尾治: パンに含まれるノロウイルスの回収法の検討. 日本感染症学会誌. 82(5)： 473-475. 2008.

123) 水上憲一, 河合修三, 黒澤肇, 森田幸雄, 小畑敏, 加藤政彦, 小澤邦壽, 間渕徹, 長井章, 木村博一,宗行彪: 焼肉店を原因施設とした腸管出血性大腸菌 0157 食中毒事例. 群馬医学. 81: 51-52. 2008.

124) 多屋馨子：臓器移植・免疫不全状態とウイルスの

動態．総編集大関武彦、近藤直実．小児科学第3版．Pp702-705.医学書院．東京．2008．4.

125) 多屋馨子：「麻疹」「医療・教育現場における麻疹対策」「こどもの感染症の診かた」シリーズ第11巻．監修藤井良知．Pp111-117，（株）臨床医薬研究協会．東京．2009．3.

126) 多屋馨子：HHV-6, HHV-7 感染症『KEY WORD 感染症 第2版』編集 山口恵三、戸塚恭一．東京．先端医学社. 2008．8.

127) 多屋馨子：接種間隔があきすぎたときの対応．小児科臨床ピクシス．Pp78-81.中山書店．五十嵐隆総編集．東京．2008．12.

128) 多屋馨子：海外労働者の予防接種の実際．産業保険ハンドブックVI職場の感染症対策-予防管理・発生時対策・臨床・補償のすべてー．Pp201-208.財団法人産業医学振興財団．東京．2008．9.

129) 多屋馨子：事情場で問題となる国内外の主な感染症4．ポリオ．産業保険ハンドブックVI職場の感染症対策-予防管理・発生時対策・臨床・補償のすべてー．Pp229－234.財団法人産業医学振興財団．東京．2008．9.

130) 多屋馨子、荒川宣親：第7章公衆衛生と国際感染症；予防接種. Pp247-251.笹川千尋、林哲也編集．医科細菌学．南江堂．東京．2008.7.

131) 多屋馨子：Ⅳ予防接種と関連する法律．実践予防接種マニュアル．改訂2版．寺田喜平編著．pp229－262．中外医学社．東京．2008．11.

132) 多屋馨子、岡部信彦：予防接種に関するQ&A集．2008（平成20年）．社団法人細菌製剤協会．東京．2008．8.

133) 多屋馨子：V.化学療法以外の感染症治療・予防 A. 予防接種（ワクチン）1. ウイルスa. 風疹、流行性耳下腺炎、麻疹、水痘『感染症専門医テキスト-第Ⅰ部テキスト編』（日本感染症学会編集）．南江堂．東京．2009.

134) 野田雅博，水田克巳，木村博一：ウイルス検査診の実際．チャイルドヘルス．11(11)：761-763.2008.

135) 岡部信彦，山本（上野）久美，佐藤 弘，島田智恵，安井良則，山下和予，松井珠乃，砂川富正，中島一敏，木村博一，多田有希，谷口清州，多屋馨子：予防接種法および感染症法改正後の麻疹およびその対策の状況．小児科診療．61(11)：2149-2156．2008.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Taniguchi, K. : National Disease Surveillance in Japan. US-Japan Bioterrorism symposium. Tokyo, Japan, 2009.2.

2) Taniguchi, K. : Current situation on Pandemic Preparedness Plan in Japan. The 3rd International Workshop, Vaccinology 2008. Tokyo, Japan, 2008.10.

3) Taniguchi, K. : Current situation of surveillance in Japan. Taiwan CDC-NIID joint conference. Taipei., Taiwan, 2008.9.

4) Taniguchi, K. : Update of surveillance in Japan. GSEC US-Japan conference. Hawai, USA, 2008.9.

5) Kamiya, H. : Prevention of *Strptococcus pneumonaie* Infection ～ Lessons from the United States ～ Foundation Merieux The 3rd International Workshop., Vaccinology 2008. Tokyo, Japan, 2008.10.

6) Morikane, K., Harihara, Y., Konishi, T. : Analysis of risk factors for surgical site infections in the Japanese Healthcare-Associated Infections Surveillance system. The 19th annual scientific meeting of the Society for Healthcare Epidemiology of America. San Diego, USA, 2009. 3.

7) Ohkusa, Y., Sugawara, T., Sugiura, H., Taniguchi, K., Okabe, N. : Syndromic Surveillance System for the G8 Hokkaido Toyako Summit Meeting 2008. ISDS. Raleigh, USA, 2008, 12.

8) Sugawara, T., .Kimura, K., Ohkusa, Y., Taniguchi, K., Okabe, N. : Full Automatic Syndromic Surveillance System using Prescription in Japan. ISDS, Raleigh, USA, 2008, 12.

9) Shigematsu, M., Caskey, S., Gaudioso, J. A., Ando, S. : Biosecurity self-assessment tool trial run in Japan. 3rd Asia-Pacific Biosafety Association Conference. Bangkok, Thailand, 2007. 3.

10) 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, 2007. 3.

11) Collier, N., Doan, S., Kawazoe, A., Shigematsu, M., Taniguchi, K., Kawtrakul, A., Dien, D. : The Global Health Monitor: A Bio-Geographic View of World Outbreak News. 13th International Congress on Infectious Diseases. Kuala Lumpur, Malaysia, 2008. 6.

12) Ito, K., Shigematsu, M. : *Escherichia coli* isolates from cases of Japanese travelers with reported diarrhea. 13th International Congress on Infectious Diseases. Kuala Lumpur, Malaysia, 2008. 6.

13) Shigematsu, M., Ando, S., Sata, T., Sugiyama, K. : Survey on Pathogen Transport among Public Health Laboratories in Japan. 13th International Congress on Infectious Diseases. Kuala Lumpur, Malaysia, 2008. 6.

14) Gaudioso, J.. M., Shigematsu, M. : BioRAM 2.0: a Tool for Implementing a Biosecurity Risk Assessment Methodology. ABSA 51st Annual Biological Safety Conference, Reno, USA, 2008.10.

15) Tokuda, K. et al. : Pertussis Outbreak in a Medical School and University Hospital – Kochi, Japan, 2007. TEPHINET Global Scientific Conference, Kuala Lumpur, Malaysia, 2008. 11.

16) Yoshida, M. et al. : A Study of Influenza Surveillance using prescription information for anti-influenza medicines, Sakai, Osaka, Japan, 2006-7. TEPHINET Global Scientific Conference, Kuala Lumpur, Malaysia, 2008. 11.

17) Hori, N. et al. : Baseline survey of physicians' practices and attitudes to recommend partner HIV testing, Japan, 2007. TEPHINET Global Scientific Conference, Kuala Lumpur, Malaysia, 2008. 11.

18) Sumibcay, L., Arai, S., Song, J. W., Bennett, S. N., Truong, T. T., Truong, N. U., Nerurkar, V. R., Cook, J., Yanagihara, R.: Discovery of Genetically Distinct Hantaviruses Harbored by Shrews in Eurasia and North America. American Society for Microbiology. Boston, USA. June 1-5, 2008.

19) Yanagihara, R, Arai, S., Kang, H. J., Sumibcay, L., Hope, A. G., Cook, J., Jin-Won Song. : Emerging concepts about the evolutionary origins of hantaviruses. 7th Louis Pasteur Conference on Infectious Diseases. November 11-13, 2008.

20) Yanagihara, R., Arai, S., Song, J. W., Bennett, S. N., Sumibcay, L., Kang, H. J., Hope, A. G., Nerurkar, V. R., Cook. J. A. : Opportunistic Observations about the Evolutionary Origins of Hantaviruses. 42nd Joint Working Conference on Viral Diseases and Satellite Meeting. US-Japan meeting. May 26 – 28, 2008. Nagasaki Japan.

21) Arai, S., Bennett, S. N., Sumibcay, L., Cook, J., Vivek R. Nerurkar[2], Yanagihara, R. : Phylogeography of Camp Ripley Virus, a Newly Identified Hantavirus Harbored by the Northern Short-tailed Shrew (*Blarina brevicauda*). XIV. International Congress of Virology. Istanbul, Turkey. August 10-15, 2008.

22) Arai, S., Sumibcay, L., Cook, J., Hope, A. G., and Yanagihara, R.: Lena River virus, a newfound hantavirus in *Sorex caecutiens* in Siberia, Russia. XIV. International Congress of Virology. Istanbul, Turkey. August 10-15, 2008.

23) Arai, S., Kang, H. J., Sumibcay, L., Bennett, S. N., Hope, A. G., Vivek R. Nerurkar, Joseph A. Cook, Yanagihara, R. : Genetic Diversity of Jemez Springs Virus, A Newfound Hantavirus Harbored by the Dusky Shrew (*Sorex monticolus*) in North America. XIV. International Congress of Virology. Istanbul, Turkey. August 10-15, 2008.

24) Araki, K., Tanaka-Taya, K., Okabe, N. : Shedding and genetic mutations of OPV in a healthy child, Clinical features and laboratory findings. First International Conference on Current Advances in Medical Microbiology and Immunology. Mongolia. June 12-14, 2008.

25) 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. The 7th Japan-China International Conference of Virology. Tokyo, Japan. June 1-3,

2008.

26) Watanabe-Murakami, Y., Matsuno, S., Okabe, N. : Food-Borne Viral Infectious Disease: Genetic Characterization of Norovirus from Oysters, Marine Plankton and Humans, National Institute of Infectious Diseases, Japan at 11th Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases. Prize: Western Pacific Society of Chemotherapy Young Investigator Award Taipei International Convention Center, Taiwan. November 29 - December 03, 2008

２．国内学会

1) 谷口清州：感染症と危機管理について（講演）．第 11 回日本臨床救急医学会総会．東京，2008.6.
2) 谷口清州：感染症だより（講演）．日本小児科学会東京地方会．東京，2008.7.
3) 谷口清州：新興・再興ウイルス症の脅威（講演）．第３回動物由来感染症フォーラム．東京，2008.7.
4) 谷口清州：トラベルワクチンの接種経験（講演）．第 12 回日本渡航医学会総会．岡山県岡山市，2008.7.
5) 谷口清州：病児保育における感染対策（講演）．第 18 回全国病児保育研究大会.四日市，2008.7.
6) 谷口清州：新型インフルエンザの現状と対策（講演）．第 10 回日本災害看護学会．大分県別府市，2008.8.
7) 谷口清州：国際保健規則（講演）．第８回人と動物の共通感染症研究会．東京，2008.11.
8) 谷口清州：感染症便り（講演）．日本小児科学会東京地方会．東京，2008.12.
9) 谷口清州：感染症便り（講演）．日本小児科学会東京地方会．東京，2009.2.
10) 谷口清州：感染症便り（講演）．日本小児科学会東京地方会．東京，2009.3.
11) 神谷元、中野貴司、井上正和、神谷敏也、井戸正流、神谷齊：三重県下２病院におけるロタウイルス感染による急性胃腸炎の５歳未満児入院例の調査結果．第 12 回日本ワクチン学会．熊本県熊本市，2008.11.
12) 森兼啓太：MRSA の積極的監視培養とその結果に基づく隔離が MRSA 保菌・感染率に及ぼす影響（講演）．大磯フォーラム．東京，2008.4.
13) 森兼啓太：新型インフルエンザにどう備えるか（講演）．第 51 回鳥取県公衆衛生学会．鳥取県米子市，2008.7.
14) 森兼啓太:新型インフルエンザへの対応ー準備はできていますか（講演）．第 11 回札幌感染管理研究会．北海道札幌市，2008.7.
15) 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．島根県松江市，2008.7.
16) 森兼啓太：鳥インフルエンザの脅威（講演）．第 11 回鳥取県中部院内感染防止研究会．鳥取県倉敷市，2008.7.
17) 森兼啓太：院内感染アップトゥーデート（研修講演）．第６回日本医療マネジメント学会高知県地方会．高知県高知市，2008.8.
18) 森兼啓太:サーベイランス:基礎から応用まで（講演）．第８回院内感染防止対策に関する講演会．鹿児島県鹿児島市，2008.8.
19) 森兼啓太:新型インフルエンザ～準備はできていますか？（講演）．第 3 回西多摩 Infection Control Forum．東京都八王子市，2008.9.
20) 森兼啓太:手術部位感染に関する最新情報（講演）．第 30 回日本手術医学会．東京，2008.9.
21) 森兼啓太:手術部位感染対策アップデート（講演）．第 7 回 EBIC ワークショップ．神奈川県，2008.10.
22) 森兼啓太、渡辺都貴子、高野八百子、針原康、小西敏郎:手術部位感染サーベイランスにおけるデータ収集項目に対するリスク因子としての評価．第 21 回日本外科感染症学会．北海道札幌市，2008.11.
23) 森兼啓太：手術部位感染対策アップデート（特別講演）．第７回上越 Infection Control フォーラム． 新潟県上越市，2008.11.
24) 森兼啓太：今なぜ MRSA なのか？その現状、感染対策、治療（特別講演）．第２回長崎感染症リスクマネジメント研究会． 長崎県長崎市，2008.12.
25) 森兼啓太、谷口弘美、上野一枝、宮田貴紀、前多

香、家入裕子、高橋陽一、大澤忠、高橋由美子、藤木くに子、細田清美、北村真理、操華子、崎浜智子、印田宏子：透析関連感染サーベイランスシステムの構築．第24回日本環境感染学会．神奈川県横浜市，2009.2.

26) 森兼啓太:透析施設における血液媒介感染とその伝播防止：C型肝炎を中心に(シンポジウム)．第24回日本環境感染学会．神奈川県横浜市，2009.2.

27) 森兼啓太:積極的監視培養とその結果による接触予防策の有効性に関する文献的考察(シンポジウム)．第24回日本環境感染学会．神奈川県横浜市，2009.2.

28) 森兼啓太:諸外国における医療関連感染対策の現状(講演)．第7回東海院内感染対策フォーラム．愛知県名古屋市，2009.3.

29) 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診断・報告の現状．第82本感染症学会総会．島根県松江市，2008.4.

30) 松井珠乃：院内感染、アウトブレイク発生時のFETPの活動（講演）．第24本環境感染学会総会ベーシックレクチャー，神奈川県横浜市，2009.2.

31) 熊谷則道，橋本迪子，重松美加，飯田真里子，伊藤健一郎: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．第82回日本感染症学会総会．島根県松江市，2008.4.

32) 重松美加，安藤秀二:病原体取扱に際してのバイオセーフティとその国際的な潮流．第3回日本臨床検査学教育学会学術大会．福岡県福岡市，2008．8.

33) 堀成美，多田有希:若年層におけるHIV感染症の動向．第27回日本思春期学会．千葉県千葉，2008.8.

34) 菅原民枝、大日康史、多屋馨子、多田有希、安井良則、砂川富正、山本(上野)久美、町田和彦、臼井恒夫、扇原淳、小野充一、谷口清洲、岡部信彦：麻疹流行による大学休講期間中の大学生行動のタイムスタディの検討、第82回感染症学会総会．島根県松江市，2008.4.

35) 大日康史,菅原民枝，谷口清州、岡部信彦：救急車搬送おける症候群サーベイランスの稼動と実用化評価、第82回感染症学会総会．島根県松江市，2008.4.

36) 児玉和夫、杉浦弘明、杉浦弘明、堀江卓史、菊池清、大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：症候群サーベイランスによる感染症流行の早期探知システムの地域での実用化と対応、第82回感染症学会総会．島根県松江市，2008.4.

37) 杉浦弘明、大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：学校欠席者群サーベイランスの構築、第82回感染症学会総会．島根県松江市，2008.4.

38) 菊池清、大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦:院内感染対策としての症候群サーベイランスの早期探知の評価と高齢者施設での応用、第82回感染症学会総会．島根県松江市，2008.4.

39) 大日康史、菅原民枝：ムコ多糖症における費用対効果分析，第35回マススクリーニング学会．島根県、2008．8.

40) 大日康史、菅原民枝：予防接種のもたらす費用対効果分析ー水痘予防接種に対する公費補助制度の政策評価に焦点を当ててー．第15回ヘルペス感染症フォーラム．北海道札幌市．2008．8.

41) 大日康史、山口亮、杉浦弘明、菅原民枝、吉田眞紀子、島田智恵、堀成美、杉下由行、安井良則、砂川富正、松井珠乃、谷口清州、多田有希、多屋馨子、今村知明、岡部信彦：2008 北海道洞爺湖サミットにおける症候群サーベイランス、第57回日本感染症学会東日本地方会学術集会．埼玉県さいたま市，2008．10.

42) 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流行時における受療行動の選択と発熱外来設置の検討．第57回日本感染症学会東日本地方会学術集会．埼玉県さいたま市，2008．10.

43) 大日康史、杉浦弘明、菅原民枝他：インターネットアンケート調査による新しい症候群サーベイランスの構築と洞爺湖サミットでの運用．第28回 医療情報学連合大会(第9回 日本医療情報学会学術大会）．神奈川県横浜市，2008．11.

44) 大日康史、菅原民枝、島内康宏、尾崎貴視、谷口泰紀、三野正博、香川嘉宏：水痘予防接種に対する公費補助制度の政策評価．第12回ワクチン学会．熊本県熊本市，2008．11.

45) 菅原民枝、大日康史、多屋馨子、山本久美、佐藤弘、安井良則、岡部信彦：百日咳発生データベースの構築と運用．第12回ワクチン学会．熊本県熊本市，2008．11.

46) 菅原民枝、大日康史、杉浦弘明、谷口清州、岡部信彦、今村知明：学校欠席者症候群サーベイランスの構築．第67回公衆衛生学会．福岡県福岡市，2008．11.

47) 大日康史、杉浦弘明他：インターネットアンケート調査による新しい症候群サーベイランスの構築と洞爺湖サミットでの運用．日本医療情報学会．神奈川県横浜市，2008．11.

48) 大日康史、菅原民枝：院外処方箋情報を用いた感染症監視システム（基調講演）．日本薬局協会大会．2008．8.

49) 大日康史:新型インフルエンザ拡大伝播モデルシミュレーション：全国版 −首都圏で患者一例目が発生したらどのように全国に拡大していくか−．第4回GISコミュニティフォーラム in 大阪．大阪府大阪市，2008．5.

50) 大日康史:新型インフルエンザ拡大伝播モデルシミュレーション：全国版 −首都圏で患者一例目が発生したらどのように全国に拡大していくか−．第4回GISコミュニティフォーラム in 福岡．福岡県福岡市，2008．5.

51) 大日康史:新型インフルエンザ拡大伝播モデルシミュレーション：全国版 −首都圏で患者一例目が発生したらどのように全国に拡大していくか−．第4回GISコミュニティフォーラム in 北海道．2008．6.

52) 菅原民枝:新型インフルエンザ拡大伝播モデルシミュレーション：全国版 −首都圏で患者一例目が発生したらどのように全国に拡大していくか−．第4回GISコミュニティフォーラム in つくば．茨城県つくば市，2008．5.

53) 多田有希： シンポジウム「STD サーベイランスを考えるーサーベイランスから実態をどこまで把握できるかー」（梅毒）．日本性感染症学会第21回学術大会．東京都．2008．12.

54) 多田有希： シンポジウム「梅毒血清反応の問題点」感染症法に基づく梅毒発生届けにおける問題点．日本性感染症学会第 21 回学術大会．東京都．2008．12.

55) 安井良則: シンポジウムⅡ成人ワクチン「麻疹」．第12回日本ワクチン学会学術集会．熊本県熊本市．2008．11.

56) 安井良則： 最近の百日咳の感染症発生動向調査結果について．第40回日本小児感染症学会学術集会．神奈川県横浜市．2008．11

57) 安井良則： 保育園における感染症の現状と衛生管理・対策．全国保育園保健研究大会．2009．1.

58) 島田智恵： 海外渡航者の鳥インフルエンザに関する知識について 第 12 回日本渡航医学会学術集会．岡山県岡山市．2008．7.

59) 杉下由行，多田有希，砂川富正，島田智恵，齊藤剛仁，岡部信彦: 2007 年における腸管出血性大腸菌感染症HUS症例の発生状況． 第67回日本公衆衛生学会総会．福岡県福岡市，2008．11.

60) 多屋馨子： シンポジウム・施設内感染防止対策としての予防接種を考える その問題点と対応 麻疹、風疹、ムンプス、水痘ワクチン．第24回日本環境感染学会．神奈川県横浜市．2009．2.

61) 多屋馨子： プレコングレス「医療安全」周産期からのウイルス感染予防．第27回日本周産期・新生児医学会周産期学シンポジウム．福島県郡山市．2009．1.

62) 多屋馨子： シンポジウム2【テーマ:これからの予防接種はどうなるか】予防接種体制の目まぐるしい変遷．第40回日本小児感染症学会総会・学術集会．愛知県名古屋市．2008．11.

63) 多屋馨子： 学校での麻しん対策の実際．第 55 回日本学校保健学会．名古屋市．2008．11.

64) 多屋馨子： シンポジウム・保育園での感染症とその対策 保育園で推奨される予防接種．第 14 回日本保育園保健学会．東京都千代田区．2008．10.

65) 多屋馨子：2012年までに麻疹をゼロに！．第55回日本小児保健学会．北海道札幌市．2008．9.

66) 多屋馨子： わかりやすいワクチンの話ー母親でもある小児科医からお母さんへー．第18回日本外来小児科学会年次集会市民公開講座.愛知県名古屋市．2008．8.

67) 多屋馨子： Common Disease の最新知見 成人・年長児における麻疹流行．第49回日本臨床ウイルス学会．愛知県犬山市．2008．6.

68) 多屋馨子： 最近の感染症情報．第557回日本小児科学会東京都地方会講話会．東京都文京区．2008．6.

69) 多屋馨子：日本における予防接種の現状と課題.第４回日本小児科医会ワークショップ.新潟県新潟市．2008.

70) 多屋馨子： ワークショップ「日本脳炎ワクチンの展望」日本脳炎の国内における疫学．第12回日本ワクチン学会．熊本県熊本市．2008．11

71) 多屋馨子：全国の麻疹の流行状況とその対策法.はしか、風疹・・・感染症から次世代を担う子供達を守ろう！県民公開 予防接種フォーラム in 大分．大分県大分市．2008．12.

72) 多屋馨子： 予防接種に関する最新の話題～麻疹対策を中心に～.第19回三河感染･免疫研究会.愛知県豊田市．2008．7.

73) 多屋馨子： 学校・家庭での麻しん対策．横浜市学校保健会総会．神奈川県横浜市．2008．6.

74) 多屋馨子： 我が国の予防接種制度～新しい制度の紹介と今後の展望～．第55回広島県小児科医会総会．広島県広島市．2008．7.

75) 多屋馨子： 院内感染対策としてのワクチン．第23 回大阪病院機能向上研究会．大阪府大阪市．2008．9.

76) 多屋馨子： 日本の麻疹の現状と対策．国立国際医療センター・国立感染症研究所 共催
日中麻疹セミナー．東京都新宿区．2008．12.

77) 多屋馨子：ー麻疹・水痘などウイルス感染症の職業感染と施設内拡大への対応ーウイルス感染症の検査と予防投与の考え方．第24回日本環境感染学会＜教育委員会主催講習会＞．2009．2.

78) 佐藤　弘、多屋馨子、大路　剛、細川直登、岩田健太郎、岡部信彦：東京都および千葉県の麻疹患者における検査室診断の結果について．第82回日本感染症学会．島根県松江市．2008．4.

79) 佐藤　弘、多屋馨子、岡部信彦、小田切孝人、田代眞人、感染症流行予測調査事業担当者グループ：2007/08シーズン前インフルエンザ抗体保有状況（2007 年度感染症流行予測調査事業より）．第49回日本臨床ウイルス学会．愛知県犬山市．2008．6.

80) 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および風疹に対する抗体保有状況（2007年度感染症流行予測調査事業より）．第12回日本ワクチン学会.熊本県熊本市.2008.11.

81) 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およびブタの日本脳炎抗体保有状況（2007 年度感染症流行予測調査事業より）．第40回日本小児感染症学会.愛知県名古屋市．2008．11.

82) 新井 智：Genetic diversity of Camp Ripley virus, a newfound hantavirus harbored by the northern short-tailed shrew in north America.第 82 回日本感染症学会．島根県松江市．2008．4.

83) 新井 智、多屋馨子、岡部信彦：日本脳炎生ワクチン株に認められたアミノ酸変異．第 146 回日本獣医学会．宮崎県宮崎市．2008．9.

84) 新井 智，大舘智志，浅川満彦，有川二郎，Gabor Mocz，岡部信彦，Richard Yanagihara：Newfound Hantavirus Sequences in the Japanese Shrew Mole (*Urotrichus talpoides*)．第56回日本ウイルス学会．岡山県岡山市．2008．10.

85) 新井 智、多屋馨子、岡部信彦：家畜用日本脳炎生ワクチン株に認められたアミノ酸変異．第 12 回日本ワクチン学会．熊本県熊本市．2008．11.

86) 山本久美、多屋馨子、菅原民枝、大日康史、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」における麻疹症例報告状況と麻疹対策に果たした役割．第 82 回日本感染症学会．島根県松江市．2008．4.

87) 山本久美、多屋馨子、岡部信彦 : 関東地域に所在する二高校の 2 年生に対する麻疹意識調査．第 49 回日本臨床ウイルス学会. 愛知県犬山市. 2008. 6.

88) 山本久美、多屋馨子、島田智恵、岡部信彦 : 2007 年度第 2 期麻疹風疹ワクチン接種状況から見た麻疹患者発生．第 12 回日本ワクチン学会．熊本県熊本市．2008．11.

89) 山本久美、多屋馨子、大日康史、菅原民枝、佐藤弘、安井良則、岡部信彦 :「百日咳データベース」による全国の百日咳発生状況の把握．第 40 回小児感染症学会．愛知県名古屋市．2008．11.

90) 藤本嗣人、浜本いつき、谷口清州、近平雅嗣、岡部信彦：新たに開発した PCR システム (Hyper-PCR) とそのアデノウイルス診断への応用. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会．岡山県岡山市．2008．10.

91) 井内田科子，松野重夫，岡部信彦： 2 シーズンにおける感染性胃腸炎定点報告の地理的広がり. 第 56 回日本感染症学会東日本地方会総会．埼玉県さいたま市．2008．10.

92) 村上裕子，松野重夫： 海産プランクトンからのノロウイルスの検出. 第 82 回日本感染症学会総会．島根県松江市．2008．4.

93) 村上裕子、松野重夫、岡部信彦： 急性胃腸炎患者、カキ、プランクトンから検出されたノロウイルス遺伝子型の比較．第 56 回日本ウイルス学会学術集会．岡山県岡山市．2008．10.

94) 飯田真里子、鈴木理恵子、磯部順子、勢戸和子、河野喜美子、成松浩志、伊藤健一郎、岡部信彦、岡村登：腸管病原性大腸菌の局在性付着関連遺伝子 *bfpA* の多型と表現型解析．第82回日本感染症学会総会、島根県松江市、2008．4.

95) 泉谷秀昌、多田有希、伊藤健一郎、寺島淳、渡邊治雄：渡航者由来赤痢菌の遺伝子型別．第 82 回日本感染症学会総会、島根県松江市、2008．4.

96) 熊谷則道、橋本迪子、重松美加、飯田真里子、伊藤健一郎：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．第 82 回日本感染症学会総会、島根県松江市、2008．4.

97) 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）．群馬県前橋市．2008. 5.

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 更新情報, 2008.4-2009.3. [http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/toriinf-whoup03.html]

2) 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, 2008.4-2009.3. [http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/index.html][http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/toriinf-map.html]

3) 感染症情報センター： トリインフルエンザの分布図, 2008.4-2009.3. http://idsc.nih.go.jp/disease/avian_influenza/toriinf-map01.html

4) 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 20 年 1 月改訂） [http:/idsc.nih.go.jp/disease/influenza/fluQA/index.html]

5) 佐藤　弘、北本理恵、山本久美、新井　智、多屋馨子：ブタの日本脳炎 HI 抗体保有状況（速報）. 第 1 報：2008.7.4－第 18 報：2008.11.28. [http://idsc.nih.go.jp/yosoku/JE/JEmenu-sw.html]

6) 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：2008.11.28－第 3 報：2009.1.23. [http://idsc.nih.go.jp/yosoku/Flumenu.html]

7) 佐藤　弘、北本理恵、山本久美、新井　智、多屋馨子：ポリオ、日本脳炎、風疹、麻疹の抗体保有状況、予防接種状況. [http://idsc.nih.go.jp/yosoku/index.html]

8) 前田明日香, 多屋馨子, 佐藤　弘, 山本久美,岡部

信彦： 日本の定期/任意予防接種スケジュール（2008.4.1 以降）. [http://idsc.nih.go.jp/vaccine/dschedule/Imm08JP.gif]

9) 前田明日香, 多屋馨子, 山本久美, 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]

10) 多屋馨子、山本久美、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]

11) 多屋馨子、山本久美、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]

12) 砂川富正、山本久美、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]

13) 安井良則、砂川富正、山本久美、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]

14) 多田有希、島田智恵、安井良則、山本久美、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.]

15) 砂川富正、多屋馨子、多田有希、安井良則、山本久美、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]

16) 山本久美、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]

17) 山本明史、山本久美、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

18) 山本明史、山本久美、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]

19) 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累積数はこれまで、全世界で 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、AIDS/HIV の魔の手は次第にアジアにも及んできた。アジアの占める割合は、まだ全体の２％強を占めるに過ぎないが、中国やインドにおける拡大状況には空恐ろしささえ感じさせられる。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 及びワクシニアウイルスをそのベクターとして用いた prime/boost ワクチンに力を注ぐほか、ユニークな糖鎖変異ウイルスによる効果的な生ワクチンを用いて、防御免疫のパラメーターを探り、臨床応用可能なワクチン開発の道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。センター独特のウイルス分子クローンはその目的に大きな力となっている。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、杉浦 亙第 2 研究グループ長が独立行政法人国立病院機構名古屋医療センターに出向（平成 20 年 4 月 1 日付）（エイズ研究センターに併任）、石川晃一主任研究官が平成 21 年 1 月 1 日より休職した。

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、佐藤裕徳病原体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) 多コピー変異型プラスミドを用いた抗酸菌での HIV-1 Gag 及び Env 発現系の改良

組換え BCG 構築に用いている pSO246 シャトルプラスミドの *repA* 遺伝子に１アミノ酸欠失変異を導入することにより、多コピー型に変換することを試みた。得られた pSO246R は、プラスミドの収量から、*M. smegmatis* で約５倍、BCG で約４倍にコピー数が増加していた。*M. smegmatis* での HIV-1 Gag 発現レベルは、元の pSO246 を用いた場合の約 10 倍程度増強していた。今後 BCG での Gag あるいは Env 発現の改良に応用する。

［松尾和浩(日本 BCG 研究所)、横溝香里(日本 BCG 研究所)、堀端重男(日本 BCG 研究所)、山本直樹］

(2) 改変型 *env* 遺伝子を用いた抗酸菌分泌シグナル遺伝子の検討

Sec 系シグナル遺伝子（*alpha* 及び *mpb64*）に改変型 *env* 遺伝子（*gp140*）を繋いだベクターを BCG に導入した場合、コロニーをほとんど形成せず、形成された少数のコロニーを PCR 法で解析した結果、*env* 遺伝子は検出されなかった。一方、Tat 系シグナル遺伝子（*blaF*）に *gp140* 遺伝子を繋いだベクターを BCG に導入するとコロニーを多数形成し、形成されたコロニーからは *env* 遺伝子が検出された。*env* 遺伝子が検出された組み換え体を WB 法により解析すると、ほとんどの株が Env 抗原を菌体内で高発現していた。各シグナルに繋いだ *gp140* 遺伝子及び Env 抗原の BCG における安定性は、*blaF* 遺伝子（Tat 発現系）>*alpha* 及び *mpb64* 遺伝子（Sec 発現系）であることが考えられる。

［堀端重男（日本 BCG 研究所)、横溝香里（日本 BCG 研究所)、松尾和浩（日本 BCG 研究所)、山本直樹］

(3) Tat 系シグナル *blaF* 遺伝子に繋いだ各種改変型 *env* 遺伝子の検討

各種改変型 *env* 遺伝子を Tat 系シグナル *blaF* 遺伝子に繋いだ場合、どの改変型 *env* 遺伝子が効率よく抗酸菌へ導入され､安定して Env 抗原を高発現するかを検討した。*env* 遺伝子の安定性において､*gp120dV12*､*gp145dV12dCFI* 及び *gp145dCFI* は他の組換え体より、遺伝子の導入効率が悪かった。*gp140* 関連遺伝子については V1、V2 領域を脱落させる事と BCG 菌体内における *env* 遺伝子の安定性については特に相関がなかった。PCR 法による *env* 関連遺伝子の陽性率は、*gp120*>*gp140* 関連遺伝子>*gp145* 関連遺伝子であることから、BCG 菌体内において *env* 遺伝子の安定性に関わっているのは主に gp41 の部分である事が示唆された。

［堀端重男（日本BCG研究所)、横溝香里（日本BCG研究所)、松尾和浩（日本BCG研究所)、山本直樹］

(4) 改変型Env抗原発現組み換えBCGワクチンの開発と検討

前述した組み換え BCG（rBCG/blaF140BdV12dCFI）は、Env 抗原を菌体外に分泌しないものの、菌体内では安定して高発現しており、この組み換え BCG を用いてマウスの免疫実験を行った。同 *env* 遺伝子を有する DNA ワクチン群と比較して、Env 特異的細胞性免疫及び液性免疫を評価したが、DNA ワクチン群には及ばなかった。やはり、Env 抗原を菌体外に分泌することは、菌体のストレス軽減や液性免疫の誘導だけでなく、Env 特異的細胞性免疫を効率良く誘導するのに重要であると考えられる。現在は、同実験のフォローアップを行いながら、ベクター改良を含めた発現･分泌系を検討し､Env 抗原分泌 BCG ワクチンの開発に取り組んでいる。

［堀端重男（日本 BCG 研究所)、横溝香里（日本 BCG 研究所)、松尾和浩（日本 BCG 研究所)、山本直樹］

(5) 組換え BCG における HIV-1 Gag 抗原発現の最適化

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、免疫原性を高めるために有効と考えられる。そこで、組換え BCG における Gag 抗原分泌発現能の最適化について検討を行った。コドン至適化した gag 遺伝子配列を導入した組換え BCG では、コドン不変の配列よりも Gag 分泌発現能が増強した。しかし、コドン不変の配列でも高コピー数変異型プラスミドに組換えることで至適化した配列と同程度に Gag 分泌発現能を向上させることができた。今回得られた株は、Gag 分泌発現株として最適であると考えられた。

［横溝香里(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．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 ワクチン開発研究には、HIV 多様性に対する有効な防御免疫を明らかにする必要がある。手がかりのひとつは、動物モデルで実証された、生ワクチンが誘導する病原性 SIV に対する防御免疫である。本研究では、糖鎖

修飾変異生ワクチンを用いて、ウイルス多様性に対する有効性の検討と感染防御に働く宿主応答の解明を行う。ウイルス多様性に対する有効性を調べるために、チャレンジウイルスはワクチンとは HIV-1 サブタイプ間の相違性（アミノ酸レベルで 10-30%の違い）を持つ SIVsmE543 を用いた。SIVmac239 の 5 カ所の N 型糖鎖を欠失した 3 種の変異株（Δ5G, Δ5Gver1, Δ5Gver2）、3 カ所の N 型糖鎖を欠失したΔ3G をワクチンウイルスとした。生ワクチン感染ザル 11 頭に高容量(1000 $TCID_{50}$) の SIVsmE543 を静脈内接種した。サブタイプが異なるウイルスチャレンジ感染では、初期感染の制御はすべての動物で確認されたが、慢性感染期において個体間の感染制御の違いが明らかとなった。中和抗体は検出されなかった。しかしアカゲザルの MHC アリル解析から慢性感染期における感染抑制と MHC ハプロタイプとの関連性が明らかになった。ウイルス多様性に有効な宿主応答に影響を与える宿主遺伝的因子の存在が示唆された。

［杉本智恵、森 一泰］

3．粘膜免疫誘導アジュバントに関する研究

HIV ワクチン開発において粘膜免疫誘導が可能であれば、HIV の主な侵入門である生殖器粘膜での感染阻止が期待される。昨年度までに同定したキトサン関連物質のうち、キトサン微粒子とカチオン化キトサンを主に使用し、カチオン化度の差異および免疫経路等に関して検討した。マウスにおいて OVA あるいは HIV-1env タンパク質をアジュバント候補と混合し経鼻免疫を行いその抗体反応を解析した。また env タンパク質に対する抗体の中和活性を検討した。またカニクイサルを使用した基礎検討においても副作用を認めず、カチオン化キトサンおよびキトサン微粒子に個体差があるものの経鼻投与によるアジュバント活性を抗体産生能により確認した。今回の研究より、ワクチンアジュバントとしてキトサン誘導体による粘膜免疫誘導が有効である可能性が示された。

［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. 耐性遺伝子超高感度定量法の開発及び潜在的薬剤耐性 HIV 発掘調査

未治療 HIV 感染者の中にも存在が予想されている薬剤耐性 HIV、すなわち潜在的薬剤耐性 HIV 発掘調査を目的として、昨年度に耐性遺伝子超高感度定量法を開発した。同法を用いて潜在的薬剤耐性 HIV 発掘調査の準備を行った。また、発掘が予想される体内薬剤耐性 HIV の感染性の新規指標確立を目的として、一昨年度までに開発した超高感度 HIV 逆転写酵素活性定量法を用いて感染者体内の HIV の 1 分子当たりの逆転写酵素活性を測定した。今年度は以下の成果を得た。1)潜在的薬剤耐性 HIV 発掘調査対象として静注薬剤常用者集団と同性性行為集団を対象に選定し、研究倫理面を含めた準備を開始した。2)RNA 1 コピー当たりの逆転写酵素活性（RT/RNA）が薬剤耐性 HIV を含めて、HIV 感染性の新たな指標となる可能性を確認した。

［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新規 HIV プロテアーゼ薬剤耐性検査法基盤技術の開発

HIV 治療における薬剤耐性検査は、患者に対して適切な治療薬を選択する上で欠かせない検査である。しかし、薬剤標的分子である HIV タンパク質の酵素活性に基づいて耐性を評価できる検査法は、現時点において実用化されていない。我々は、コムギ無細胞系と AlphaScreen 系を用いて、HIV プロテアーゼ（PR）の活性を指標とした薬剤耐性検査法の開発に成功した。本法では、サブクローニングすることなく PCR のみで in vitro 転写鋳型の作成が可能であり、これらから 384 種類のタンパク質を一日で全自動合成できる。さらに合成した PR を用いて酵素活性を定量的に測定することに成功し、薬剤耐性 PR を用いたモデル実験結果が、遺伝子型検査法と良く合致することを確認している。本法は、短期間で安価に的確な薬剤耐性情報を提供できるため、患者の利益にかなう有用な検査法になるものと期待される。

［正岡崇志、梁 明秀、杉浦 亙、巽 正志、松永智子（愛媛大学）、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 21 年 3 月の時点で累積 8,150 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 年度以降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 20 年度は各地の拠点病院等における薬剤耐性で治療困難に陥っている症例に関連するアンケート調査を実施した。その結果合計 2715 例の治療患者に対し 51 例の薬剤耐性症例が報告され、わが国における薬剤耐性症例の頻度が 2%以下であることが明らかになった。薬剤耐性による治療困難症例の多くは 1995 年以前に治療を開始したものが多いことも明らかになった。

[杉浦 亙、宮崎菜穂子、三浦秀佳、鈴木寿子、藤野真之、山本直樹、服部純子（名古屋医療センター）、伊部史朗（名古屋医療センター）、藤崎誠一郎（名古屋医療センター）、松田昌和（三菱化学メディエンス株式会社）]

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:288 例、04 年:290 例、05 年:423 例、06 年:457 例、07 年：473 例、08 年：620 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 03 年:4.9%、04 年:5.2%、05 年:7.8%、06 年:6.6%、07 年：9.7%、08 年：8.1%と年々増加の傾向が認められている。

[杉浦 亙、藤野真之、鈴木寿子、三浦秀佳、西澤雅子、山本直樹、服部純子（名古屋医療センター）、伊部史朗（名古屋医療センター）、藤崎誠一郎（名古屋医療センター）松田昌和（三菱化学メディエンス株式会社）]

5. 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（>20000）のスクリーニングを行った。その結果、新薬の候補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 効果の増強を目指してきたが、その結果、現在では IC_{50} が既存の薬と同程度もしくはさらに増強した化合物の合成に成功している。候補化合物の作用機所は逆転写後、組み込み前と絞り込まれており、「PIC 機能阻害剤」と呼称することとなった。平成 20 年度は化合物の分子標的の同定、類縁化合物の合成と評価、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 実験等を実施した。

[三浦秀佳、西澤雅子、村田大悟、杉浦 亙、吉居廣朗（名古屋医療センター）、岩谷靖雅（名古屋医療センター）、田中晴雄（北里大学）、野村伸彦（富山化学工業株式会社綜合研究所）]

6. 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の解析を行った。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（三菱化学メディエンス株式会社）、杉浦 亙]

7. 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。つぎに IN に観察された多様性がラルテグラビルの感受性に及ぼす影響を明らかにするために、HIV 多剤耐性患者 3 症例, 及び HXB2 のインテグラーゼ遺伝子に、ラルテグラビルに対する耐性変異を導入した。各々5 種類（148K，148R，148H，155H，148K＋155H）作成した。各クローンは 293T にトランスフェクションし、その上清を MT-2 へ感染させ RT 活性により感染性を、シークエンスにより配列を確認した。計 20 クローン中 13 クローンについて感染性を確認したので今後それらのクローンについてラルテグラビルに対する感受性を調べる予定である。

［鈴木寿子、松田昌和(三菱化学メディエンス)、藤野真之、西澤雅子、杉浦 亙］

8. 高感度薬剤耐性検査法を用いた微少集族薬剤耐性 HIV 検出の試み

近年、ダイレクトシーケンスでは検出不可能な微少集族として患者血中に存在する薬剤耐性 HIV が将来の抗 HIV 治療に影響を与える可能性が示唆されている。そこで米国疾病対策局(CDC)で開発された定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法を日本へ導入し、患者血中に存在する微少集族薬剤耐性 HIV の検出を試みた。CDC で開発された検査法は 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行い、CRF01_AE で逆転写酵素阻害剤耐性変異の M41L、K70R、K103N、Y181C、M184V、T215Y/F の 7 変異について検出法を確立した。Subtype B については、上記 7 変異に加えて K65R の検出法が確立している。この検査法を用いて、ダイレクトシーケンス法では薬剤耐性が検出されなかった新規感染患者 28 症例（Subtype B 17 症例、CRF01_AE 11 症例）について解析した結果、2 症例からダイレクトシーケンスでは検出できなかった T215I と K103N を検出した。また Subtype B の治療中患者 11 症例を解析した結果、1 症例からダイレクトシーケンス法では検出されなかった T215Y を検出した。これらの結果から、ダイレクトシーケンスでは検出されない薬剤耐性 HIV が広く存在している可能性が示唆された。

［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（米国疾病対策局），Walid Heneine（米国疾病対策局）］

9. プロテアーゼ阻害剤耐性 HIV 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 臨床分離ウイルス 21 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行った。その結果多剤に対して高い耐性を示したウイルスでもダルナビルは最高 7 倍程度の耐性しか示さず、サルヴェージ薬剤としての有効性が期待された。

次に DRV に対して 7 倍の耐性を示した臨床分離株を用いて、DRV に対する更なる薬剤耐性誘導を行った。DRV との共培養開始後 334 日において、IC_{50} の 4000 倍の濃度においても本臨床分離株は T 細胞株に感染し増殖する事を示した。一方野生型の HIV 株は同時期においても 13 倍の濃度においてのみ増殖する事が可能であった。プロテアーゼ領域の遺伝子解析を行った結果、臨床分離株において新たに V32I の変異を獲得している事が明らかになった。DRV は既存 PI 耐性 HIV に対するサルベージ療法において効果が期待されているため、DRV 耐性ウイルス誘導および解析は特に重要である。今後耐性獲得の機序について更なる解析を行う予定である。

［藤野真之、鈴木寿子、三浦秀佳、杉浦 亙］

10. 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。5-Nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester(NACME)が酵素活性阻害を示す一連の化合物中に認められ、リード化合物のうち5-nitro-furan-2-carboxylic acid [[4-(4-bromo-phenyl)-thiazol-2-yl]-(tetrahydro-furan-2-ylmethyl)-carbamoyl]-methyl ester (NBTC)はレトロウイルス逆転写酵素に内在するRNase H活性を選択的に阻害しHIV-1複製を阻害する事を証明した。この作用機序は、候補化合物がRNase Hの活性中心に位置する保存された

ヒスチジン残基とマグネシウムイオンに配位することによる酵素活性阻害と推測された。電算機を利用した立体構造解析をもとに、これ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、辰巳絢子（千葉大学）、藤 秀義（千葉大学）、星野忠次（千葉大学）、山本直樹］

11．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

エイズウイルスに対するヒトモノクローナル中和抗体をもとにした抗体医薬は、エイズの動物モデルとヒトにおける治験において治療・予防効果が実験的に証明されている。よって中和抗体研究は技術のノウハウと得られた抗体がエイズワクチンと治療法開発に直結する重要な研究であると考えられる。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(SOP)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、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あった。抗体遺伝子発現クローニングやヒトハイブリドーマ法等の技術を応用することによりSOP法の改善を行っている。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］

12．HIV-1 receptor CXCR4のリガンド非依存性多量体化に関する研究

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感染を侵入時にブロックするための方策を与える。CXCR4は多量体化することが知られているが、多くのGPCRと同様に２量体であるか、３量体以上を形成するかは検証されていなかった。また、多量体化の生物学的意義も未だ不明である。我々はCXCR4にmonomeric Kusabira GreenのN末端およびC末端断片を結合した融合タンパク質およびrenilla luciferaseの融合タンパク質を使用してBRET/BiFC系を構築し、CXCR4が２量体であるか、３量体以上を形成するかについて生物物理学的方法による直接的な検証を試みた。CXCR4がCXCR2やCXCR3との相互作用を認めない条件下で、我々は生細胞からCXCR4のBiFC/BRETシグナルを検出し、CXCR4が3分子以上の高次複合体を形成していることを証明した。多量体化するウイルスレセプターを制御する事によりエイズの新規治療薬開発に結びつく可能性が期待される。
［駒野 淳、浦野恵美子、二橋悠子、青木 徹、濱武牧子、山本直樹］

13．経口投与可能なCXCR4阻害剤の研究・開発

CXCR4はHIV-1の主要なコレセプターの一つであり、そのアンタゴニストは新しい作用機序を有する抗 HIV-1剤の候補として期待されている。私達は、新規 CXCR4アンタゴニストKRH-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}: ー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、濱武牧子、駒野 淳、田中勇悦(琉球大学)、田中礼子(琉球大学)、大隈 和、熊倉 成（クレハ）、山崎 徹（クレハ）、谷中 幹郎（クレハ）、前田洋助（熊本大学）、山本直樹］

14．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）、小森谷真央（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. 我が国における HIV-1 感染症の最新動向: 非大都市圏からみた新知見

1990 年代はじめに多数の外国人感染者が報告された茨城県に注目し、わが国非大都市圏における HIV 感染症の動向の一端を明らかにすることを目的とした。茨城県における遺伝子型分布 (n＝36)は、CRF01_AE (17, 47.2%); B (18, 50%); 不一致例 (CRF01_AE と B 間の組換えあるいは重感染) (1, 2.8%)であった。異性間性接触による感染者 (n=19)では CRF01_AE が全体の 63% (12/19)を占めた。MSM (n=7)では全てサブタイプ B であった。2004 年以前は CRF01_AE が 67% (12/18)を占めていたが、2005 年以降はサブタイプ B が 72% (13/18)に増加した。この地域では、先に解析を行った長野県と同様、東南アジアを起源とする CRF01_AE の異性間感染ルートによる感染の広がりが見られ、サブタイプ B の MSM が圧倒的に優位な大都市圏とは、異なる特徴をもっていた。1990 年代はじめに侵淫をはじめた CRF01_AE が、主に異性間感染のルートによって拡がり、今日に至っている状況を推測させる。しかし、近年、CRF01_AE 優位から大都市圏型のサブタイプ B 優位へ徐々にシフトしつつある傾向が見える。実効的な予防戦略立案のためには、継続的モニタリングと疫学的検討が不可欠であり。流行動態と社会風土を考慮した地域ごとの戦略が求められる。

［長谷彩希、上西理恵、廖 華南、草川 茂、武部 豊、高山義浩（長野県エイズ拠点病院ネットワーク）、四本美保子（長野県エイズ拠点病院ネットワーク）、高橋 央（長野県エイズ拠点病院ネットワーク）、斎藤 博（長野県エイズ拠点病院ネットワーク）、 人見重美（筑波大学附属病院感染症科）］

2. アジアでの新しいタイプの組換え型流行株(circulating recombinant form, CRF) の同定とその解析

HIV-1 サブタイプ B' と CRF01_AE は、タイを中心とする東南アジア地域の流行に重要な役割をもっている。両ウイルスは 90 年代初め以来、17 年以上にわたってこれら地域に co-circulate しており、これまでに、両ウイルス間の組換えによる 3 種の組換え型流行株 (CRF) (タイにおける CRF15_01B, CRF34_01B; マレーシアの CRF33_01B)が発見されてきた。今回、われわれは、マラヤ大学との共同研究によって、マレーシア東部の IDU から得た検体 (n=17) を対象とする分子疫学的解析の結果、CRF33_01B (13/17), サブタイプ B' (1/17) の他に、既知のいかなる遺伝子型にも属さない新しいタイプのクラスターを見出し、それが新型 CRF (CRF46_01B)であることを明らかにした。CRF46_01B は、先にマレーシアで同定されていた CRF33_01B と極めて近縁な組換え構造をもち、組換え点の 1 個を共有していた。系統関係および共通祖先年代 (time of the most recent common ancester, tMRCA) の解析から、CRF46_01B は CRF33_01B を直接の祖先とする第２世代の CRF であることが明らかとなった。この地域では、様々な組換えウイルスが生み出されており、継続的なモニタリングの必要がある。

［Yue Li, Kok Keng Tee、廖 華南、上西理恵、長谷彩希、Xiaojie Li、草川 茂、武部 豊、Adeeba Kamarulzamen.（マラヤ大学医学部）］

3. ウイルス伝播の時間的・空間的ダイナミックスの可視化

病原体ゲノムの進化と播種の時間的・空間的ダイナミックスの解明は、流行の成り立ちの理解に重要である。われわれは、東南アジアにおける HIV-1 CRF01_AE 流行年代決定に関する解析結果をモデルとして、Lemey による Phylogeography ツールを用いることによって、CRF01_AE の世界伝播の時間的・空間的ダイナミックスの地図上への描出・可視化を試みた。CRF01_AE のほぼ完全長の塩基配列情報に基づく系統関係の解析の結果、世界の CRF01_AE は、タイ株と起源の古いアフリカ株に

大別されるが、ベトナムに分布するウイルス (n=32) はタイ型ウイルスに属する 3 つのクラスターに分類できることが明らかとなった。この 3 クラスターは、ほぼ例外なく特定の地域とリスク集団に対応し、クラスター 1 はベトナム南部の性感染者(13/16)、2 は南部の IDU (8/8)、3 はベトナム北部および隣接する中国広西省略の IDU (8/8) に由来した。共通祖先年代は、アフリカ株が 1968.1 (58.0-76.2)、タイ株が 1977.9 (70.1-83.1)、クラスター1, 2, 3 は、それぞれ 1983.2 (77.9-86.8), 1988.2 (84.2-90.8), 1993.2 (91.2-94.7)と推定された。これらの事実より CRF01_AE 流行は、異なる地域・リスク集団へのファウンダー株の遂次的な波及によって形成されていることが明らかとなった。新プログラムを用いることで、CRF01_AE の中央アフリカ→タイ→ベトナム南部 (Sexual)→南部 (IDU)→ベトナム北部/中国広西 (IDU) へのウイルス播種の動態を世界地図上に描出・可視化することが可能となった。本新技法は、トリインフルエンザ A-H5N1 ウイルスのアジアを起点とするウイルス播種の動態解析などに応用されているが、HIV-1 を含む病原体の世界伝播の時間的・空間的ダイナミックスの総合的記述を可能とする分子疫学研究の有用な新しいツールとなることが期待される。

［武部 豊、上西理恵、廖 華南、長谷彩希、Pham Hong Thang（ベトナム・国立衛生疫学研究所）、Nguyen tran Hien（ベトナム・国立衛生疫学研究所）、Oliver Pybus（英国・オックスフォード大）、Philippe Lemey（ベルギー・レガ研究所）］

4. 家族内感染例 NH3 に見出された高度薬剤耐性の発達機構への組換えの関与

HIV-1のゲノム間に生じる遺伝子組換えは、遺伝子座間の連鎖を解消して新たな組み合わせを生じることで、ウイルスの多様性の増大に寄与していると考えられている。薬剤耐性変異の一部では複数遺伝子座の組み合わせによってfitnessが低下するエピスタシスが予想され、実際に耐性変異の適応進化が組換えによって生じやすくなっている例もある。遺伝子組換えがウイルスゲノムの多様性の形成に果たす役割は明らかであるが、その寄与の程度については情報が少ない。ウイルスの生存を左右する遺伝子型の多様性に対する組換えと突然変異の様々な選択圧における寄与を集団遺伝学的な手法で推測し、in vivo, in vitroにおけるそれらの値を比較した。エピスタシスが観察される遺伝子型として、RT領域の41L, 69位挿入変異、210W, 215Yの４つの遺伝子座に注目した。in vivo の観察例として、AZT+ddIによる治療によってこれらの耐性変異が生じた日本人の感染例（Sato et al 2001)を用いた。また、組換え直前の遺伝子型を持つ患者由来ウイルスの感染性クローンを作成し、薬剤耐性試験と種々のNRTI濃度下におけるin vitro競合感染実験を行った。感染者の各治療時期と競合感染実験の感染後のいくつかの時期に、RT領域の配列クローン（590bp or 626bp)を多数採集し、塩基配列を得た。組換えの存在は、bootscan解析・subregion tree・phylogenetic network解析・IDL検定・およびin vitroにおいては人工的な中立変異の直接観察により行った。In vtro実験では、近接変異座間の組換え価から交叉率を推定した。連鎖の解消が観察される遺伝子座ペアの関係をcoalescentモデルに基づいて解析することで、組換えによって生じた遺伝子型の集団中での生存時間を推測することができる。突然変異の集団中での生存時間も同様に推測可能であり、この２つの推測値の比を求めることで、多様性に関する組換えの寄与を知ることが可能となる（Charpentier et al. 2006）。これらの推定には、LDHatパッケージ中のpairwiseプログラムを用いた。様々な分子進化学的解析は、in vitro, in vivo双方で耐性変異座間の組換えの存在を示唆した。in vitro競合感染実験における遺伝子頻度の経時変化から、耐性変異の組み合わせに対する選択圧が確認されたが、個々の耐性変異には強い選択圧が観察されず、エピスタシスの状態にあることが示唆された。多様性に関する組換えと突然変異の寄与は、in vitroでは薬剤環境にかかわらず一定であったが、in vivoでは時期によって組換えの寄与が大きく変化することがわかった。

［椎野禎一郎、保科佳美、武部豊］

IV. HIV-1 感染性クローン樹立法ならびに各種研究技術の確立

1. MDM に感染性を有する HIV-1 CRF08_BC 感染性分子クローン

これまでに私たちは、アジアにおいて収集、分離したHIV-1分離株から、地域特異的に流行しているサブタイプ・CRFの感染性分子クローンを樹立してきた。CRF08_BCは中国南西部における主要な流行株である。私たちが分離株HH040から樹立したCRF08_BC感染性分子クローンは、いずれもCCR5をコレセプターとして使用するR5ウイルスであったが、分離株が増殖する末梢血由来マクロファージ(MDM)では増殖できなかった。

そこで、すでに樹立したクローン HH040_22eapx4 の env 遺伝子を含む、制限酵素 PacI と XhoI で認識される領域を、同じテンプレートから新たに PCR によって増幅したフラグメントと置換したクローンを作製し、スクリ

ーニングを行った。その結果、感染性を有する３クローンが得られた。それらはいずれもR5ウイルスであった。MDM に対する感染性を検討したところ、そのうちのひとつが、MDM においてわずかに増殖した。その塩基配列を決定し、HH040_22eapx4 と比較したところ、envgp120 の V5 周辺に特徴的な４アミノ酸の変異と１アミノ酸の欠失が見られた。これらの変異が、MDM へのトロピズムに関係している可能性が示唆された。
［草川 茂、武部 豊］

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由来分離ウイルス及び BBI 社より購入した HIV Subtype Infectivity Panel (PRD320)由来ウイルスに応用して感染性分子クローンを樹立した。

(1) 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 Processivity, 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 Max DNA polymerase を現在までの当室での標準酵素である Takara 社の PrimeSTAR GXL DNA polymerase 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、Takara PrimeSTAR Max は GXL と比較して長鎖の伸展効率が低いが Fidelity がより高いことから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、巽 正志］

(2) 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。現時点で既に主要な 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ている。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 プロウイルスを 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。昨年度はその樹立効率は実用にはまだ低かったが、Primer 設計の改善と組換え酵素の安定性が向上したことにより樹立効率が向上した。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］

(3) 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薬剤耐性ウイルスから引続き標準株クローン樹立を継続している。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］

(4) 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昨年度に開始した。PRD320 Panel member 20 株のウイルスの全てについて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ところ、subtype/CRF の標準株として用いられているこれらのウイルスのうち３株のウイルスは標記の subtype/CRF と異なることが示された。現在これら異なるゲノム構成の詳細を解析している。
［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．宿主微小管ネットワークは SOCS1 による HIV-1 Gag の細胞内輸送に必須である

サイトカインシグナルサプレッサーSOCS1 は HIV-1 Gag に結合し、Gag の細胞内輸送とウイルス粒子形成を促進する。我々は、SOCS1 を分子プローブとして用いることにより、Gag の細胞内輸送の分子機構の解明を試みた。その結果、SOCS1 は Gag のユビキチン化を促進させることにより、Gag タンパク質と微小管の相互作用を促進することが明らかとなった。また、薬剤を用いて微小管重合を阻害すると、SOCS1 による Gag の細胞膜への輸送が著しく阻害されたことから、Gag のユビキチン化と微小管への結合が、Gag の細胞内輸送とそれに引き続く粒子形成に重要な役割を果たすことが示唆された。
［梁 明秀、西真由子、大庭賢二、山本直樹］

2．OX40L/OX40 システムの HIV-1 感染に与える影響

HIV-1 が宿主細胞に感染後、増殖し、宿主細胞から出芽する際には、様々な宿主由来タンパクをその粒子内に取り込むことが知られており、さらにその取り込まれたタンパクはその後の HIV-1 感染に様々な影響を与える。そこで我々は接着分子としても知られている OX40L 分子と OX40 分子に着目し、これらの HIV-1 感染に与える影響を調べた。まず、それぞれの分子に対するモノクローナル抗体を使った immunocapture 法により、それぞれのタンパクが産生されたウイルス粒子に取り込まれているのかを調べたところ、両分子ともに確認された。そこで OX40 分子または OX40L 分子を発現させた細胞（TZM-bl cells, primary T cells）に、OX40L 分子または OX40 分子を取り込んだ HIV-1 を感染させ、それらの分子の感染効率に与える影響を調べた。その結果、OX40L/OX40 システムが HIV-1 の感染効率を高めることがわかった。これらの結果は、さらなる HIV-1 感染病理、病態の解明に役立つものと思われる。
［高橋良明、村上 努、駒野 淳、山本直樹、田中勇悦（琉球大学）］

3．濾胞樹状細胞による PSGL-1 分子を介した HIV-1 複製刺激機構の解明

濾胞樹状細胞 follicular dendritic cell (FDC)は他の樹状細胞と異なり、一次濾胞に存在し、B 細胞とクラスターを形成して B 細胞の活性化に関与することが知られている。我々は FDC を種々の HIV 感染細胞と共培養すると HIV ウイルス産生が顕著に増加することを見出した。この増加は FDC 細胞膜上の P-selectin と、HIV-1 感染細胞膜上の PSGL-1 分子を介した細胞-細胞間相互作用が必須であり、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 の活性化が重要であることが明らかとなった。これらの結果は、FDC と HIV-1 感染細胞による細胞-細胞間分子相互作用が直接的にウイルス増殖を促進することを示し、当該因子が HIV-1/AIDS 治療における新たな分子標的として役立つ可能性があることが示唆された。
［大庭賢二、梁 明秀、西真由子、添田浩美、寺嶋一夫(東京医科歯科大学)、山本直樹］

4．BCA2/Rabring7 による抗 HIV-1 活性の解明

膜蛋白質 tetherin/CD317/BST-2 は、レトロウイルスやその他のエンベロープウイルス粒子を細胞膜表面に繋留することでウイルス粒子の放出を抑制する。しかし、繋留されたウイルス粒子がいかにして細胞内に取り込まれて消化されるかという詳細な分子機構は未だ明らかになっていない。今回我々は、tetherin と協調する宿主因子として BCA2/Rabring7 を同定した。BCA2 は tetherin と協調して、細胞膜上のウイルス粒子の細胞内への取り込み、およびリソソームでの分解を促進するユニークな抗 HIV-1 因子であると考えられる。
［宮川 敬、梁 明秀、大庭賢二、村上 努、山岡昇司（東京医科歯科大学)、福田光則（東北大学)、John Guatelli（カルフォルニア大学)、山本直樹］

5．HIV-1 アクセサリータンパク質 Nef 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 と相互作用することで、NF-κB を活性化することを見出した。Hck は Nef 発現細胞において p65 と結合し、濃度依存的に NF-κB を活性化させた。一方で、キナーゼ活性を失活させた Hck 変異体ではむしろ NF-κB の活性化を抑制した。Nef と Hck を細胞に共発現させると、NF-κB 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ことが示唆された。

［Jeong Soo-Jin, 梁 明秀、山本直樹］

6. 細胞極性制御キナーゼ aPKC による HIV-1 Gag のリン酸化及びその生理的意義

現在、病原体と宿主因子との機能的相互作用についての解析は、一研究分野を形成するほど様々な局面で押し進められており、HIV-1 についても例外ではない。我々は、その中でも特にリン酸化という翻訳後修飾に着目し、HIV-1 の Gag タンパク質をリン酸化するキナーゼの同定を、コムギ胚芽ハイスループット合成系及び検出系を利用して押し進めた。その結果、我々は、進化的に保存された細胞極性制御キナーゼとして知られる aPKC が、HIV-1 Gag の p6 領域をリン酸化する事を見いだした。MS/MS 解析により当該リン酸化部位を同定したところ、このリン酸化部位は、HIV-1 Vpr と Gag との相互作用部位に含まれていた。当該リン酸化部位の点変異体により Gag と Vpr との結合は抑制され、放出された Virus like particle（VLP）に取り込まれる Vpr の量は減少した。このことは、当該リン酸化によりウイルス粒子に含まれる Vpr の量が正に制御されている事を示唆している。ウイルス粒子における Vpr 含有量が、HIV-１の病原性にどれほどのインパクトを与えるのかという点について今後解析を進めて行く予定である。

［高濱正吉（愛媛大学）、澤崎達也（愛媛大学）、岡山明子、赤木達也（愛媛大学）、遠藤弥重太（愛媛大学）、山本直樹、梁 明秀］

7．P-TEFb 複合体の活性化を制御する宿主因子 Cyclin K/CPR4 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。P-TEFb複合体はCyclin T1/T2/KとCDK9からなる複合体で、HIV-1のtat がウイルスプロモーターの転写を活性化するためにはCyclin T1を含むP-TEFb複合体の存在が必須である。これに対し、Cyclin Kは細胞遺伝子の発現を阻害せずHIV-1のtat依存的LTR転写を選択的に阻害する活性があると予測されていた。これを実証するために複数のヒトT細胞株にCyclin Kを導入しウイルス複製をモニターしたところ、Cyclin Kの発現は強力にHIV-1複製を阻害することが示された。このHIV-1複製阻害は転写を標的にすることが示された。以上の結果は転写の制御がHIV-1複製を選択的に阻止するために重要な作用点であることを示すと同時に、Cyclin Kの発現増加がHIV-1感染症の病期進行を制御している可能性を示唆する。また、Cyclin Kの発現を誘導することが抗HIV-1戦略の重要な選択肢であることを示している。

［浦野恵美子、二橋悠子、濱武牧子、山本直樹、駒野 淳］

8．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はGagの細胞膜targeting・Gag集合・細胞表面への輸送・budding・感染初期過程に重要な機能を持つ。しかしミリストイル化の持つ役割についての解析は相同の機能ドメインによる交換ができないことから十分進展していなかった。我々はGagのミリストイル化シグナルを欠失させ、N末端にいくつかの異なる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やフォスフォリパーゼCガンマのプレクストリンホモロジードメインと交換可能であることが判明した。とくにプレクストリンホモロジードメインをGagのN末端に付加したPH-Gagは野生型に対して同様の形質膜targeting効率を示し、数倍のウイルス産生増加能を持ち、VSV-Gによるpseudotypingにより調整されたウイルスベクターの感染性は野生型と同様であるという特性を示した。ミリストイル化がなくても感染性ウイルスを産生できることを実証したのは本事例が世界で初めてである。今後さらにPH-Gagを解析することにより

Gagの機能がより深く理解され、Gagを標的とした新たなHIV-1治療薬の開発や、遺伝子治療に応用されているレンチウイルスベクターの改良に結びつけることが出来ると期待される。
［青木 徹、浦野恵美子、二橋悠子、濱武牧子、清水佐紀、村上 努、山本直樹、駒野 淳］

9．T細胞における機能的cDNAライブラリースクリーニングの構築とHIV-1複製阻害因子Brd4 C末端の同定

HIV-1複製には複雑な宿主ウイルス相互作用がある。ゲノムワイドなスクリーニングにより網羅的にウイルス複製を制御する宿主因子を同定するための試みは全世界で行われているが、T細胞を標的として複製可能なHIV-1を使用した網羅的解析はほとんど例がない。我々はヒトT細胞株MT-4にヒトcDNAをレンチウイルスベクターにて導入し、安定に外来遺伝子を発現したT細胞を樹立し、これにHIV-1を感染させ、HIV-1感染が抑制された細胞を選択しHIV-1耐性遺伝子を同定した。その結果、P-TEFb複合体の制御因子として知られるbromodomain containing 4 (Brd4)のC末端断片が同定された。我々はこれをT細胞に再導入してもT細胞の増殖は抑制されず、HIV-1の複製は阻害されることを検証した。本実験系は異種の動物細胞やHIV-1耐性形質を示す細胞からヒトT細胞を使用してHIV-1耐性遺伝子を機能的なスクリーニング方法にて選択し同定することを可能にする可塑性の高い実験系であり、今後の更なるゲノムワイドなHIV-1制御因子探索が期待される。本研究により新たな創薬分子標的が同定され、基礎ウイルス学研究と創薬研究の橋渡しが可能になると期待される。
［浦野恵美子、苅屋祐美、二橋悠子、市川玲子、濱武牧子、森川裕子（北里大学）、山本直樹、芳田 剛（京都大学）、小柳　義夫（京都大学）、駒野 淳］

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

ヒト/HIV感染症の動物モデルとしてこれまでに確立したサル・エイズモデ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、昨年度のスクリーニングで感染予防内服剤としての可能性が示唆された薬剤についてさらに検討を加えた。６頭のサルを用いて検討した結果、ウイルス曝露の２週間前、しかも単回内服であってもCD4細胞数の減少を防ぐ例が確認されたことから、少なくとも発症予防あるいは発症遅延効果が期待できた。他の薬剤との併用により感染予防内服剤としての可能性が期待できることから、今後の検討が必要である。
［仲宗根正、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（ウイルス曝露非感染モデル）

ウイルス曝露非感染サルモデルの重要性は次のようにまとめられる。人類の中にはHIVに濃厚に曝露されるも感染しないヒトが存在する。いわゆるウイルス曝露非感染者である。彼らは理想的な抗HIV免疫を獲得していると考えられているため、特にその粘膜免疫の解析はワクチン開発の重要課題となっている。しかしながら、症例の発掘が困難であり、なおかつ粘膜面の解析にはサンプリング量・回数ともに制限が大きい。また、チャレンジ実験が不可能なことから、その症例が真に抗HIV免疫を獲得しているのかという確認も不可能である。ウイルス曝露非感染サルモデルはそれらの問題を解決し、HIV防御免疫本態の詳細情報を提供すると考えられる。昨年度に得られたウイルス曝露非感染サルモデルと思われる２頭について詳細に検討した結果、１頭はウイルス曝露非感染サルである可能性があるものの、他の１頭は感染成立が確認できたことから、ウイルス曝露非発症サルである可能性が示唆された。現在、その防御免疫について解析中である。
［仲宗根正、梁 明秀、山本直樹、網 康至(動物管理室)］

3．ウイルスの糖鎖修飾と病原性・感染防御免疫誘導との関連性

エイズウイルスは多数の糖鎖に覆われており持続感染、病原性を決定する因子となっている。我々はgp120の５カ所のN結合型糖鎖を欠失した変異株Δ5G を用いてΔ5Gの低病原性、野生株SIVmac239の病原性を決定する糖鎖の役割について研究を行っている。アカゲザルにSIVmac239、 Δ5Gを静脈内接種し、感染後7ー21日目に組織を採取し、各組織の免疫組織化学染色により感染組織・細胞を同定し、マルチカラーフローサイトメトリー、セルソーティングにより組織を構成する免疫細胞、感染細胞のサブセットを同定した。腸管粘膜組織における感染：SIVmac239感染では空腸、回腸、結腸において、Δ5G感染では空腸、回腸において多数の感染細胞が確認された。しかし感染部位が異なっていた。SIVmac239感染細胞は孤立リンパ小節に、Δ5G感染細胞は粘膜固有層に局在していた。初期感染における標的細胞であるCD4+T細胞のサブセット解析から、野生株感染ではcentral memory CD4+ 細胞の減少、Δ5G感染ではeffector memory CD4+CD8+T細胞の減少が明らかとなった。２次リンパ組

織における感染：野生株感染では腸管粘膜と同様に多数の感染が見られたが、Δ5G感染では、感染細胞の検出は初期感染早期に限られ1/10以下であった。末梢血中の感染CD4+T細胞のレベルにおいても数十分の１以下であり、野生株感染で観察されたCD4+CCR5+T細胞の減少は観察されなかった。野生株の主要感染組織は獲得免疫誘導のための２次リンパ組織であった。ところがΔ5Gの感染組織は腸管粘膜組織effector部位であった。免疫組織における感染の違いがウイルスの病原性、防御免疫誘導の違いの原因となっていることが推測された。
［杉本智恵、森 一泰］

VII. その他

1. iPS 細胞のレトロウイルス研究への応用

(1) 本所におけるヒト iPS 細胞培養法の確立

京都大学の山中伸弥教授らのグループによって開発された誘導多能性幹細胞（iPS 細胞）は、再生医療への応用のみならず、感染症領域においてもその活用が期待される。そこで、我々は、マウス肺線維芽細胞をフィーダー細胞として、KS-R 添加 KO-D-MEM 培地を用いて、国立成育医療センターで樹立された、ヒト肺線維芽細胞(MRC-5)由来 iPS 細胞の大量培養を試みた。コラゲナーゼを用いて継代し、培養を行ったところ、多能性を維持した状態で、iPS 細胞の大量培養に成功した。今後は本細胞をヒト化マウスへの移植を行い、個体内における分化誘導を行う予定である。
［武田 哲、西真由子、中川洋一、橋本麻衣、梁 明秀、山本直樹］

(2) 各種細胞を用いた iPS 細胞樹立法の検討

iPS 細胞の樹立法の確立は、多能性化に至る分子機構の解明のみならず、iPS 細胞を利用した様々な応用研究の実現のために必須である。我々は、ヒト歯髄細胞およびヒト不死化羊膜細胞にレトロウイルスを用いて３因子（KLF4、Sox2、Oct3/4）の導入を行い、iPS 細胞の樹立を試みた。その結果、各細胞株において、iPS 細胞様のコロニーを得る事ができた。また、ヒト不死化羊膜細胞において、プラスミドベクター（Oct3/4）とアデノウイルスベクター（Sox2）感染による２因子の導入でコロニーの形成を確認した。得られたコロニーに関しては多能性マーカーの免疫染色、RT-PCR、テラトーマ形成などによる解析を行う予定である。
［中川洋一、武田 哲、橋本麻衣、梁 明秀、山本直樹］

(3) ヒト腎上皮細胞からの iPS 細胞の作製

エイズの遺伝子治療、例えば、患者より採取した HIV の標的となる細胞に遺伝子操作により HIV 抵抗性を付与し患者体内に戻すような方法は、HIV 非感染幹細胞の量的確保等技術的なハードルが高かった。ところが、2007 年に京都大学の山中らによってヒト体細胞からの人工多能性幹細胞(Induced Pluripotent Stem Cells, iPS 細胞)の作製法が開発されたことにより、患者の HIV 非感染体細胞を初期化・遺伝子操作した幹細胞の大量調製の可能性が開けてきた。

本研究では、iPS 細胞作製技術の確立と併せてその遺伝子操作法を開発するために、まず、ヒト腎上皮初代培養細胞からの iPS 細胞樹立を試みた。その結果、形態的にヒト皮膚線維芽細胞由来の iPS 細胞に酷似した細胞株の樹立に成功した。それら細胞株は、アルカリフォスファターゼ染色、未分化細胞特異的抗原の免疫蛍光染色、未分化細胞特異的遺伝子発現の RT-PCR にて、その未分化性を確認できた。
［阪井弘治、武田 哲、梁 明秀、山本直樹、松村隆紀（首都大学東京）、宮本寛治（首都大学東京）］

2. プロリルイソメラーゼ Pin1 の HTLV-1 Tax タンパク質安定化に関する研究

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 の Ser160 に結合し、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 の分解はライソゾーム阻害剤の NH4Cl やクロロキン処理において顕著に抑制された。また、Pin1 は Tax によるマウス T 細胞株 CTLL-2 のトランスフォーションを顕著に促進した。以上の結果より、Pin1 は Tax に結合し、安定化させることで、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．HIV-1 におけるヒト遺伝子転移 (human sequence transduction)

われわれは、HIV-1 CRF01_AE 感染日本人症例に、逆転写酵素遺伝子のフィンガー領域への 33-ヌクレオチドからなる遺伝子挿入による極めて特殊な高度多剤耐性株を見出したが、この挿入変異がどのような機構で発生し

たか、またその起源は不明であった。この挿入配列の由来を解明するために、全ヒトゲノム配列に対して相同性（BLAST）検索を行った結果、ヒト 17 番染色体にほぼ完全な相同配列が存在することを明らかにした。HIV-1 を含むレトロウイルスでは、染色体にプロウイルスとして組み込まれた場合、約 10%のプロウイルス転写産物は、read-through を起こし、HIV-1RNA とヒト遺伝子に由来するキメラの転写産物が生成する。このキメラの RNA ゲノムと正常な HIV-1 ゲノムが対合し、逆転写反応が起こった場合、両ゲノムの間で微小な相同配列を利用して鋳型乗り換え（いわゆる microhomology-guided template switch）が起こり、HIV-1 ゲノムにヒトゲノムに由来する遺伝子配列が取り込まれたと考えられる。このような現象の古典的な例は、宿主の増殖・細胞周期関連遺伝子の取り込みによる腫瘍原性レトロウイルス（例：ラウス肉腫ウイルス）の発生である。HIV-1 は、他のレトロウイルスに比しても、より高い変異性 (mutagenicity)と組換え能力 (recombinogenicity)をもち、さらに一日当り $10^{9\text{-}10}$ に及ぶ高い増殖能力に加え、長期にわたる持続感染を引き起こすことから、そのゲノム多様性は極めて高いレベルにまで達し、薬剤耐性や免疫学的エスケープが容易に起こりやすいなどなどの際立った性質のウイルス学的基盤となっている。その可塑性が宿主遺伝子の取り込みにまで及ぶことを示した始めての報告であると考えられる。
［Alice Telesnitsky（ミシガン大学微生物）、武部 豊］

4. 新規マンノース特異糖鎖結合タンパク質による強力な HCV/HIV-1 エントリー阻害

HIV や HCV などのウイルス粒子表面に存在するエンベロープタンパク質は、高度の糖鎖修飾を受けている。糖鎖修飾はエンベロープタンパク質の適切な folding, assembly, さらにウイルス粒子の感染性獲得に不可欠である。ウイルス・エンベロープには、宿主細胞にはほとんど見いだされない高マンノース型糖鎖が豊富に付加しており、従って、高マンノース型糖鎖に特異的に結合する物質は、特異性の高いウイルス阻害剤としての可能性が期待される。われわれは、比較的最近に同定された２種の極めて強力なマンノース糖鎖特異結合タンパク質であるサイトビリン（SVN）とグリフィスシン(GRFT) の抗 HIV-1 および抗 HCV 効果を評価し、その結果、両者は low nM ~ sub nM レベルの極めて強力な HIV-1/HCV 阻害効果を示すことが明らかとなった。特に GRFT の抗 HCV 活性は、これまでに経験した物質の中で最も強力なものであった。両者は、レプリコン・アッセイでは阻害活性が見られないが、HCVpp アッセイを阻害することから、HCV エントリーを阻害することが明らかとなった。SVN, GRFT はウイルスエンベロープタンパク質の高マンノース型糖鎖に結合し、ウイルス粒子の標的細胞表面への非特異的吸着および受容体に対する特異的結合を阻害することによって、抗ウイルス作用を示すものと推定される。エントリーは、HIV に対する治療薬としてその有効性が示されているように、魅力的な治療標的であるが、SVN や GRFT は、特に microbicide、広範囲な病原体に対する吸着除去物質としての利用の可能性が期待される。
［上西理恵、長谷彩希、廖 華南、加藤佳代子、武部 豊、Kirk Gustafson（米国がん研究所 (NCI-Frederick)）、James B. McMahon（米国がん研究所 (NCI-Frederick)）、Barry G. O’Keefe（米国がん研究所 (NCI-Frederick)）］

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 検体からなる感染研公的 HIV-1 パネルとして運営されるよう、パネル運営委員会規程など公正な運営に必要なシステムを構築しつつある。診断キットメーカからなる臨床診断薬協会を通じた説明会などを開催し平成 21 年度内の運営実用化に向けて努めて行く予定である。

［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. 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、ウイ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った。各種抗原抗体同時測定診断キットでこれらのパネルを測定したところ、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。100 pg/mL の p24 gag 濃度で幾つかのクローンが検出出来ないキットについて、その責任抗原領域を分子モデリングと検出感度の相関を各クローンの p24 gag アミノ酸配列の比較をもとに解析を行っている。今後は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１回診断とモニタリングのための HIV 感染検査マネジメント」（平成 20 年 6 月 16 日-7 月 18 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３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。昨年度までの５年間は、近年の核酸に基づいた診断技術への需要に答えて「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きた。今年度から（各フェーズ３年）は、途上国のナショナルレファレンスラボ（またはそれに準する組織）にHIV感染・エイズの診断とモニタリングに必要な理論的背景知識およびそれらの検査技術の普及を図るため、「診断とモニタリングのためのHIV感染検査マネジメント」というコース名で研修を開始した。平成20年度は、ボツワナ、インド、マラウイ、ナイジェリア（２名）、セネガル、スワジランド、ザンビア、ジンバブエ（２名）の８カ国10名の研修員を対象に６週間にわたって村山分室研修棟を中心として技術研修を行った。研修内容は診断に必要な関連分野の講義、診断技術実習、施設訪問等を組み合わせたもので、実習は３つの小グループ制で行った。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、それを考慮して今年は３日間実施した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、梁 明秀、岡山明子、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）、岡部信彦（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）、本田美和子（国立国際医療センター）、畢 秀瓊（国立国際医療センター）、増田道明（獨協医科大学）、小柳義夫（京都大学ウイルス研究所）、高梨美乃子（東京都赤十字血液センター）］

II. その他

1．エイズ予防財団「アジア地域エイズ専門家研修」講師（平成 20 年 10 月 17 日）［山本直樹］

2．JICA「感染症のサーベイランスのための検査システムと情報の収集解析システムに関する研修」講師（平成 20 年 12 月 15 日）［山本直樹、巽 正志］

研修業務

1．薬学系 4 大学学生の見学・研修　講師「HIV/AIDS 研究」（平成 21 年 3 月 24 日）［村上　努］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1．欧文発表

1) Masaoka T, Nishi M, Ryo A, Endo Y, Sawasaki T: The wheat germ cell-free based screening of protein substrates of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II delta. FEBS Lett 582(13):1795-1801, 2008.
2) Takeuchi R, Ryo A, Komitsu N, Mikuni-Takagaki Y, Fukui A, Takagi Y, Shiraishi T, Morishita S, Yamazaki Y, Kumagai K, Aoki I, Saito T: Low-intensity pulsed ultrasound activates the PI3K/Akt pathway and stimulates the growth of chondrocytes in 3D-cultures: a basic science study. Arthritis Res Ther 10(4):R77, 2008.
3) Yoshino N, Kanekiyo M, Hagiwara Y, Okamura T, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Sato S, Yamamoto N, Honda M: Mucosal administration of completely non-replicative vaccinia virus recombinant Dairen I strain elicits effective mucosal and systemic immunity. Scand J Immunol 68(5):476-483, 2008.
4) 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 Epstein-Barr virus infection that reproduces persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. J Infect Dis 198(5):673-682, 2008.
5) Yamaguchi K, Sugiyama T, Kato S, Kondo Y, Ageyama N, Kanekiyo M, Iwata M, Koyanagi Y, Yamamoto N, Honda M: A novel CD4-conjugated ultraviolet light-activated photocatalyst inactivates HIV-1 and SIV efficiently. J Med Virol 80(8):1322-1331, 2008.
6) Miyake A, Dewan MZ, Ishida T, Watanabe M, Honda M, Sata T, Yamamoto N, Umezawa K, Watanabe T, Horie R: Induction of apoptosis in Epstein-Barr virus-infected B-lymphocytes by the NF-kappaB inhibitor DHMEQ. Microbes Infect 10(7):748-756, 2008.
7) Naganawa S, Yokoyama M, Shiino T, Suzuki T, Ishigatsubo Y, Ueda A, Shirai A, Takeno M, Hayakawa S, Sato S, Tochikubo O, Kiyoura S, Sawada K, Ikegami T, Kanda T, Kitamura K, Sato H: Net positive charge of HIV-1 CRF01_AE V3 sequence regulates viral sensitivity to humoral immunity. PLoS ONE 3(9):e3206, 2008.
8) Nomura W, Tanabe Y, Tsutsumi H, Tanaka T, Ohba K, Yamamoto N, Tamamura H: Fluorophore labeling enables imaging and evaluation of specific CXCR4-ligand interaction at the cell membrane for fluorescence-based screening. Bioconjug Chem 19(9):1917-1920, 2008.
9) 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(1): 13-21, 2008.
10) Yoshida S, Gatanaga H, Itoh T, Fujino M, Kondo M, Sadamasu K, Kaneda T, Gejyo F, Shirasaka T, Mori H, Ueda M, Takata N, Minami R, Suigura W and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Prevalence of frug resistance associated mutations in newly diagnosed HIV/AIDS patients in Japan from 2003-2007. Antiviral Therapy 13(3): A162, 2008.
11) 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: 134-141, 2008.
12) Bandaranayake RM, Prabu-Jeyabalan M, Kakizawa J, Sugiura W, and Schiffer C: Structural analysis of human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE protease in

complex with the subtype p1-p6. J Virol 82(13):6762-6766, 2008.

13) Liu P, Xiang K, Tang H, Zhang W, Wang X, Tong X, Takebe Y, Yang R: Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus in former blood donors in central China. AIDS Res Hum Retroviruses. 24(1): 1-6, 2008.
14) Takebe Y, Uenishi R, and Li XJ: Global molecular epidemiology of HIV: Understanding the genesis of AIDS pandemic. “HIV-1: Molecular biology and pathogenesis” (Kuan Teh Jeang ed), Advances in Pharmacology 56, p1-p25, 2008.
15) Xia X, Lu L, Tee KK, Zhao W, Wu J, Yu J, Li X, Lin Y, Mukhtar MM, Hagedorn CH, Takebe Y: The unique HCV genotype distribution and the discovery of a novel subtype 6u among IDUs co-infected with HIV-1 in Yunnan, China. J Med Virol. 80(7): 1142-1152, 2008.
16) Shinizu N, Tanaka A, Mori T, Ohtsuki T, Hoque A, Jinno-Oue A, Apichartpiyakul C, Kusagawa S, Takebe Y, Hoshino H: A formylpeptide receptor FPRL1, acts as an efficient coreceptor for primary isolates of human immunodeficiency virus. Retrovirology 25(Jun): 5-52, 2008.
17) Tee KK, Pybus OG, Li XJ, Han X, Shang H, Kamarulzaman A, Takebe Y: Temporal and spatial dynamics of human immunodeficiency virus type 1 circulationg recombinant forms 08 BC and 07 BC in Asia. J Virol 82(18): 9206-9215,2008.
18) Xia X, Zhao W, Tee KK, Feng Y, Takebe Y, Li Q, Pybus OG, Lu L: Complete genome sequencing and phylogenetic anaysis of HCV isolates from China reveals a new subtype designated 6u. J Med Virol 80 (10): 1740-1746, 2008.
19) Tee KK, Takebe Y, Kamarulzaman A: Emerging and re-emerging viruses in Malaysis, 1997-2007. Int J Infect Dis 13(3): 307-318, 2008.
20) Urano E, Kariya Y, Futahashi Y, Ichikawa R, Hamatake M, Fukazawa H, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi Y, Yamamoto N, Komano J: Identification of the P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 as an inhibitor of HIV-1 replication by functional cDNA library screening in MT-4 cells. FEBS Let 582 (29): 4053-4058, 2008.
21) Hamatake M, Aoki T, Futahashi Y, Urano E, Yamamoto N, Komano J: Ligand-independent higher-order multimerization of CXCR4, a G-protein-coupled chemokine receptor involved in the targeted metastasis. Cancer Sci 100(1): 95-102, 2008.
22) Urano E, Aoki T, Futahashi Y, Murakami T, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J: Substitution of the myristoylation signal of human immunodeficiency vius type 1 Pr55Gag with the phospholipase C delta 1 pleckstrin homology domain results in infectious pseudovirion production. J Gen Virol 89 (Pt 12): 3144-3149, 2008.
23) Urano E, Shimizu S, Futahashi Y, Hamatake M, Morikawa Y, Takahashi N, Fukazawa H, Yamamoto N, Komano J: Cyclin K/CPR4 inhibits primate lentiviral replication by inactivating Tat/positive transcription elongation factor b-dependent long terminal repeat transcription. AIDS 22(9): 1081-1083, 2008.
24) Yoshida T, Kawano Y, Sato K, Ando Y, Aoki J, Miura Y, Komano J, Tanaka Y, Koyanagi Y: A CD63 mutant inhibits T-cell tropic human immunodeficiency virus type 1 entry by disrupting CXCR4 trafficking to the plasma membrane. Traffic 9(4): 540-558, 2008.
25) Komano J, Hamatake M, and Yamamoto N: Analyses of long-term surviving HIV-infected Japanese patients with coagulation disorders hint at novel means to prevent and treat HIV/AIDS (review). (Kashiwazaki M ed), Challenging practices on HIV/AIDS in Japan 2008, JFAP publications, p97-p99, 2008.
26) Tanaka T, Tsutsumi H, Nomura W, Tanabe Y, Ohashi N, Esaka A, Ochiai C, Sato J, Itotani K, Murakami T, Ohba K, Yamamoto N, Fujii N, and Tamamura H: Structure-activity relationship study of CXCR4 antagonists bearing the cyclic pentapeptide scaffold: identification of the new pharmacophore. Org Biomol Chem 6(23): 4374-4377, 2008.
27) Murakami T: Roles of the interactions between Env and Gag proteins in the HIV-1 replication cycle (Review)? Microbiol Immunol 52(5): 287-295, 2008.
28) Sugimoto C, Nakayama EE, Shioda T, Villinger F, Ansari AA, Yamamoto N, Suzuki Y, Nagai Y and 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.
29) Xing HQ, Mori K, Sugimoto C, Ono F, Izumo K, Kubota

R, Izumo S: Impaired astrocytes and diffuse activation of microglia in the cerebral cortex in simian immunodeficiency virus-infected Macaques without simian immunodeficiency virus encephalitis. J Neuropathol Exp Neurol 67: 600-611, 2008.

30) Onlamoon N, Rogers K, Mayne AE, Pattanapanyasat K, Mori K, Villinger F, and Ansari AA: Soluble PD-1 rescues the proliferative response of simian immunodeficiency virus-specific CD4 and CD8 T cells during chronic infection. Immunology 124: 277-293, 2008.

31) Dewan MZ, Takamatsu N, Hidaka T, Hatakeyama K, Nakahata S, Fujisawa J, Katano H, Yamamoto N, Morishita K: Critical role of TSLC1 expression in the growth and organ-infiltration of adult T-cell leukemia cells in vivo. J Virol 82(23): 11958-11963, 2008.

32) Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Komatsu M, Tanaka K, Kawai T, Tsujimura T, Takeuchi O, Yoshimori T and Akira S: Loss of Atg16L1, an autophagy regulator, enhances endotoxin-induced IL-1β production. Nature 456(7219): 264-268, 2008.

33) Haga S, Yamamoto N, Nakai-Murakami C, Osawa Y, Tokunaga K, Sata T, Yamamoto N, Sasazuki T, Ishizaka Y: Modulation of TNF-alpha-converting enzyme by the spike protein of SARS-CoV and ACE2 induces TNF-alpha production and facilitates viral entry. Proc Natl Acad Sci USA 105(22): 7809-7814, 2008.

34) Saitoh Y, Yamamoto N, Dewan MZ, Sugimoto H, Martinez Bruyn VJ, Iwasaki Y, Matsubara K, Qi X, Saitoh T, Imoto I, Inazawa J, Utsunomiya A, Watanabe T, Masuda T, Yamamoto N, Yamaoka S: Overexpressed NF-kappaB-inducing kinase contributes to the tumorigenesis of adult T-cell leukemia and Hodgkin Reed-Sternberg cells. Blood 111(10): 5118-5129, 2008.

35) 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. Int Rev Immunol 27(3): 93-110, 2008.

36) Jeong SJ, Ryo A, Yamamoto N: The prolyl isomerase Pin1 stabilizes the human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) Tax oncoprotein and promotes malignant transformation. Biochem Biophys Res Commun 381(2): 294-299, 2009.

37) Ryo A, Wulf G, Lee TH, Lu KP: Pinning down HER2-ER crosstalk in SMRT regulation. Trends Biochem Sci 34(4): 162-165, 2009.

38) Suzuki H, Kidokoro M, Fofana IB, Ohashi T, Okamura T, Matsuo K, Yamamoto N, Shida H: Immunogenicity of newly constructed attenuated vaccinia strain LC16m8Delta that expresses SIV Gag protein. Vaccine 27(7): 966-971, 2009.

39) Nishi M, Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Sawasaki T, Morishita R, Perrem K, Aoki I, Morikawa Y, Yamamoto N: Requirement for microtubule integrity in the SOCS1-mediated intracellular dynamics of HIV-1 Gag. FEBS Lett 583(8): 1243-1250, 2009.

40) Ohba K, Ryo A, Dewan MD, Nishi M, Naito T, Qi X, Inagaki Y, Okamoto T, Terashima K, Yamamoto N: Follicular dendritic cells activate HIV-1 replication in monocytes/macrophages through a juxtacrine mechanism mediated by P-selectin glycoprotein ligand-1. J Immunol 183(1): 524-532, 2009.

41) Liao H, Tee KK, Hase S, Uenishi R, Li XJ, Kusagawa S, Thang PH, Hien NT, Pybus OG, and Takebe Y: Phylodynamic analysis of the dissemination of HIV-1 CRF01_AE in Vietnam. Virology 391(1): 51-56, 2009.

42) Iwasaki Y, Akari H, Murakami T, Kumakura S, Dewan Z, Yanaka M, and Yamamoto N: Efficient inhibition of SDF-1α-mediated chemotaxis and HIV-1 infection by novel CXCR4 antagonists. Cancer Sci 100: 778-781, 2009.

43) Murakami T, Eda Y, Nakasone T, Ami Y, Someya K, Yoshino N, Kaizu M, Izumi Y, Matsui H, Shinohara K, Yamamoto N, Honda M: Postinfection passive transfer of KD-247 protects against simian/human immunodeficiency virus-induced CD4+ T-cell loss in macaque lymphoid tissue. AIDS 23(12): 1485-1494, 2009.

44) Nonaka M, Uota S, Saitoh Y, Takahashi M, Sugimoto H, Amet T, Arai A, Miura O, Yamamoto N, Yamaoka S: Role for protein geranylgeranylation in adult T-cell leukemia cell survival. Exp Cell Res 315(2): 141-150, 2009.

45) Dewan MZ, Tomita M, Katano H, Yamamoto N, Ahmed S, Yamamoto M, Sata T, Mori N, Yamamoto N: An HIV protease inhibitor, ritonavir targets the nuclear factor-kappaB and inhibits the tumor growth and infiltration of EBV-positive lymphoblastoid B cells. Int J

Cancer 124(3): 622-629, 2009.

46) Barnor JS, Habu Y, Yamamoto N, Miyano-Kurosaki N, Ishikawa K, Yamamoto N, Takaku H: Inhibition of HIV-1 replication by long-term treatment with a chimeric RNA containing shRNA and TAR decoy RNA. Antiviral Res 83: 156-164, 2009.

47) Ono Y, Terashima K, Liu A, Yokoyama M, Yokoshima K, Mizukami M, Watanabe K, Mochimaru Y, Furusaka T, Shimizu N, Yamamoto N, Ishiwata T, Sugisaki Y, Yagi T, Naito Z: Follicular dendritic cell sarcoma with microtubuloreticular structure and virus-like particle production in vitro. Pathol Int 59(5): 332-344, 2009.

48) Tomita M, Dewan MZ, Yamamoto N, Kikuchi A, Mori N. Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 activates beta-catenin signaling in B lymphocytes. Cancer Sci 100(5): 807-812, 2009.

49) Kamiyama H, Yoshii H, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N, Kubo Y: Raft localization of CXCR4 is primarily required for X4-tropic human immunodeficiency virus type 1 infection. Virology 386(1): 23-31, 2009.

50) Kobayashi S, Wada A, Shibasaki S, Annaka M, Higuchi H, Adachi K, Mori N, Ishikawa T, Masuda Y, Watanabe H, Yamamoto N, Yamaoka S, Inamatsu T: 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 137(1): 108-113, 2009.

51) Honda M, Wang R, Kong WP, Kanekiyo M, Akahata W, Xu L, Matsuo K, Natarajan K, Robinson H, Asher TE, Price DA, Douek DC, Margulies DH, Nabel GJ: Different vaccine vectors delivering the same antigen elicit CD8+ T cell responses with distinct clonotype and epitope specificity. J Immunol 183(4):2425-2434, 2009.

52) Miyakawa K, Ryo A, Murakami T, Ohba K, Yamaoka S, Fukuda M, Guatelli J, Yamamoto N:BCA2/Rabring7 promotes tetherin-dependent HIV-1 restriction. PLoS Pathog, in press.

53) Zhou W, Yang Q, Low CB, Karthik BC, Wang Y, Ryo A, Yao SQ, Yang D, Liou YC: Pin1 catalyzes conformational changes of Thr187 in p27Kip1 and mediates its stability through a poly-ubiquitination process. J Biol Chem, in press.

54) Tanaka N, Mamemura T, Abe S, Imabayashi K, Kashiwada Y, Takaishi Y, Suzuki T, Takebe Y, Kubota T, and Kobayashi J: Biyouxanthones A-D, prenylated xanthones from roots of hypericum chinense. Vaccine, in press.

55) Takebe Y, Liao H, Hase S, Uenishi R, Li Y, Li X-J, Han X, Shang H, Kamarulzaman A, Yamamoto N, Pybus OG, and Tee KK: Reconstructing the epidemic history of HIV-1 circulating recombinant forms CRF07_BC and CRF08_BC in East Asia: the relevance of genetic diversity and phylodynamics for vaccine strategies. Vaccine, in press.

56) Fuji H, Urano E, Futahashi Y, Hamatake M, Tatsumi J, Hoshino T, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J: Derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester inhibit RNase H activity associated with HIV-1 reverse transcriptase. J Med Chem, in press.

57) Xing HQ, Moritoyo T, Mori K, Sugimoto C, Ono F, Izumo S: Expression of proinflammatory cytokines and its relationship with virus infection in the brain of macaques inoculated with macrophage-tropic simian immunodeficiency virus. Neuropathology, in press.

58) Yajima M, Imadome K, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N, and Fujiwara S: T-cell-mediated control of Epstein-Barr virus infection in humanized mice. J Inf Dis, in press.

59) Dewan MZ, Takada M, Terunuma H, Deng X, Ahmed S, Yamamoto N, Toi M: Natural killer activity of peripheral-blood mononuclear cells in breast cancer patients. Biomed Pharmacother, in press.

2．和文発表

1) 梁 明秀：HIV 感染症における細胞生物学．細胞 40(11): 458-461, 2008.

2) 上西理恵、長谷彩希、Liao Huanan、武部 豊：C 型肝炎ウイルスに対する新規治療薬の開発動向．Pharm Stage 8(3):1-5, 2008.

3) 武部 豊、上西理恵：HCV エントリー・粒子形成阻害剤：新規クラス薬剤スクリーニング．肝胆膵：特集 C 型肝炎のすべて 2008. Vol.57 (Nov.): 1047-1056. 2008.

4) 小杉伊三夫、梁 明秀：幹細胞とウイルス感染症．幹細胞の基礎研究　細胞医療 Update．医学のあゆみ, 229(9): 720-725, 2009.

5) 村上 努：HIVの粒子形成のメカニズム―Gag蛋白に

関する最新の知見― Confronting HIV2009 35: 5-7, 2009.

II. 学 会 発 表

1．国際学会

1) Tee KK, Pybus O, Parker J, Ng KP, Kamarulzaman A, Takebe Y: Timing of HIV-1 recombination: a novel approach. Keystone Symposia, Apr. 8-13, 2008, USA.
2) Yamamoto N: Humanized NOD/SCID/IL2Rγ-/- (NOG) mice models for human retroviral and EBV infection: Studies on persistent infection, lympho-proliferative/degenerative disorders, and immune responses. 2nd Annual Humanized SCID Mouse Models: Stem Cells, Cancer and Viral Pathogenesis, May 14-15, 2008, Geneva, New York, USA.
3) Aoki T, Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Hamatake M, Terashima K, Tamamura H, Murakami T, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J: Functional substitution of the myristoylation signal of HIV-1 gag with phospholipase c delta 1 pleckstrin homology domain. CSHL Meeting on Retroviruses, May 19-24, 2008, CSH, NY, USA.
4) Urano E, Kariya Y, Futahashi Y, Hamatake M, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi Y, Yamamoto N, Komano J: Identification of the carboxy-terminal domain of bromodomain containing 4 as a specific silencer of HIV-1 replication. CSHL Meeting on Retroviruses, May 19-24, 2008, CSH, NY, USA.
5) Yoshida T, Kawano Y, Ando Y, Sato K, Komano J, Tanaka Y, Koyanagi Y: A CD63 mutant inhibits CXCR4 trafficking to the plasma membrane and blocks X4 HIV-1 entry. CSHL Meeting on Retroviruses, May 19-24, 2008, CSH, NY, USA.
6) Takebe Y: Molecular epidemiology of HIV in Asia: understanding the genesis of Asia's expanding AIDS epidemic. 7th Japan-China International Conference of Virology, Jun. 1-3, 2008, Tokyo, Japan.
7) Yoshida S, Gatanaga H, Itoh T, Fujino M, Kondo M, Sadamasu K, Kaneda T, Gejyo F, Shirasaka T, Mori H, Ueda M, Takata N, Minami R, Suigura W and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Prevalence of drug resistance associated mutations in newly diagnosed HIV/AIDS patients in Japan from 2003-2007. 17th International HIV Drug Resistance Workshop, Jun. 10-14, 2008, Sitges, Spain.
8) Ohba K, Ryo A, Terashima K, Yamamoto N: Follicular dendritic cells activate HIV-1 replication through a juxtacrine mechanism mediated by P-selectin glycoprotein ligand-1. 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep. 7-11, 2008, Hyogo, Japan.
9) Urano E, Kariya Y, Hamatake M, Fukazawa H, Morikawa Y, Koyanagi Y, Yamamoto N, Komano: P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 inhibits HIV-1 replication through restricting Tat-mediated enhancement of LTR promoter activity. 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity Awaji 2008, Sep. 7-11, 2008, Awaji Island, Hyogo, Japan.
10) Aoki T, Shimizu S, Urano E, Hamatake M, Terashima K, Tamamura H, Murakami T, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J: Substitution of the myristoylation signal of HIV-1 Pr55Gag with PLC delta pleckstrin homology domain results in fully infectious pseudovirion production. 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity Awaji 2008, Sep. 7-11, 2008, Awaji Island, Hyogo, Japan.
11) Hamatake M, Futahashi Y, Aoki T, Yamamoto N, Komano J: Detection of ligand-independent higher-order oligomerization state of a G-protein-coupled receptor CXCR4 by BiFC/BRET. 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity Awaji 2008, Sep. 7-11, 2008, Awaji Island, Hyogo, Japan.
12) Ryo A: Identification of host factors required for HIV-1 Gag trafficking. US-Japan Cooperative Medical Science Program AIDS Panel, Sep. 12, 2008, Tokyo, Japan.
13) Yamamoto N: Study of HIV and EBV infection in the humanized NOG mice system. US-Japan Cooperative Medical Science Program AIDS Panel, Sep. 12, 2008, Tokyo, Japan.
14) Yamamoto N: Humanized NOG SCID mouse models for HIV/AIDS research. HIV/AIDS Symposium-Where did we start, where are we now, and where are we heading? Sep. 25-26, 2008, Goettingen, Germany.
15) Ryo A: Use of cell-free protein synthesis system in HIV/AIDS research. 6th PIM(Protein Island Matsuyama) International Symposium 2008, Sep. 25-27, 2008, Matsuyama, Japan.
16) Masaoka T, Sawasaki T, Sugiura W, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A: Detection and characterization of HIV-1 resistance by cell-free protein production system. 6th PIM(Protein Island Matsuyama) International

Symposium 2008, Sep. 25-27, 2008, Matsuyama, Japan.

17) Takahama S, Sawasaki T, Akagi T, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A: Atypical protein kinase C (aPKC), a cell polarity regulating kinase, phosphorylates HIV-1 Gag. 6th PIM(Protein Island Matsuyama) International Symposium 2008, Sep. 25-27, 2008, Matsuyama, Japan.
18) Ryo A: Detection and Identification of HIV-1 resistance and crucial host factors by cell-free protein production system. 4th International Infection Control Conference of Theodore Bilharz Research Institute (TBRI), Nov. 10-13, 2008, TBRI, Giza, Egypt.
19) Mori K, Sugimoto C, Nakamura, Ono F, Nagai Y, Suzuki Y, and Yamamoto N: Tropism of SIV infection determines pathogenicity and induction of protective response against pathogenic SIV infection. 26th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. Dec. 9-12, 2008, San Juan, Puerto Rico.
20) Miyakawa K, Ryo A, Ohba K, Yamamoto N: Inhibition of HIV-1 particle production by a tetherin-interacting protein. Keystone Symposia, Mar. 22-27, 2009, Keystone Resort, Colorado, USA.
21) Takahama S, Sawasaki T, Okayama A, Akagi T, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A: Atypical protein kinase C (aPKC), a cell polarity regulating kinase, phosphorylates HIV-1 Gag. Keystone Symposia, Mar. 22-27, 2009, Keystone Resort, Colorado, USA.

2．国内学会

1) 武部 豊：HCV エントリー阻害剤の同定とその解析：ポスト-HAART 時代のエイズ治療戦略の開発に向けて．第 82 回日本感染症学会，2008 年 4 月 17-18 日，松江．
2) 武部 豊：CD81 を標的とする HCV エントリー阻害剤候補の同定とその解析．第 18 回抗ウイルス療法研究会，2008 年 5 月 23-24，鹿児島．
3) 西真由子，山本直樹，青木一郎，梁 明秀：SOCS1 は HIV-1 Gag タンパク質の細胞内輸送を促進する．第 27 回分子病理学研究会，2008 年 8 月 2-3 日，神奈川．
4) Ryo A, Yamamoto N：Identification of host factors required for HIV-1 Gag trafficking. 第 9 回熊本エイズセミナー，2008 年 9 月 18-19 日，熊本．
5) Ohba K, Ryo A, Terashima K, Yamamoto N：Follicular dendritic cells activate HIV-1 replication through a juxtacrine mechanism mediated by P-selectin glycoprotein ligand-1．第 9 回熊本エイズセミナー，2008 年 9 月 18-19 日，熊本．
6) Takahama S, Sawasaki T, Akagi T, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A：Atypical protein kinase C (aPKC), a cell polarity regulating kinase, phosphorylates HIV-1 Gag．第 9 回熊本エイズセミナー，2008 年 9 月 18-19 日，熊本．
7) 岩谷靖雅，吉居廣朗，武田 哲，杉浦 亙：HIV-1 Vif 依存的な APOBEC3G のユビキチン化サイトの同定．第 56 回日本ウイルス学会学術集会．2008 年 10 月 26-28 日，岡山．
8) 廖 華南，Kok Keng Tee，長谷彩希，上西理恵，LiXiao-jie, Adeeba Kamarulzaman, 草川 茂, PhamHong Thang，Nguyen tran Hien，Xiaoxu Han，Hong Shang，Pybus Oliver，武部 豊：HIV-1 組換え型流行株のアジアにおける感染拡大の年代推定．第 56 回日本ウイルス学会学術集会．2008 年 10 月 26-28 日，岡山．
9) 武部 豊，上西理恵，納富香子，廖 華南，長谷彩希，鈴木哲朗，脇田隆字，袴田 航：CD81 を標的とする新しいクラスの低分子性 HCV エントリー阻害剤の同定．第 56 回日本ウイルス学会学術集会．2008 年 10 月 26-28 日，岡山．
10) 上西理恵，廖 華南，袴田 航，納富香子，長谷彩希，赤澤大輔，鈴木哲朗，脇田隆字，武部 豊：HCV JFH-1 infectivity assay を用いた低分子 HCV 阻害剤の探索とその評価．第 56 回日本ウイルス学会学術集会．2008 年 10 月 26-28 日，岡山．
11) 駒野 淳，浦野恵美子，刈屋祐美，二橋悠子，市川玲子，濱武牧子，深觸秀輔，森川裕子，芳田 剛，小柳義夫，山本直樹：T細胞におけるHIV-1抵抗性遺伝子のスクリーニング - Brd4 C末端ドメインの同定とその機能解析．第56回日本ウイルス学会学術集会．2008年10月26-28日，岡山．
12) 浦野恵美子，奥長浩之，森川裕子，駒野 淳：DNA J/HSP40 Co-chaperone familyによるHIV-1複製抑制．第56回日本ウイルス学会学術集会．2008年10月26-28日，岡山．
13) 村上 努，大隈 和，田中礼子，濱武牧子，駒野 淳，田中勇悦，山本直樹：KRH-3955: 新規 CXCR4 アンタゴニストは経口投与可能な高活性抗 HIV-1 剤である．第 56 回日本ウイルス学会学術集会．2008 年 10 月 26-28 日，岡山．
14) 駒野 淳，濱武牧子，青木 徹，浦野恵美子，二橋悠子，山本直樹：BiFC/BRETによる癌転移増強分子CXCR4のLigand非依存的な多量体形成の解析．第67回日本癌学会学術総会，2008年10月28-30日，名古屋．

15) 梁 明秀, 山本直樹 : 無細胞タンパク質合成系を用いたHIV/AIDS研究の新たな展開. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008年11月26-28日, 大阪.
16) 仲宗根正, 網 康至, 梁 明秀, 山本直樹 : ウイルス曝露非感染サルモデル開発の試み. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008年11月26-28日, 大阪.
17) 高橋良明, 村上 努, 駒野 淳, 吉田篤司, 田中礼子, 田中勇悦, 山本直樹 : 宿主由来タンパクOX40L,OX40のHIV-1感染に与える影響. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008年11月26-28日, 大阪.
18) 正岡崇志, 梁 明秀, 巽 正志, 杉浦 亙, 森下 了, 澤崎達也, 山本直樹 : 酵素活性を指標とした新規HIVプロテアーゼ薬剤耐性検査法の開発. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008年11月26-28日, 大阪.
19) 宮川 敬, 梁 明秀, 大庭賢二, 村上 努, 山本直樹 : RINGフィンガー蛋白質BCA2はHIV-1粒子産生を阻害する. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008年11月26-28日, 大阪.
20) 鈴木 元, 木所 稔, 松尾和浩, 山本直樹, 大橋 貴, 志田壽利 : SIV Gag発現ワクシニアm8Δ株の免疫原性の検討. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008年11月26-28日, 大阪.
21) 宮崎菜穂子, 松下修三, 藤井 毅, 岩本愛吉, 杉浦 亙 : 既治療患者における薬剤耐性（多剤耐性）HIV の現状調査. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
22) 岩谷靖雅, 吉居廣朗, 武田 哲, 杉浦 亙 : APOBEC3G の HIV-1 Vif に依存したユビキチン化サイトに関する研究. 第第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
23) 柴田潤子, 岩谷靖雅, 任 鳳蓉, 田中 博, 杉浦 亙 : HIV-1 ゲノム RNA における poly（A）付加部位に関する研究. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
24) 大出裕高, 横山 勝, 佐藤裕徳, 伊部史朗, 藤崎誠一郎, 間宮均人, 濱口元洋, 杉浦 亙, 横幕能行 : HIV-1 プロテアーゼにおける耐性変異 L89V の立体的影響. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
25) 星野忠次, 辰巳絢子, 篠原祐子, 大出裕高, 杉浦 亙 : コンピューターによる薬剤耐性 HIV-1 に対する薬効予測の試み. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
26) 横幕能行, 大出裕高, 間宮均人, 濱口元洋, 伊部史朗, 藤崎誠一郎, 藤崎菜恵子, 金田次弘, 杉浦 亙 : Enfuvirtide（T-20）+raltegravir（RAL）+darunavir（DRV）+etravirine(TMC125)+lamivudine（3TC）の多剤高度耐性 HIV-1 感染症に対する治療効果. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
27) 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, 近藤真規子, 今井光信, 貞升健志, 長島真美, 福武勝幸, 山本泰之, 田中理恵, 加藤真吾, 宮崎菜穂子, 藤井 毅, 岩本愛吉, 藤野真之, 仲宗根 正, 巽 正志, 椎野禎一郎, 岡 慎一, 林田庸総, 服部純子, 伊部史朗, 藤崎誠一郎, 金田次弘, 濱口元洋, 上田幹夫, 大家正泰, 田邊嘉也, 渡辺香奈子, 渡邊 大, 白阪琢磨, 桒原 健, 森 治代, 小島洋子, 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 : 2003-2007 年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
28) 長谷彩希, 上西理恵, 廖 華南, 草川 茂, 人見重美, 武部 豊 : 日本における HIV-1 感染症の最近動向 : 東関東地域における新知見. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
29) 椎野禎一郎, 貞升健志, 長島真美, 杉浦 亙 : HIV-1 薬剤耐性変異の感染者集団における固定／消失時間の解析. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
30) 巽 正志, 梅木優子, 竹川奈穂, 松田昌和, 橋本 修, 西澤雅子, 石古博昭, 杉浦 亙, 山本直樹 : 薬剤耐性ウイルスの感染性分子クローンを軸にした Genotype と Phenotype をつなぐ実験解析系について. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
31) 巽 正志, 柚木久雄, 百瀬俊也, 日野 学, 田所憲治, 山口一成, 水落利男, 山本直樹 : 日赤献血由来陽性血漿による感染研 HIV パネル整備. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
32) 巽 正志, 梅木優子, 竹川奈穂, 水落利男, 山本直樹 : 感染性分子クローンによる第４世代抗体・抗原同時測定 HIV 診断キットの抗原検出感度の比較. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008 年 11 月 26-28 日, 大阪.
33) 小林明子, 芳田 剛, 駒野 淳, 小柳義夫 : レンチウイルスベクターを用いた抗HIV因子のスクリーニングとその解析. 第22回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008年11月26-28日, 大阪.

34) 浦野恵美子，奥長浩之，森川裕子，山本直樹，駒野淳：Inhibition of HIV-1 replicstion by co-chaperone DNA J/HSP40 protein family．第22回日本エイズ学会学術集会・総会，2008年11月26-28日，大阪．
35) 青木 徹，清水佐紀，浦野恵美子，濱武牧子，寺嶋一夫，玉村啓和，村上 努，森川裕子，山本直樹，駒野淳:HIV-1 Pre55Gagのミリストイル基非依存性ウイルス粒子産生と感染性．第22回日本エイズ学会学術集会・総会，2008年11月26-28日，大阪．
36) 村上 努，大隈 和，田中礼子，仲宗根正，濱武牧子，駒野 淳，谷中幹郎，田中勇悦，山本直樹 : KRH-3955は経口投与可能な高活性抗X４HIV-1阻害剤である．第22回日本エイズ学会学術集会・総会，2008年11月26-28日，大阪．
37) 森 一泰, 杉本智恵, 成瀬妙子, 椎野禎一郎, 武部 豊，木村彰方，山本直樹，永井美之 : Heterologous SIV 感染モデルによる多様性ウイルス感染を防御する宿主応答の解析. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会，2008 年 11 月 26-28 日，大阪．
38) Toru Aoki, Saki Shimizu, Emiko Urano, Makiko Hamatake, Kazuo Terashima, Hirokazu Tamamura, Tsutomu Murakami, Yuko Morikawa, Naoki Yamamoto, Jun Komano : Substitution of the myristoylation signal of HIV-1 Pr55Gag with PLC delta 1 pleeckstrin homology domain results in fully infectious pseudovirion production．第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会, 2008年12月9-12日, 神戸．
39) Emiko Urano, Yumi Kariya, Makiko Hamatake, Hidesuke Fukazawa, Yuko Morikawa, Yoshio Koyanagi, Naoki Yamamoto, Jun Komano : P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 inhibits HIV-1 replication through restricting Tat-mediated enhancement of LTR promoter activity．第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会，2008年12月9-12日，神戸．
40) Makiko Hamatake, Yuko Futahashi, Toru Aoki, Naoki Yamamoto, Jun Komano : Detection of ligand-independent higher-order oligomerization state of a G-protein-coupled receptor CXCR4 by BiFC/BRET. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会，2008年12月9-12日，神戸．
41) 宮本寛治，橋本麻衣，中川洋一，小花祐太，坪井一輝，有馬恵里子，武田 哲，梁 明秀，阪井弘治，山本直樹，清野 透，伊藤嘉浩：フィーダーフリーによる不死化したヒト羊膜細胞から iPS 細胞作製．第８回日本再生医療学会総会, 2009 年 3 月 5-6 日, 東京．
42) 松村隆紀，高野哲也，阪井弘治，武田 哲，梁 明秀，宮本寛治，山本直樹：ヒト腎上皮細胞からの iPS 細胞の樹立．第８回日本再生医療学会総会，2009 年 3 月 5-6 日，東京．
43) 梁 明秀：宿主因子とHIVの相互作用研究．第9回プロテオーム医療創薬研究会，2009年3月6-7日，神奈川．

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、遺伝子治療に使う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)の研究を行った。

遺伝子治療は先天性遺伝病の治療や末期癌患者のQOL の改善に成果を上げている。しかし、実用的な治療技術となるには、遺伝子導入効率の向上と導入遺伝子の発現調節技術の開発が求められている。ウイルスの持つ高い感染性や標的臓器の特異性を利用するウイルスベクターが使われるが、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、ウイルスベクターの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。

子宮頸癌発症の最大リスクファクターは発癌性 HPV の感染である。HPV は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の増殖が起こるが、この生活環を支える分子機構は不明である。抗 HPV 薬の開発基盤とするため HPV 生活環の詳細な解析を続けた。

HPV は 100 以上の遺伝子型に分類されており､15 の型が発癌性を持つ｡2 つの発癌性 HPV の感染を防ぐ第一世代 HPV ワクチンが欧米で開発されたが、発癌性 HPV 群に共通の中和エピトープを見出したので、次世代ワクチン抗原へ応用する研究を進めた。

医薬品医療機器総合機構の依頼を受け､HPV ワクチンの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するために､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ているので、HPV 遺伝子型判定と抗 HPV 抗体測定方法の標準化作業に参加した。

第二室では、ウイルスのゲノム情報を基に、情報科学と計算科学を応用して、ウイルスの性質を予測する研究戦略を開発している。近年の分子構造と機能に関する情報の蓄積、計算機能力の向上、情報処理理論の進展などに伴い、計算機を用いて蛋白質・核酸の高次構造、酵素反応、分子間相互作用などを高精度で近似する技術が急速に進展している。この技術は、培養が困難な病原体や易変異性病原体の解析に役立つ。ホモロジーモデリング法、分子動力学法、結合シミュレーション等の精度を検証し、抗ウイルス因子の機能、ウイルス蛋白質の構造特性、ウイルス酵素の反応機構、ウイルスの複製や免疫逃避、薬剤耐性機構などを予測する研究を進めた。

データベースに易変異性ウイルスのゲノム情報を効率的に収集し、管理する体制の整備を進めた。公開されるウイルスゲノム配列情報を、毎日、自動的に専用サーバーに格納するシステムを構築した。次世代シークエンサーによる配列情報の大量収集、情報処理理論に基づく配列解析、in silico 構造解析、および実験を組み合わせて感染者体内のウイルス準種の組成と生物学的意義を解析するシステムの構築を進めた。

第三室は、細菌のゲノム情報をもとに病原性を解析する研究を行っている。病原性大腸菌のように、常在菌であっても外来性の毒素産生能や薬剤耐性を獲得するものがあり、非病原性常在菌のゲノム情報の蓄積は、病原性因子の同定・解析の基盤となる。また、培養環境とヒト体内環境で増殖している細菌では遺伝子群の発現が異なることから、臨床試料中の細菌で発現している遺伝子群の直接解析が重要となる。このような背景の下に、偏性嫌気性グラム陰性桿菌 *Fusobacterium varium* のゲノム解析を進めた。*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。食中毒病原菌の特定やバイオテロ対策への応用を念頭に、包括的なゲノム情報の取得と迅速診断への応用をめざす研究を進めた。

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　巖、石井克之、神田忠仁)

2.インスレーターを用いた高発現 AAV ベクターの開発

(1) インスレーターによる発現増強機構の検討

AAVS1 インスレーターを搭載した AAV ベクターからの遺伝子発現は著しく増強される。AAVS1 インスレーターは PPP1R12C 遺伝子の転写開始点のすぐ上流に位置している。種々の哺乳動物ゲノムの相同領域を比較して、高度に保存された配列を見出した。この配列に結合する蛋白質をデータベース検索し、Zfp143 を抽出した。合成した Zfp143 と標的配列を持つ DNA 断片との in vitro での結合を確認した。Zfp143 が結合しないように置換変異を導入すると AAV ベクターからの発現増強がなくなり、AAVS1 インスレーター に Zfp143 が結合して発現増強が起こることが強く示唆された。(竹内隆正、内野繭代、神田忠仁)

(2)骨格筋を標的とする AAV ベクターの開発

遺伝子治療で骨格筋を標的臓器とする場合を念頭に、骨格筋特異的プロモーターであるマウス MCK プロモーターを持つ AAV ベクターを作成した。AAV ベクターに AAVS1 インスレーター搭載すると、転写が上昇した。臓器特異性は維持されており、マウス筋芽細胞およびマウス骨格筋で強い発現が認められた。安全で高性能の遺伝子治療用ベクター作製につながる。(竹内隆正、村上　功、神田忠仁)

II. HPV に関する研究

1. HPV 増殖機構の研究

(1) microRNA による HPV 初期プロモーター活性の調節

表皮角化細胞株 HaCaT の分化に伴い発現が上昇する microRNA-210(miR-210)を HPV 陽性子宮頸癌細胞株、HeLa、CaSki、SiHa に過剰発現させると、HPV 初期遺伝子 E6 の転写が抑制され、細胞の増殖能も低下した。HPV 陰性子宮頸癌細胞株 C33a では、miR-210 の過剰発現による増殖能の低下は見られなかった。HPV 陽性子宮頸癌細胞株では、miR-210 によって HPV 初期プロモーターが抑制され、E6、E7 癌蛋白質の発現が減少して増殖能が低下したと考えられる。

(森　清一郎、Marita Overhoff、神田忠仁)

(2)パピローマウイルスゲノム複製における細胞 DNA 損傷修復系の役割

ウシパピローマウイルスゲノムをエピソームとして維持しているマウス細胞で、宿主の DNA 損傷応答系のひとつである ATM 系が活性化していることを見つけた。ATM のノックダウンや阻害薬を用いた解析から、ATM の活性化はウイルスのゲノム複製を抑制することを明らかにした。ウイルス粒子を用いた感染実験でも同様の結果を得ことから、宿主の DNA 損傷修復系は、ウイルス感染直後から活性化し、ウイルスのゲノム複製を抑制することが示唆された。

(中原知美、Paul F. Lambert)

(3) HPV ゲノム複製とライセンシング

ヒト子宮頸部前癌病変由来 W12 細胞は、 HPV16 ゲノムをエピソームとして安定に維持する。最近 W12 細胞における HPV16 のゲノム複製はライセンシングされている可能性が報告された。クロマチン免疫沈降法を用い、W12 細胞のライセンシング因子と HPV 複製開始点を含む DNA 断片の結合を解析している。

(中原知美、神田忠仁)

(4)無細胞系での HPV DNA ローリングサークル型複製

W12 細胞の抽出液を用いた無細胞 DNA 複製系で、HPV 複製起点を含むプラスミドを鋳型にした DNA 複製反応を行ったところ、アガロースゲル電気泳動での移動度がプラスミド型の複製産物とは異なる高分子量の複製 DNA が検出された。鋳型プラスミドを一カ所切断する制限酵素処理により、高分子量の複製 DNA は、切断した鋳型プラスミドと同じ長さの DNA に変換された。分化した W12 細胞では、複製フォークが一方向に進行するローリングサークル型の HPV DNA 複製が起こることが報告されており、無細胞系でこの現象が再現されたと考えられる。(松尾理加、柊元　巖、神田忠仁)

(5)ヒト核小体蛋白質 nucleolin の HPV16DNA への結合

HPV16 ゲノム DNA(E6 遺伝子の 3'端と E7 遺伝子の 5'

端領域)と細胞抽出物を混合するとnucleolinが結合した。HeLa 細胞に強制発現した nucleolin 及び内在性 nucleolin は、いずれも HPV16DNA を含むプラスミドに細胞内でも結合した。また W12 細胞で、内在性 nucleolin と HPV16 ゲノムとの結合が確認された。nucleolin は細胞分裂期の染色体に局在するので、nucleolin が HPV ゲノムの維持に関わる可能性が示唆された。（佐藤英貴、松尾理加、石井克幸、中原知美、森清一郎、柊元　巌、神田忠仁）

(6)新しい HPV タイピングの導入

HPV 型間で比較的保存されている L1 DNA を標的にした multiplex PCR を行い、型特異的な DNA プローブとのハイブリダイゼーションにより増幅 DNA の型を判定する新たな HPV タイピング法を導入した。このタイピング法により、子宮頸部上皮内腫瘍の DNA 検体を解析し、101 検体の内 89 検体（88%）の HPV 型を判定した。（柊元　巌、佐藤英貴、川名　敬[東京大学医学部産婦人科教室]）

2.交差性中和エピトープをもつワクチンの開発

(1)HPV 31 ウイルス粒子の作製と高リスク型共通抗 L2 抗体による中和

HPV31 ゲノムを持つ前癌病変由来細胞を三次元培養し、分化した細胞で増殖した少量のウイルス粒子を回収した。HPV16 の副キャプシド蛋白質（L2 蛋白質）のアミノ酸 56-75 領域に対する抗体（抗 P56/75 抗体）は、この HPV31 の感染を阻害した。HPV の増殖する実用的な培養細胞系が無いことから、これまで、HPV 主キャプシド蛋白質（L1 蛋白質）と L2 蛋白質発現プラスミド及び SV40ori を持つレポータープラスミドを SV40T 抗原陽性細胞に同時に導入し、複製したレポーターが HPV キャプシドにパッケージされた粒子（偽ウイルス）を中和反応に使ってきた。得られた成績は、偽ウイルスを使った中和反応系が、少なくとも抗 P56/75 抗体では、実際の HPV 中和を反映していることが強く示唆された。（石井克幸、中原知美、森清一郎、神田忠仁）

(2)高リスク型共通中和抗体による HPV 感染抑制機構

HPV16L2 蛋白質のアミノ酸 56-75 領域で誘導した抗体は、HPV16 だけでなく 18、31、35、51、52、58 型偽ウイルスの感染を防ぐので、全ての高リスク型 HPV を中和すると期待できる。この中和抗体が結合した HPV16 偽ウイルスの細胞内動態を追跡し、抗体はキャプシドからゲノムが放出される脱殻を阻害することがわかった。L2 蛋白質のアミノ酸 56-75 領域は、脱殻に必要な機能を担っており、この機能は全ての高リスク HPV に共通だと思われる。（石井克幸、田中恵子［感染病理部］、近藤一成、竹内隆正、神田忠仁）

(3) HPV 副キャプシド蛋白質（L2）の機能

HPV51 プロトタイプ（Nu 株）と日本で分離された HPV51（Ma 株）の L2 蛋白質は 2 つの領域（領域 I: aa95-99、領域 II: aa179-186）でアミノ酸配列が大きく異なることがわかった。Ma 株の主キャプシド蛋白質（L1）と Ma-L2 または Nu-L2 を細胞で発現させると、どちらも同様にキャプシド様粒子を形成し、レポータープラスミドをパッケージングした偽ウイルスが形成された。Ma-L2 を持つ偽ウイルスを細胞に接種するとレポーターが発現したが、Nu-L2 を持つ偽ウイルス接種では発現しなかった。Ma-L2 は核に、Nu-L2 は細胞質に局在した。Ma-L2 と Nu-L2 のキメラを作成し同様の実験を行ったところ、領域 II がレポーターの発現、L2 の核への局在に重要であることがわかった。偽ウイルス接種によるレポーターの発現には、L2 蛋白質の核移行が必要である。（森　清一郎、石井克之、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.病原性ウイルスゲノム情報の解析

(1) 公開データベースからのウイルスゲノム情報の自動収集

主に新興再興感染症と慢性感染症が問題となる易変異性ウイルスを対象とし、Web 上に公開されるウイルスゲノム配列情報を、日々、自動取得・更新するシステムをつくり、村山庁舎のデータベースサーバ Altix350 に設置した。対象は、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、ヒト免疫不全ウイルスとした。データベースに、配列アノテーションのマニュアル修正機能、ゲノム配列解析ツール（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）などの機能を付加した。（横山勝、神田忠仁、佐藤裕徳）

(2) 我が国で流行しているノロウイルスゲノムの解析

ノロウイルス GII4 は、世界各地で集団食中毒を引き起こしている。2006 年 5 月ー2009 年 2 月の間に全国 19 カ所の衛生研究所で感染者糞便を収集した。計 201 の GII4 感染症例について、ウイルスゲノム全長の配列情報（約 1.5x106 塩基）を取得し、ゲノム配列の進化系統、ゲノム構造、およびキャプシドの立体構造を調べた。国内で

は、常時、キャプシド表面に複数の特徴的な変異セットをもつウイルスが発生していること、キャプシド表面の変異数が多いと流行規模が大きいこと、キャプシド表面の変異セットはゲノム組換えで獲得した可能性が高いこと、この変異によりキャプシド表面の物理化学的性質が変化することが示唆された。(本村和嗣、横山勝、大出裕高、中村浩美、守宏美、神田忠仁、岡智一郎[ウイルス二部]、武田直和［ウイルス二部]、佐藤裕徳)

糞便試料の収集協力者（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)、田村務（新潟県保健環境科学研究所)、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)

(3) C 型肝炎患者に維持される HCV 準種の解析

次世代シークエンサーFLX を用いた大容量ショットガンシークエンシングで得られた情報から、HCV 感染者の準種の組成を知る実験系を立ち上げた。HCV 感染者血液 2 検体について、NS5A 領域の配列情報を網羅的に収集し、情報処理理論に基づき遺伝子を再構築することで、検体中のウイルス準種の種類と存在頻度を推定した。同じ検体の NS5A 領域の PCR 増幅産物（約 1.3kb）をプラスミドにクローニングした後、約 800 クローンの塩基配列情報を収集した。両者の比較により、FLX 解析系は、約 10%の頻度で存在する準種ゲノムを再現性よく検出できることがわかった。シークエンシング条件の改良により、遺伝子再構築に用いるリード配列の量と質の向上が見込まれ、マイナーな準種の特定、あるいは多検体の準種解析が可能と考えている。今後、準種の病態への関わりを解析する基盤となる。(本村和嗣、大出裕高、横山勝、中村浩美、守宏美、神田忠仁、佐藤裕徳（本村和嗣、中村浩美、守宏美、大出裕高、横山勝、伊藤敬義[昭和大学医学部]、井廻道夫[昭和大学医学部]、神田忠仁、佐藤裕徳)

2.in silico 構造機能解析技術の応用研究

(1) APOBEC3G(A3G)の機能調節機構

抗 HIV 蛋白質 A3G は、HIV Vif 蛋白質依存的に分解され、抗ウイルス活性を失う。京大の高折らは、A3G がリン酸化修飾を受けると Vif 依存的分解に耐性となることを見つけた。ホモロジーモデリング法を用いてこの現象の分子機序を調べた。A3G の 32 番目のアミノ酸（T32）のリン酸化、または酸性アミノ酸への置換で、T32 と R24 の側鎖間相互作用が強くなることを見出した。これにより、R24 を含む A3G 表面ループの可動性が低下し、Vif 結合能が低下すると予測された。この予測の正当性は、A3G R24 の変異導入解析で確認された。Vif 依存的分解の感受性を制御する構造要因を明らかにしたことで、Vif 耐性 A3G の設計と治療への応用の道が開かれた(横山勝、白川康太郎[京大]、高折晃史[京大]、佐藤裕徳)

(2)サポウイルスプロテアーゼ（SaV PR）の基質認識機構

SaV PR は、ウイルス前駆体蛋白質の特定箇所を切断する。ホモロジーモデリング法を用いて、SaV PR の基質認識機構を調べた。SaV PR と切断領域ペプチドの複合体構造をつくり、基質認識に関わる PR アミノ酸を予測した。ウイルス二部と共同で、PR の変異導入解析を実施し、予測の妥当性を確認した。PR の活性中心溝に位置する T30, Y101, K112, R113 が基質認識に重要であることを見出した。抗 SaV 薬開発の基盤情報が得られた。(横山勝、岡智一郎[ウイルス二部]、片山和彦[ウイルス二部] 、武田直和[ウイルス二部]、佐藤裕徳)

(3) ヒト免疫不全ウイルスプロテアーゼ（HIV-1 PR）の基質特異性発現機構

HIV-1 PR は、ウイルス前駆体蛋白質の特定箇所を順序だって切断する。ホモロジーモデリング法とレプリカ交換分子動力学法を用いて、基質切断部位の構造特性と切断効率の関係を調べた。PR 非結合時に基質切断点を挟む P1 と P1'部位アミノ酸の側鎖が伸長状態をとりやすいほど基質の PR 親和性が高まること、PR 結合時に基質切断点上流の P1 と P2 部位アミノ酸の主鎖のねじれが大きいほど切断反応効率が高まることを見出した。ウイルス粒子成熟の理解と HIV-1 PR 活性阻害薬改良の基盤情報が得られた。(大出裕高、横山勝、神田忠仁、佐藤裕徳)

(4) ヒト免疫不全ウイルス逆転写酵素（HIV-1 RT）の薬剤耐性機構

国立国際医療センターの潟永らは、未治療 HIV-1 の RT 配列を解析し、V106I と V179D 変異が頻出すること、両変異が同時に生じると第 1 世代非核酸系 RT 阻害薬(NNRTI;EFZ、NVP)の耐性が発現すること、第 2 世代 NNRTI の ETV には耐性を付与しないことを見つけた。ホモロジーモデリング法を用いて、これらの現象の分子機序を調べた。V106I/V179D 変異により、EFZ と NVP への静電的および物理的反発力が昂進して RT 親和性が低下すること、ETV は、変異に応じて自身の構造を変化させることで RT 親和性を維持することを見出した。薬剤構造の柔軟性はウイルス変異に対処するための有力な物性であることが判明した。HIV-1 RT 活性阻害薬改良の基盤情報が得られた。(大出裕高、横山勝、神田忠仁、潟永博之[国立国際医療センター]、佐藤裕徳)

IV 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臨床分離された F. varium Fv113 株の全ゲノム塩基配列解析を継続した。ホールゲノムショットガンライブラリー（平均 1.6 kbp を 12,454 本解析済み）に 5 kb 長のゲノム断片を含むショットガンライブラリーを 10,976 クローン追加し、次世代シークエンサー（Illumina 社 Genome Analyzer II）によって得られた塩基配列全てを用いて *de novo* assembly を行った。計 558 本のアセンブル配列（contig）を得た。プロトタイプ株である F. varium ATCC 8501 株のゲノム解析も行い、患者分離 Fv113 株ゲノムと比較した。Fv113 株は特徴的な分泌装置 Type IV secretion system (T4SS)を 2 loci 持つことがわかった。現在、T4SS が分泌する effector 因子の探索を行っている。(関塚剛史、坂野聡美、芹澤昌邦、黒田　誠、大草敏史「東京慈恵会医科大・柏病院・消化器肝臓内科」)

2. *Bacillus anthracis* (炭疽菌)の系統解析と病原性解析

(1) セレウスグループの迅速鑑別

セレウスグループの炭疽菌（*Bacillus anthracis*）、セレウス菌（*B. cereus*）及びチューリンジエンシス菌（*B. thuringiesis*）は、感染症およびテロ対策の観点から正確・迅速に鑑別する必要がある。これらの細菌ゲノムの塩基配列は相同性が高く、ゲノム解析から種を鑑別するには工夫が求められる。これまでに解析した炭疽菌日本分離株ゲノムの塩基配列と公開配列情報（炭疽菌 17 株、セレウス菌 14 株、チューリンジエンシス菌 3 株）を使い、菌種内で保存性の高い領域を 1 塩基レベルで調べて 1 塩基多型(SNP）を網羅的に探索した。炭疽菌に 2,965 箇所の SNPs を検出した。さらに、SNPs の連関を調べ、セレウスグループの分類に使うことができる tag-SNPs 80 箇所を選別した。この 80 箇所を調べれば、炭疽菌、セレウス菌、及びチューリンジエンシス菌を鑑別できる。(芹澤昌邦、関塚剛史、黒田　誠、奥谷晶子[獣医科学部]、井上智[獣医科学部])

(2) 炭疽菌の分泌蛋白質による細胞形態変化

炭疽菌プラスミド pXO1 および pXO2 の塩基配列から、多数の機能未知分泌蛋白質の存在が示唆された。炭疽菌野生株（pXO1 および pXO2 保有）、pXO1 保有株、pXO2 保有株、そして両プラスミド脱落株の培養上清をヒト細胞（HeLa 細胞、Vero 細胞）に添加し、細胞形態を観察した。野生株および pXO1 保有株の培養上清を添加して２時間後、特に Vero 細胞において、顕著な細胞形態変化が見られた。pXO2 保有株および両プラスミド脱落株では変化が見られなかったので、pXO1 に起因すると推定された。この形態変化はアポトーシスによるものではないことを確認した。また、Caco-2 細胞、A549 細胞、293 細胞には形態変化が見られなかったことから、HeLa/Vero 細胞に親和性のある因子が関与していることが示唆された。

（坂野聡美、黒田　誠、奥谷晶子[獣医科学部]、井上　智[獣医科学部])

3.メタゲノム解析による網羅的病原体検出

(1) 川崎病患者検体に存在する微生物ゲノムの検討

川崎病患者のリンパ節、血清、咽頭拭い液から核酸を抽出し、イルミナ社 GAII DNA シークエンサーにより 75 塩基長の配列 300ー900 万個を取得した。short reads assembler velvet を用いて冗長な配列を減らした後、相同性検索で微生物ゲノム由来配列を抽出した。血清サンプルから得た配列の平均 95% はヒトゲノムに由来し、ヒト以外に由来する配列は１％未満であった。咽頭ぬぐい液から得た配列の半数は細菌由来であったが、常在菌と考えられた。リンパ節検体から得た DNA 塩基配列の 0.22%が細菌由来であったが、RNA 塩基配列では 19.9% 細菌由来であった。そこでリンパ節検体中の RNA 塩基配列から、検体に存在する細菌群を推定した。実験操作で混入する可能性が高い環境細菌群は除外した。腸内細菌群（バクテロイデス属、クロストリディウム属等）が多数存在し、便の細菌種と類似した構成であった。咽頭に存在するインフルエンザ菌、肺炎球菌は検出されたが、A 群レンサ球菌は検出されなかった。(黒田　誠、関塚剛史、水谷哲也[ウイルス第 1 部]、片野晴隆[感染病理部])

(2) 動物腸管内の細菌叢および原生動物叢の検出・同定

動物の腸管内の一部の細菌は自由生活型の原生動物に内在し、原生動物の移動と共に別の宿主へ感染することがある。生産管理された食鶏の盲腸便 22 検体および 3 カ所の異なる牧場の放牧牛の糞便 7 検体を入手し、16S-rDNA配列にもとづくT-RFLP法によって細菌叢を解析した。また、18S-rDNA 配列による原生動物叢の検出・同定を行った。食鶏盲腸便 22 検体の腸内細菌叢の大部分が、Bacteroidetes 及び Clostridia であった。食鶏盲腸便全てに於いて Campylobacter jejuni が存在し、Campylobacteraceae の割合は細菌叢全体の約 1.8%を占めていた。牛糞便中には、C. jejuni は存在しなかった。食鶏盲腸便中には原生動物は検出されなかったが、牛糞便中に Blastocystis 属および Balantidium 属が高頻度に検出された。原虫に内在する細菌を T-RFLP 法により解析したところ、原虫内に Eubacterium 属が多く存在することが示唆された。

（関塚剛史、黒田　誠）

品質管理に関する業務

HPV ワクチンの承認前検査

HPV ワクチン試験品の提供を受け、承認申請書に記載された規格及び試験法の妥当性について、実際に試験を行い検討した。製剤担当室として、その結果をまとめ、厚生労働省医薬食品局に報告した。(松尾理加､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活動

2006 年に WHO によって結成された HPV ラボラトリーネットワーク（HPV ラボネット）の、西太平洋地域 Regional Reference Laboratory としての活動を行った。抗 HPV 抗体価を測定する VLP ELISA 標準化のための国際共同研究に参加し、解析結果を WHO に報告した。HPV ラボネットが主催する HPV DNA proficiency panel に参加し､十分な解析能力をもつ HPV ラボとして認定を受けた。また WHO 本部で開催された HPV ラボネット会議に出席し､HPV アッセイの標準化について討議した。(柊元　巌、松尾理加、神田忠仁)

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1)Kukimoto, I., Mori, S., Sato, H., Takeuchi, T., and Kanda, T.:Transcription factor human Skn-1a enhances replication of human papillomavirus DNA through the direct binding to two sites near the viral replication origin. FEBS Journal,275, 3123-3135, 2008.

2)Kusumoto, R., Dawut, L., Marchetti, C., Lee, JW., Vindigni, A., Ramsden, D., and Bohr, VA.:Werner Protein Cooperates with the XRCC4-DNA Ligase IV Complex in End-Processing. Biochemistry, 47, 7548-7556, 2008.

3)Mori-Uchino, M., Takeuchi, T., Murakami, I., Yano, T., Yasugi, T., Taketani, Y., Nakagawa, K., and Kanda, T.: Enhanced transgene expression in the mouse skeletal muscle infected with the adeno-associated viral vector with the human elongation factor 1a promoter and a human chromatin insulator. J. Gene. Med., in press, 2009

4)Ochi,H., Kondo,K., Yasugi, T., Hirai,Y., Yoshikawa,H., and Kanda, T.: Neutralizing Antibodies against Human Papillomavirus Types of 16, 18, 31, 52, and 58 in the Serum Samples from Women in Japan with Low Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia. Clinical and Vaccine Immunology 15:1536-1540, 2008.

5)Kanda, T. and Kondo, K.: Development of an HPV vaccine for a broad spectrum of high-risk mtypes. Human Vaccine, 5:1-3, 2008.

6)Kubo Y, Yoshii H, Kamiyama H, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, and Yamamoto N. Ezrin, Radixin, and Moesin (ERM) Proteins Function as Pleiotropic Regulators of Human Immunodeficiency Virus Type 1 infection. Virology. 375:130-140, 2008.

7)Naganawa S, Yokoyama M, Shiino T, Suzuki T, Ishigatsubo Y, Ueda A, Shirai A, Takeno M, Hayakawa S, Sato S, Tochikubo O, Kiyoura S, Sawada K, Ikegami T, Kanda T, Kitamura K, Sato H. : Net Positive Charge of HIV-1 CRF01_AE V3 Sequence Regulates Viral Sensitivity to Humoral Immunity. PLoS ONE 3: e3206, 2008. (The first two authors contributed equally)

8)Shirakawa K, Takaori-kondo A, Yokoyama M, Izumi T, Matsui M, Io K, Sato T, Sato H, Uchiyama T.:Protein kinase A-mediated phosphorylation regulates the interaction between APOBEC3G and HIV-1 Vif. Nat. Struct. Mol. Biol. 15:1184-91, 2008.

9)Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H, the Norovirus Surveillance Group of Japan.:Identification of Monomorphic and Divergent Haplotypes in 2006/2007 Norovirus GII/4 Epidemic

Population by Genome-wide Tracing of Evolutionary History. J. Virol. 82:11247-62, 2008.

10) Yamao, T., Eshita, Y., Kihara, Y., Satho, T., Kuroda, M., Sekizuka, T., Nishimura, M., Sakai, K., Watanabe, S., Akashi, H., Rongsriyam, Y., Komalamisra, N., Srisawat, R., Miyata, T., Sakata, A., Hosokawa, M., Nakashima, M., Kashige, N., Miake, F., Fukushi, S., Nakauchi, M., Saijo, M., Kurane, I., Morikawa, S., Mizutani, T.: Novel virus discovery in field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). Arch Virol. 154(1):153-8, 2009.

11) Kuroda, M., Ito, R., Tanaka, Y., Yao, M., Matoba, K., Saito, S., Tanaka, I., Ohta, T.: Staphylococcus aureus Surface Protein SasG Contributes to Intercellular Autoaggregation of Staphylococcus aureus. Biochem Biophys Res Commun. 377(4):1102-6, 2008.

12) Sakamoto, S., Tanaka, Y., Tanaka, I., Takei, T., Yu, J., Kuroda, M., Yao, M., Ohta, T., Tsumoto, K. :Electron microscopy and computational studies of Ebh, a giant cell-wall-associated protein from Staphylococcus aureus. Biochem Biophys Res Commun. 376(2):261-6, 2008.

13) Watanabe, M., Tanaka, Y., Suenaga, A., Kuroda, M., Yao, M., Watanabe, N., Arisaka, F., Ohta, T., Tanaka, I., Tsumoto, K.:Structural basis for multimeric heme complexation through a specific protein-heme interaction: the case of the third neat domain of IsdH from Staphylococcus aureus. J Biol Chem. 283(42):28649-59, 2008.

14) Kuroda, M., Tanaka, Y., Aoki, R., Shu, D., Tsumoto, K., Ohta, T.:Staphylococcus aureus giant protein Ebh is involved in tolerance to transient hyperosmotic pressure. Biochem Biophys Res Commun. 374(2):237-41, 2008.

2. 和文発表

1)神田忠仁：ヒトパピローマウイルスの生活環、小児科診療、71(8),1319-1323, 2008.

2)本村和嗣，柊元巌，佐藤裕徳 "PCR 法（ウイルス）"；KEY WORD 感染症．先端医学社．第二版，242-243, 2008.

3)本村和嗣，佐藤裕徳． ノロウイルス感染症.特集：変貌する感染症.総合臨床.57, 2697-2702, 2008.

4)大出裕高：原子レベルで薬剤耐性を理解する-YAKU 学・最前線 研究現場からあなたへ-薬事日報 第 10560 号 12 面, 2008.

5)佐藤裕徳，大出裕高，本村和嗣，横山勝: HIV の構造と感染・増殖の分子機構．日本臨床 67, 37-42, 2009.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Fukushi S, Hirai A, Niikura A, Maeda K, Yoshikawa Y, Yamada YK, Yokoyama M, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Kurane I, and Morikawa S. Identification of bat ACE2 proteins and their receptor function for SARS-coronavirus. 第 42 回日米医学ウイルス性疾患専門部会、 （2008 年６月、長崎）

2) Fukushi S, Hirai A, Niikura A, Maeda K, Yoshikawa Y, Yamada KY, Yokoyama M, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Kurane I, and Morikawa S. Identification of bat ACE2 proteins and their receptor function for SARS-coronavirus. 第 7 回日中ウイルス学会（2008 年 6 月、東京）

3) Makoto Kuroda, Masato Higashide, Carlos Takashi Neves Omura, Saburo Ohkawa, Sadahiro Ichimura, Toshiko Ohta. Methicillin-Resistant Staphylococcus saprophyticus Carrying Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Have Emerged in Urogenital Tract Infections. 108th ASM general meeting. （2008 年 6 月,米国）

4）Nakahara, T.:A cellular DNA damage response pathway and BPV-1 DNA replication, Molecular Biology of DNA Tumor Viruses Conference (2008 年 7 月、米国)

5）Kusumoto, RM. : Role for the Werner syndrome protein in DNA double strand break repair and telomere maintenance. Cheoungju University Memorial Symposium（2008 年 9 月、韓国）

6) Onyango C, Leligdowicz A, Yokoyama M, Sato H, Song H, Nakayama E, Shioda T, Jaye A, Whittle H, Rowland-Jones S and Cotton M. MHIV-2 Capsids Distinguishing High and Low Virus Load Patients in a West African Community Cohort. 11th Annual International Meeting of the Institute of Human Virology （2008 年 9 月、米国）

7) Naganawa S, Yokoyama M, Kitamura K, Sato H. Net Positive Charge of HIV-1 CRF01_AE V3 Sequence Regulates Viral Sensitivity to Humoral Immunity. Joint Meeting of the AIDS Panels US-Japan Cooperative Medical Science Program and NIID AIDS Research Center 20th Anniversary Symposium（2008 年 9 月、日本）

8) Oka T, Yokoyama M, Katayama K, Yamamoto M, Miyashita K, Ogawa S, Motomura K, Tsunemitsu H, Wakita T, Sato H, and Takeda N. Substrate specificities of calicivirus-encoded 3C-like proteases. The Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases Conference Hall, National Institute of Hygiene and

Epidemiology (NIHE) （2008 年 10 月、ベトナム）

9） Kukimoto, I. : WHO HPV laboratory network for surveillance after worldwide introduction of HPV vaccines. 4th International Infection Control Conference of Theodor Bilharz Research Institute（2008 年 11 月、エズプト）

10) Onyango C, Leligdowicz A, Yokoyama M, Sato H, Song H, Nakayama E, Shioda T, Jaye A, Whittle H, Rowland-Jones S and Cotton M. HIV-2 Capsids Distinguishing High and Low Virus Load Patients in a West African Community Cohort, The 15th International Conference on AIDS and STIs in Africa. （2008 年 12 月、セネガル）

10）Kusumoto, RM. : Role for the Werner syndrome protein in DNA double strand break repair and telomere maintenance. International Minisymposium in University of Ulsan（2009 年 1 月、韓国）

11) Yokoyama M, Naganawa S, Kitamura K, Sato H. Net Positive Charge of HIV-1 CRF01_AE V3 Sequence Regulates Viral Sensitivity to Humoral Immunity 4TH GERMAN-JAPANESE HIV-SYMPOSIUM（2009 年 3 月、ドイツ）

2. 国内学会

１）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 81 回日本感染症学会総会 (2008 年 4 月、島根)

2) 本村和嗣，横山勝、岡智一郎，中村浩美、守宏美、片山和彦、神田忠仁，田中智之、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 29 回衛生微生物技術協議会 (2008 年 6 月、東京)

3) 黒田誠、伊藤隆太、田中良和、太田敏子：細胞壁架橋型タンパク質 Staphylococcus aureus surface protein G (SasG) による自己複合体形成と菌凝集能。 第５３回ブドウ球菌研究会（2008 年 9 月、東京都文京区）

4) Ode H, Yokoyama M, Sato H.: Secondary Structure Tendency of Substrate Cleavage Site Influences Substrate Binding of HIV-1 Protease. CBI Annual 4）Meeting 2008 International Symposium. (2008 年 10 月、東京)

5）森清一郎、神田忠仁: microRNA によるヒトパピローマウイルスプロモーター活性の調節、第 56 回日本ウイルス学会学術集会・総会（2008 年 10 月、岡山）

6）石井克幸、神田忠仁 : ヒトパピローマウイルス（HPV）感染初期過程における キャプシド蛋白質チオール基の役割、第 56 回日本ウイルス学会学術集会・総会（2008 年 10 月、岡山）

7) 本村和嗣，横山勝，岡智一郎，中村浩美、守宏美、Hansman Grant，片山和彦、田中智之、真崎宏則、星野和彦、蒔本恭、秋山美穂、木村博一、神田忠仁，武田直和、佐藤裕徳、Norovirus Surveillance Group of Japan ：ノロウイルスの免疫淘汰と周期的流行の分子機序、第 56 回日本ウイルス学会学術集会、ワークショップ (2008 年 10 月、岡山)

8) 横山勝、岡智一郎、片山和彦、山本真民、宮下佳奈、神田忠仁，武田直和、佐藤裕徳：サポウイルスプロテアーゼの基質認識に関わるアミノ酸残基の解析. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会(2008 年 10 月、岡山)

9) 岡智一郎、横山勝、片山和彦、恒光裕、山本真民、宮下佳奈、本村和嗣、守宏美、中村浩美、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に影響する切断部位上流アミノ酸残基の解析. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会(2008 年 10 月、岡山)

10) 小澤一弘, 岡智一郎，片山和彦, 本村和嗣, 中村浩美, 守宏美, 佐藤裕徳, 武田直和 ：調理従事者を対象としたノロウイルスの網羅的検出調査、第 56 回日本ウイルス学会学術集会(2008 年 10 月、岡山)

11) 久保嘉直、神山陽香、吉居廣朗、佐藤裕徳、山本直樹：HIV-1 ウイルス粒子に取り込まれたエズリン・ドミナント・ネガティブ変異体による感染抑制. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会(2008 年 10 月、岡山)

12) 吉居廣朗、神山陽香、佐藤裕徳、山本直樹、久保嘉直 : CD4 非依存性 HIV-1 細胞内侵入におけるカテプシン群蛋白質分解酵素の関与. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会(2008 年 10 月、岡山)

13) 神山陽香，吉居廣朗、田中勇悦、佐藤裕徳，山本直樹，久保嘉直：X4-tropic HIV-1 感染における CXCR4 のラフト局在の重要性. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会(2008 年 10 月、岡山)

14) 横山勝、佐藤裕徳：相互情報量解析による HIV-1 CRF01_AE V3 領域アミノ酸残基の共変異部位の同定、第 22 回日本エイズ学会学術集会（2008 年 11 月、大阪）

15) 横山勝、白川康太郎、高折晃史、佐藤裕徳：分子モデリングによるリン酸化 APOBEC3G の構造解析、第 22 回日本エイズ学会学術集会（2008 年 11 月、大阪）

16) 大出裕高, 横山勝, 佐藤裕徳, 伊部史朗，藤崎誠一郎, 間宮均人, 濱口元洋, 杉浦亙，横幕能行. HIV-1 プロテアーゼ における耐性変異 L89V の立体的影響、第 22 回日本エイズ学会学術集会（2008 年 11 月、大阪）

17) 横幕能行，大出裕高, 間宮均人,濱口元洋, 伊部史朗, 藤崎誠一郎，藤崎彩恵子，金田次弘，杉浦亙.Enfuvirtide

(T-20)+raltegravir (RAL) + darnavir (DRV) + etravirine (TMC125) + lamivudine (3TC)の多剤高度耐性 HIV-1 感染症に対する治療効果、第 22 回日本エイズ学会学術集会（2008 年 11 月、大阪）

18) 吉居廣朗、神山陽香、佐藤裕徳、山本直樹、久保嘉直 : CD4 非依存性 HIV-1 の細胞内侵入におけるカテプシン群蛋白質分解酵素の関与、第 22 回日本エイズ学会学術集会（2008 年 11 月、大阪）

19) Ivo Sah Bandar、高橋清実、長縄 聡、本村和嗣、佐藤裕徳、北村勝彦、佐藤成大： Clinical profile and molecular epidemiology of HIV/AIDS Patients in Jakarta, Indonesia、第 22 回日本エイズ学会学術集会（ 2008 年 11 月、大阪）

17) 岡智一郎、横山勝、片山和彦、恒光裕、山本真民、宮下佳奈、本村和嗣、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活性発現に重要なアミノ酸残基の解析、第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会（BMB2008）（2008 年 12 月、神戸）

18）横山勝、岡智一郎、片山和彦、神田忠仁、武田直和、佐藤裕徳：カリシウイルスプロテアーゼ分子モデルによる基質認識の解析、第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会（BMB2008）（2008 年 12 月、神戸）

19）Kusumoto, RM., Karmakar, P., May, A., and Bohr, VA. : Impact of phosphorylation of Werner syndrome protein by DNA-PK on the repair of DNA double strand breaks. 第 31 回日本分子生物学会年会･第 81 回日本生化学会大会合同大会（2008 年 12 月、神戸）

20) 黒田誠：感染症の関与が疑われる難病の解明 ー次世代型シークエンサーで病原体を突き詰められるのか？ー 山口大学スーパー研究推進体（微生物の機能解析および機能開発） （2008 年 12 月 21 日、山口県宇部市）(特別講演として口頭発表)

21) 芹澤昌邦、関塚剛史、奥谷晶子、井上智、黒田誠：セレウスグループに属する各菌種における SNP の網羅的探索と種間比較におけるその利用、第８２回日本細菌学会総会 （2009 年 3 月、名古屋市）

22) 黒田誠、関塚剛史 : 黄色ブドウ球菌の SarA パラログによる細胞壁架橋型タンパク質 SasG の転写制御の解析、第８２回日本細菌学会総会 （2009 年 3 月、名古屋市）

23) 奥谷晶子、関塚剛史、黒田誠、井上智、山田章雄：日本で分離された炭疽菌の分子遺伝学的解析、第８２回日本細菌学会総会 （2009 年 3 月、名古屋市）

24) 関塚剛史、井上智、黒田誠：動物腸管内の細菌叢および原生動物叢の検出・同定、第８２回日本細菌学会総会 （2009 年 3 月、名古屋市）

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

総務課長山内久が、前年度に続いて図書室長の事務を取扱った。

図書室は、図書係が研究資料の収集管理提供サービス全般を、編集翻訳係が機関誌 JJID（Japanese Journal of Infectious Diseases）の編集発行を行う。

［図書係］

図書委員長は、前年度に続いて以下の三名が務めた。

・全体及び戸山庁舎図書委員長
　花田　賢太郎（細胞化学部　平成 18 年度より）
・村山庁舎図書委員長
　吉田　弘（ウイルス第二部　平成 17 年度より）
・ハンセン病研究センター図書委員長
　牧野　正彦（病原微生物部　平成 12 年度より）

図書係長は、八谷惠子が前年度 3 月末で異動し、4 月より柳律子が着任した。

平成 20 年度の受け入れ状況は､感染研全体として雑誌約 320 タイトル（うち購読約 240 タイトル)、単行本約 260 冊（うち購入 170 冊）であった。（実績表「雑誌、単行本受け入れ状況」参照）

外国雑誌の購読タイトルは前年度と変更を行わなかったにも拘わらず、経費は前年度比 5 %、約 200 万円の増額であった｡外国雑誌は年々値上がりが定常化しており、感染研として必要な雑誌を購読するための経費をどのように確保するかが課題である。

前年度初めて電子ジャーナルバックファイルを購入し、2008 年 3 月からの利用実績が月平均約 80 アクセスとコンスタントに利用されており､本年度も約 20 タイトルを購入した。

厚生労働省所管の研究機関やその他の図書館等と協力し、文献や資料の相互貸借等を行っている。本年度は前年度と比較し、外部機関に対して供与が約 3 割、依頼が約 2 割減であった。（実績表「文献相互貸借状況」参照）

本年度末、長年図書委員会で要求してきた図書館システムが所の予算により導入された。今後、三庁舎で一元的に資料管理を行い、迅速な情報提供を行うことが可能となる。

［編集翻訳係］

平成 20 年度は vol. 61 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。

本年度の編集委員の交代は、遠藤卓郎、佐々木次雄の退官にともない野崎智義、和田昭仁に替わった。また臨時職員の小柳由貴子が 4 月に退職し、5 月から石井とし子に替わった。

編集方針に変更はないが、JJID となって 10 年目を迎えるにあたり、新たに外部の 7 名の先生方に 2 年間の Guest Editorial Members としての御協力をお願いし、承諾が得られた。

前年度に引き続き印刷体の発行部数の削減に努めた。印刷体発行前に PDF ファイルで全論文をホームページで無償公開している。その利用状況を調べるために各論文のアクセスログ数を今年度記録し､月平均 34,000 回の利用があることがわかった。今後とも国内、海外を問わず多くの研究者が利用しやすいサイトの運営を心がけたい。

第 18 回感染研シンポジウムの演者及び 20 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。

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. 1/96 頁(24 編）、2/86(23)、3/88(25)、4/79(23)、5/96(26)、6/95(25)
発行部数　800→750 部　漸次削減
発送先　　国内―大学、衛研等　　210 機関
　　海外―大学、研究所等　400 機関
　　（約 75 ヵ国）
投稿論文数　感染研内　15 編
　　国内　　73 編
　　海外　　165 編（19 ヵ国）
採択率　　35%

実績表

雑誌、単行本受け入れ状況

平成20年度

	戸山		村山		ハンセン	
	洋書	和書	洋書	和書	洋書	和書
雑誌	**189**	**30**	**52**	**32**	**7**	**8**
購入	153	11	42	17	7	8
交換	28	4	−	−		
寄贈	8	15	10	15		
単行本	**70**	**29**	**90**	**69**	**1**	**−**
購入	55	13	70	32	1	−
寄贈	15	16	20	37	−	−

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20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	**554**	**428**	**191**	**305**	**−**	**18**
国立感染症研究所	**85**	**50**	**52**	**78**	**−**	**9**
戸山	・	・	50	78	−	7
村山	78	50	・	・	−	2
ハンセン	7	−	2	−	・	・
国立感染症研究所以外の機関	**469**	**378**	**139**	**227**	**−**	**9**
国立保健医療科学院	42	47	26	7	−	−
国立医薬品食品衛生研究所	116	10	38	18	−	−
国立国際医療センター	153	18	−	−	−	−
国立成育医療センター	−	−	−	−	−	−
(独)国立健康・栄養研究所	−	−	10	−	−	−
(独)動物衛生研究所	129	39	54	7	−	−
(独)畜産草研究所	16	10	1	5	−	−
(独)霊長類医科学研究センター	−	−	−	−	−	−
その他の国・県の機関((独)含)	5	2	−	2	−	−
地方衛生研究所	−	−	−	−	−	−
国公立病院	3	−	−	−	−	−
国公立大学図書館	−	208	4	177	−	8
国際医学情報センター	−	−	−	−	−	−
私立病院	2	−	2	−	−	−
私立大学図書館	2	34	−	10	−	1
企業	−	4	2	−	−	−
その他	1	6	2	1	−	−

注：戸山の(独)健康・栄養研究所に対する数は把握していない。

２３．ハンセン病研究センター

センター長　　森　　亨

概　要

ハンセン病はいまなお世界中で年々20 万人を越える人々が発病し、その数倍が後遺症に悩んでいる深刻な健康問題である。その大半が貧困にあえぐ発展途上国に集中し、対策が十分に進められるとは言い難いのが現状であり、まさに健康を巡る南北問題、いわゆる健康不平等の典型として、日本はじめ先進国の援助がさらに必要な問題の一つといえる。当センターはこの病気の診断、治療、後遺症医療、予防などの分野にわたりよりよい技術の開発のための研究を行っている。にもかかわらずこの病気の病原体やそれに対する人体の反応に関してはなお未知の部分が多く、研究課題は山積している。さらにこの病気の研究成果の、結核はじめ多くの隣接領域への応用についても大きな可能性がある。

当センターは「ハンセン病」をその機関名に掲げた世界でも希な専門施設として、世界の研究をリードしていきたいと考えている。そうした気概を高め、具体的な成果に結びつける努力のうえで、本年度はまことに記念すべき重要な足跡を印することとなった。

すなわち、センター全職員の長年の期待を担って平成１８年度に工事が開始され､途中設計の変更などを経ながらも順調に継続されてきた BSL-3 研究施設（第二研究棟）の建設が、平成２０年８月ついに竣工し、運用開始にいたったのである｡これを記念して新研究棟竣工披露式が１０月２３日開催され、地元東村山、清瀬両市長、全生園入所者自治会長、全国療養所入所者協議会長、厚生労働省技術総括審議官をはじめとする参列者から心のこもった祝意と激励を頂いた。

これに付随してかねてから準備を進めてき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」が正式に発足し、上記「披露式」に併せてその第一回の協議会を開催した。委員には周辺住民・入所者組織代表者はじめ関係自治体・行政機関の代表者、有識者などを委嘱している。今回の委員会では、当センターから新研究棟の設備や機能について説明し､質疑の後施設の視察へと案内した｡幾重にもわたる安全装置と慎重な運用体制を委員各位につぶさに検証して頂くことができたと思われる。

新研究棟の運用開始に呼応して､研究体制強化のために「ハンセン病研究センター運営委員会」が平成１５年以来久しぶりに召集され、１２月８日、厚生労働省で討議が行なわれた。委員は全生園入所者自治会長、全国療養所入所者協議会長、ふれあい福祉協会理事長、厚生労働省健康局厚生科学課長、疾病対策課長、国立感染症研究所長、当センター長、当センター職員代表などからなる。席上、当センターの使命として､ハンセン病に関する社会の啓発活動の重要性があらためて指摘され､さらにハンセン病関連疾患の研究も含めて今後活動を強化することが確認された。そしてこれにそって､今後のセンター研究組織のあり方が議論された｡これを受けてセンター内でも職員間で討論が行なわれた。

ハンセン病に対する一般市民の理解を深め病気に対する不当な認識をなくすことは当センターの重要な使命である。このための恒例の「ハンセン病医学市民公開講座」を平成２０年度科学技術週間にあわせて４月２６日に行った。今年は例年と同様、近隣市民にハンセン病の基礎・臨床にわたる問題を平易に解説し､その後らい菌の顕微鏡観察を実体験していただいた。

第３１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｡定員を超えんばかりの医療関係の参加者３８人を集め、所内外から招請されたハンセン病医学の専門家を講師に

講義・実習を行い、さらに入所者等との交流なども含めて立体的なプログラムでハンセン病にじっくり向かい合う１週間となった。参加者はすでに学校で学ぶ機会がなくなっているこの問題を体系的に学び体験する希有な機会を満喫したことと思われる。

国際協力事業

１．国際共同研究と職員の海外派遣状況

ベトナム国、インドネシア国：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２名を派遣。

行政検査実績（石井則久、鈴木幸一、谷川和也）

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 20 年度（平成 20 年 4 月ー平成 21 月３月）の検査件数は表のごとく 44 症例、95 検査件数であった。なお、国立ハンセン病療養所からの血清検査の依頼はなかった。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。また皮膚スメア検査のサポートも行い、44 件のスメア標本の染色、検鏡を行った。

44 症例の最終診断は、６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、５例は PCR 検査のみ陽性で最終診断は主治医判断とし、32 例はハンセン病でないと診断した。

検査件数は増加傾向{平成９年度：47 件、平成 10 年度：32 件、平成 11 年度：34 件、平成 12 年度：50 件、平成 13 年度：739 件(国立ハンセン病療養所から 630 件の血清検査の依頼があった)、平成 14 年度：261 件(国立ハンセン病療養所から 105 件の血清検査の依頼があった)、平成 15 年度：54 件、平成 16 年度：98 件、平成 17 年度：104 件(国立ハンセン病療養所から 52 件の血清検査の依頼があった)、平成 18 年度:62 件、平成 19 年度:163 件(国立ハンセン病療養所から 52 件の血清検査の依頼があった)}である。平成 20 年度は 95 件であった。ハンセン病新規患者数は平成 20 年では７名であった。

ハンセン病の発生動向と検査件数を対比すると、近年は鑑別診断のために行政検査を利用する傾向がみられる。さらに、平成20年度の特徴はPCR検査件数が増加し、PCR 検査陽性例は全て薬剤耐性遺伝子検査を実施したことである。

今後の課題として、行政検査の各医療機関へのさらなる周知徹底、検査依頼の簡素化、検体送付の迅速化、検査結果の迅速通知、臨床症状を把握したうえでの検査の指導、皮膚スメア検査の指導、知覚検査の指導、治療効果判定への検査利用、検査結果を基にしたコンサルテーション、追跡検査などがあり、患者・主治医に一層有益な検査のあり方が求められている。

年度	2008
年度	平成20
登録検査番号	64
総検査件数	95
病理学的検査件数	14
血清抗体価検査件数	22
PCR検査件数	47
薬剤耐性遺伝子検査件数	12
実症例数	44

平成 20 年度（2008 年度）行政検査実績

らい菌の供給（松岡正典・天内 肇）

平成 20 年 4 月より同 21 年 3 月までの間において、のべ 20 回、34 匹、 4 施設（国内 2、国外 2）、7 名（国内 5、国外 2）の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。

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

病原微生物部においては、らい菌・結核菌・非結核性抗酸菌に起因する疾病の発症機構、病態生理の解明並びに診断・治療・予防法の開発を中心に研究業務を行っている。

ハンセン病に関する研究では、非侵襲性迅速簡便診断法の開発を目指し、血清診断法の確立を行っている。従来の血清診断法においては、らい菌特異的とされるPhenol Glycolipid (PGL)-I 抗原が用いられてきたが、感度・特異度ともに十分とは言えず、特に少菌型ハンセン病の診断に用いることは難しく、臨床的観察に頼らざるを得ないのが実情であった。当部で免疫原性タンパクとして同定したMajor Membrane Protein (MMP)-IIを血清診断用抗原として応用し、これまでに日本人の多菌型および少菌型ハンセン病患者血清を用いて、その有用性を検討してきた。その結果、従来のPGL-Iに比し感度・特異度ともに良好な成績が得られた。そこで、ハンセン病濃厚流行地を有するベトナム・インドネシア・ミャンマーにおいて、現地医療従事者・研究者の協力を得て、MMP-IIを用いた血清診断法の有効性を検証した。何れの国・地域においても優れた成績が得られ、多菌型患者では80～90%､少菌型患者では40～50%を診断することが可能であった。本方法がより多くの国々で利用されることを望みたい。

ハンセン病の発症予防法の開発については、BCG に改良を加えることで、新しいワクチンの作出を目指している｡ハンセン病の発症を長期にわたり予防するためには、CD4陽性T細胞とCD8陽性T細胞の両者の活性化が必要である。昨年度は、CD4陽性T細胞をより強く活性化する方策を樹立し得たため、今年度はCD8陽性T細胞の活性化に焦点を絞り検討を加えた。その方策として､HSP70を有効利用することとして、上記の主要抗原の一つMMP-II遺伝子の上流にHSP70遺伝子を連結しBCGに組み込ませた新しいリコンビナントBCGを作出した。本リコンビナントBCGは、期待したとおりヒト未感作CD8陽性T 細胞を強く活性化し、さらには、細胞障害性機能を有する所謂キラーT 細胞にまで分化誘導し得ることが明らかになった。今後は、本リコンビナントBCGの有効性についてマウスを用いた実験を展開する予定である。

8月にはBSL3実験室を有する第二研究棟が完成した。早期稼働を目指して種々の設定を施すとともに、国立感染症研究所の定める各種委員会及び安全連絡協議会の審査を受けた後、再整備の必要な箇所の是正を行った。この間、ハンセン病研究センターの職員はもとより、各部室の関連職員には多大なる御援助と御鞭撻を賜った。この場をお借りして厚く御礼申し上げたい。結核に関する研究においては、高齢者発症を予防する方策を樹立することを当面の課題として設定し、結核菌特異的CD8陽性T 細胞の活性化を誘導する機構の解明研究に着手した。その結果、従来報告されている抗原提示細胞上のT細胞活性化必須抗原の他に、未知なる抗原が極めて重要な役割を果たしていることを突き止めた。今後の進展が期待される。

非結核性抗酸菌の研究では、*M. avium* complex (MAC)の Glycopeptidolipid (GPL)の糖鎖生合成経路の解明を引き続き行った。臨床上重要な4型・8型・12型・16型の生合成に関わる遺伝子が次々と明らかになった。MACは、日和見感染を誘導する病原体として重要な位置を占める。こうした研究により、MAC の病原性を司る責任遺伝子が同定されることが期待される。

平成 21 年度にはハンセン病研究センターでは機構が大きく変革し、1部8室体制となることが決定され、新しく感染制御部が誕生することとなった。これまでに病原微生物部で進展してきた種々の研究成果がより発展されることを強く願う。

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 20 型血清型由来Glycopeptidolipid (GPL) の生合成遺伝子の解析

20 型血清型 GPL は、強い病原性を示す 4 型血清型 GPL と構造的に類似しているがその生物活性は 4 型 GPL と異なっている。そこで、4 型 GPL との構造的活性相関を明らかにすることを目指し、未だ解明されていない 20 型 GPL の生合成経路の解析を試みた。本血清型株のゲノム上から推定生合成遺伝子領域を単離し、塩基配列の解析を行った結果、20 型 GPL 糖鎖の生合成への関与が予測される遺伝子の存在が明らかとなった。

［宮本友司、向井　徹、前田百美、中　崇（日本 BCG 研究所）・矢野郁也（日本 BCG 研究所)、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に不明である。これまでに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てきた。Annexin-V を用いて、らい菌のシュワン細胞アポトーシス誘導能を検討したが、アポトーシスは観察されなかった。ヒト由来シュワン細胞では、MHC クラス I、クラス II 抗原の発現が見られたことから、これらの抗原はらい菌の抗原提示に関わっていると考えられる。

［前田百美、遠藤真澄（生体防御部)、牧野正彦］

3. らい菌 Thai53 株ゲノム情報をベースとした SNPs 解析

全ゲノムシークエンスが解明されたらい菌 TN 株と当センターで維持、使用されている標準株 Thai53 株のゲノムシークエンス（部分）の比較から新しい SNPs を十数カ所発見したので、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。TN 株ゲノムを決定したグループが報告した SNPs４タイプは非常に大雑把な分類であったが、新しい SNPs の利用により少なくとも東南アジアで多いタイプ１をさらにいくつかに分類することが可能と考えられた。

［甲斐雅規、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］

4. ミコール酸合成系に関する研究

質量分析（MALDI-TOF Mass）等を用い、らい菌より結核菌および BCG 菌と同等の Trehalose Monomycolate (TMM) 及び Trehalose Dimycolate (TDM) を同定した。らい菌の TMM 及び TDM が持つミコール酸サブクラスが特徴的であることから BCG 菌を用いてミコール酸合成系の解析を行った。これまでにミコール酸合成系のうち mma4A 及び mma2A 遺伝子の破壊株を BCG 菌コノート株で作成し構成されるミコール酸を調べたところ mma4A 破壊株がらい菌のミコール酸と類似していることがわかった。

［甲斐雅規、宮本友司、向井　徹、矢野郁也（日本 BCG 研究所)、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。幼若および新生仔カニクイザルにらい菌を接種し、その経過解析を行っている。鼻腔内、皮下の経路により接種を行い、鼻腔洗浄液の PCR、血清抗体価の検討を進め、１個体において７ヶ月後よりＰＧＬ抗体価±を示し、継続観察を進めている。

［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. 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 株を作製してきた。さらに、らい菌蛋白を高度に発現させるため BCG ゲノムより新規 promoter のスクリーニングを行った。その結果、*M. smegmatis* を宿主とした場合、既存の hsp60 promoter より強い領域を同定した。本領域は、これまで inclusion body としてしか調整されなかったらい蛋白を可溶画分としての調整を可能にし、抗酸菌を用いたリコンビナント蛋白の調整に有用と考えられた。

［向井　徹、宮本友司、前田百美、牧野正彦］

3. らい菌由来リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

らい菌由来 LpK の 13 アミノ酸からなる合成リポペプチド LipoK 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誘導する。生体防御反応においてらい菌感染した細胞を破壊するためには、CTL 細胞の果たす役割が大きい事がしられている。そこで、CD8 陽性 T 細胞がパーフォリンを産生しうるか検討した結果、LipoK 存在下でらい菌感染樹状細胞は CD8 陽性 T 細胞を刺激しパーフォリン、グランザイム B の産生を誘導した。さらに、今まであまり知られていないが、CD4 陽性 T 細胞もパーフォリンとグランザイム B を産生し、CTL 細胞の役割を果たすことが判明した。

［前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦］

［前田百美、向井徹、甲斐雅規、Mohammed Hatta (Hasanuddin University)、牧野正彦］

4. マクロファージ内におけるらい菌生存の温度依存性

らい菌は主にマクロファージとシュワン細胞に感染する。本研究では放射性同位元素を用いた方法によりらい菌の生存率を評価した。そして、らい菌感染マクロファージを 35 度で培養する方が 37 度で培養するよりもらい菌の生存率を高い状態に保つことができることが判明した。また、免疫抑制性サイトカインである IL-10 を添加することにより 3 週間程度生存が維持されることが分かった。一方、IL-10 未添加の場合、生存率は徐々に低下した。ヒトマクロファージの場合は、IL-10 未添加の場合でも少なくとも 4 週間生存は維持された。しかしながら、37 度で培養すると 2 週間以内に生存率は著明に低下した。これらの結果から、らい菌の細胞内における生存には温度が決定的な要因のひとつであることが判明した。

［福富康夫、前田百美、松岡正典（生体防御部)、牧野正彦］

5. 結核ワクチン開発のための基礎研究

新たな結核ワクチンの開発戦略を得ることを目的とし、ナイーブ CD8+ T 細胞から細胞傷害性 CD8+ T 細胞への分化誘導における CD4+ T 細胞亜集団間、特に Th1 細胞と Th2 細胞の'Help' 機能の差異に関し、選択的に Th1、Th2 細胞への分化を誘導できるペプチドを用いて検討した。その結果、CD8+ T 細胞における細胞傷害活性の誘導には Th1 細胞への分化を誘導するような環境下での樹状細胞の活性化が重要であること、CD8+ T 細胞に対し細胞傷害性を付与する因子は未知の分子である可能性が示唆された。

［田村敏生、下袴田陽子、高津聖志(富山県薬事研究所)、牧野正彦］

III. ハンセン病の診断および治療に関する研究

1. ハンセン病の新しい血清診断の開発

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。今回ハンセン病流行地である、南スラウェシ島（インドネシア）の患者血清中の抗 MMP-II 抗体値を測定した。その結果、抗 MMP-II 抗体の陽性率は多菌型ハンセン病で 98%、少菌型ハンセン病患者で 48%、結核患者では 0%であり、正常健常者では 5%であった。以上のことから、MMP-II 抗原はハンセン病の流行地での血清診断に用いることが可能と判定された。

［前田百美、向井徹、甲斐雅規、Mohammed Hatta (Hasanuddin University)、牧野正彦］

2. 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の一酸化窒素(NO)産生は、マクロファージ-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、NO 産生を増強するマクロファージ-CD4+ T 細胞間相互作用における GM-CSF と M-CSF の効果を検討した。その結果、GM-CSF は BCG 感染マクロファージの NO 産生を抑制すること、一方 M-CSF は BCG 感染マクロファージの NO 産生をさらに増強することを明らかにし、M-CSF が結核感染の治療に有効なサイトカインである可能性を示した。

［田村敏生、牧野正彦］

3.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小胞体ストレスタンパクの動態

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。ヒトマクロファージやヒト THP-1 細胞株、マウス J774 細胞株をクロファジミン存在下にて培養すると迅速にクロファジミンの細胞内沈着が起こり DNA 断片化や caspase 活性化を伴った細胞死が誘導されることを見出した。アポトーシス誘導に関与する Bip や IRE1-α、リン酸化 PERK といった小胞体ストレス関連タンパクの発現が増強することが分かり、DNA 修復酵素 PARP の不活性化も観察された。よって、クロファジミンによるアポトーシスは小胞体ストレスから誘導される可能性が示唆された。

［福富康夫、前田百美、牧野正彦］

IV. らい菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

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］

2. ハンセン病治療薬クロファジミンの作用機構、及びその耐性機構に関する研究

クロファジミンはリミノフェナジン系の化学構造を持ち、ハンセン病治療に用いられる主要な化学療法剤である。その作用機構を明らかにして新たな抗酸菌感染症治療薬を開発するため、*Mycobacterium avium* complex の異なる4株からそれぞれクロファジミン耐性変異株を分離した。これらの変異株は他の化学療法剤には感受性であり、クロファジミン特異的な耐性変異を持つことがわかった。アレイ解析、シークエンシング解析を行ってクロファジミン耐性を引き起こす変異の解析を行っている。

［中田登、甲斐雅規、牧野正彦］

3. 抗酸菌のリファンピシン耐性変異に関する研究

化学療法剤リファンピシンに対するらい菌の耐性はRNA合成酵素βサブユニットの遺伝子であるrpoBの変異によって起こることが知られており、遺伝子上の様々な位置における変異が報告されている。そこで、らい菌rpoB 遺伝子の個々の変異がリファンピシン感受性に与える影響を詳細に検証するため、迅速発育抗酸菌 *Mycobacterium smegmatis* の rpoB 遺伝子をらい菌 rpoB 遺伝子で置き換えたモデル抗酸菌株を作製した。これに点変異を加えて rpoB 変異と薬剤耐性の関係について検討を行っている。

［中田登、甲斐雅規、牧野正彦］

国際協力関係業務

Ⅰ．ハンセン病の血清診断と薬剤耐性らい菌に関する研究

これまで、主にベトナム国とミャンマー国との共同研究により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行い、感度・特異性ともに良好に患者血清と反応する成績を得た。また、患者および患者接触者のモニタリングにも有効であることがわかった。薬剤耐性らい菌についてはベトナム国において状況調査中である。さらにWHOの薬剤耐性サーベイのリファレンスラボとしてミャンマー国、ベトナム国等のハンセン病再発患者における耐性菌の状況を調査している。これら共同研究を行うことで、各国のラボに継続した技術供与を行い、当地の研究基盤の向上にも協力している。

［甲斐雅規、福富康夫、向井　徹、前田百美、宮本友司、松岡正典（生体防御部)、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) 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.

2) 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.

3) 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.

4) Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, Y. Miyamoto, and M. Makino. $CD4^+$ T cell activation by antigen-presenting cells infected with urease-deficient recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 53:96-106, 2008.

5) 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.

6) Miyamoto, Y., T. Mukai, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. The *Mycobacterium*

avium complex *gtfTB* gene encodes a glucosyltransferase required for the biosynthesis of serovar 8-specific glycopeptidolipid. J. Bacteriol., 190:7918-7924, 2008.

7) Kai, M., N. P. N. Ha, H. T. T. Huong, N. H. An, Y. Fukutomi, Y. Maeda, Y. Miyamoto, T. Mukai, T. Fujiwara, N. T. Tan, and M. Makino. Serological diagnosis of leprosy in patients in Vietnamese by enzyme-linked immunosorbent assay with *Mycobacterium leprae*-derived major membrane protein-II. Clin. Vaccine Immunol., 15:1755-1759, 2008.

8) Makino, M., Y. Maeda, M. Kai, T. Tamura, and T. Mukai. GM-CSF mediated T-cell activation by macrophages infected with recombinant BCG that secretes major membrane protein-II of *Mycobacterium leprae*. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 55:39-46, 2009.

9) Fukutomi, Y., Y. Maeda, M. Matsuoka, and M. Makino. Temperature dependency for survival of *Mycobacterium leprae* in macrophages. Jpn. J. leprosy, 78:7-16, 2009.

10) Akama, T., K. Suzuki, K. Tanigawa, A. Kawashima, H. Wu, N. Nakata, Y. Osana, Y. Sakakibara, and N. Ishii. Whole genome tiling array analysis of *Mycobacterium leprae* RNA reveals high expression of pseudogenes and non-coding regions. J. Bacteriol., 191:3321-3327, 2009.

2. 和文発表

1) 牧野正彦. らい菌. 抗酸菌. NPO 法人バイオメディカルサイエンス研究会編集, バイオセーフティの事典―病原微生物とハザード対策の実際―, みみずく舎／医学評論社, 188-193, 2008.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Maeda, S., N. Nakata, I. Yano, M. Makino, and N. Fujiwara. Genetic analysis of the glycosylation pathway of glycopeptidelipids in *Mycobacterium intracellulare* serotype 16 and serotype 17. ASM Meeting, June, 2008, Boston, USA.

2) Nakata, N., N. Fujiwara, S. Maeda, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. Three methyltransferase genes determine the divergence between *Mycobacterium intracellulare* serotypes 7 and 12. ASM Meeting, June, 2008, Boston, USA.

3) Fujiwara, N., N. Nakata, T. Naka, I. Yano, K. Kobayashi, M. Makino, S. Matsumoto, M. Yoshimura, and S. Maeda. Structure and biosynthesis gene cluster of an antigenic serotype 16 glycopeptidolipid from Mycobacterium intracellulare. ASM Meeting, June, 2008, Boston, USA.

4) Makino, M., T. Mukai, Y. Maeda, Y. Miyamoto, and T. Tamura. $CD4^+$ T cell activation by antigen-presenting cells infected with urease-deficient recombinant BCG. 43rd Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Baltimore, Maryland, USA, July 8-10, 2008.

5) Mukai, T., Y. Miyamoto, and M. Makino. Construction of *ureC*-disrupted BCG which expressing *M. leprae* MMP II antigen. 43rd Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Baltimore, Maryland, USA, July 8-10, 2008.

6) Miyamoto, Y., T. Mukai, Y. Maeda, and M. Makino. *Mycobacterium avium* complex serovar 8. 43rd Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Baltimore, Maryland, USA, July 8-10, 2008.

7) Makino, M. Vaccines for mycobacterial diseases. The fifth Taiwan-Japan symposium on international collaboration and TB. September 11-13, 2008, Taipei, Taiwan.

2. 国内学会

1) 甲斐雅規,前田百美,福富康夫,宮本友司,向井　徹,牧野正彦. らい菌由来免疫原生タンパク、MMP-II を用いた血清診断. 第 81 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2008 年 5 月　熊本

2) 向井　徹, 和泉眞蔵, Teky Budiawan, 宮本友司, Cita Rosita, Indropo Agusni, 松岡正典, 牧野正彦. 常温輸送臨床検体の LAMP 法によるらい菌遺伝子検出. 第 81 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2008 年 5 月　熊本

3) 福富康夫, 前田百美, 松岡正典, 牧野正彦. ヒトマクロファージ内におけるらい菌の生存機構. 第 81 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2008 年 5 月　熊本

4) 水野淨子, 中　崇, 中田　登, 前田伸司, 合田麗奈, 小林貴美子, 牧野正彦, 藤原永年. *Mycobacterium intracellulare* serotype13 由来新規特異糖ペプチド脂質の糖鎖構造と生合成. 日本生化学・日本分子生物学会合同年会　2008 年 12 月　神戸
5) 福富康夫, 牧野正彦. らい菌感染ヒトマクロファージの IFN-γ刺激による phox 発現.　第 38 回日本免疫学会総会　2008 年 12 月　京都
6) 宮本友司, 向井　徹, 中　崇, 甲斐雅規, 前田百美, 矢野郁也, 牧野正彦. *Mycobacterium avium* complex における glycopeptidolipid 生合成遺伝子群の転写制御解析. 第 82 回日本細菌学会総会　2009 年 3 月　名古屋
7) 甲斐雅規, 藤原永年, 宮本友司, 向井　徹, 矢野郁也, 牧野正彦. BCG 菌ミコール酸のサブクラス合成遺伝子の解析. 第 82 回日本細菌学会総会　2009 年 3 月　名古屋
8) 藤原永年, 中田　登, 中　崇, 水野淨子, 合田麗奈, 牧野正彦, 吉村満美子松本壮吉, 前田伸司. *Mycobacterium intracellulare* 由来血清型 7, 12, 13 型糖ペプチド脂質の構造類似性とオリゴ糖解析. 第 82 回日本細菌学会総会　2009 年 3 月　名古屋
9) 前田百美, 田村敏生, 福富康夫, 牧野正彦. Evaluation of exosomes derived from *Mycobacterium leprae* infected dendritic cells. 第 82 回日本細菌学会総会　2009 年 3 月　名古屋
10) 大崎敬子, 甲斐雅規, 米澤英雄, 牧野正彦. *Helicobcter pylori luxS* 変異株の外膜蛋白の解析. 第 82 回日本細菌学会総会　2009 年 3 月　名古屋
11) 福富康夫, 前田百美, 牧野正彦. 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小胞体ストレスタンパクの動態. 第 82 回日本細菌学会総会　2009 年 3 月　名古屋
12) 下袴田陽子, 田村敏生, 牧野正彦, 高津聖志. 抗酸菌分泌タンパク Ag85B 由来 Peptide-25 による Th1 型免疫応答誘導機序の解析. 第 82 回日本細菌学会総会　2009 年 3 月　名古屋

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 の抗らい菌活性をヌードマウス足蹠法で検討したところ、Buddemeyer 法と同様に感受性らい菌(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、最近市販された rifabutin(RFB)の抗らい菌活性を、ヌードマウス足蹠法で検討したところ、RFB は RFP より 2.5 倍強い抗らい菌活性を認めたことから、治療期間の短縮、多剤併用療法への導入が示唆された。

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。データ解析と予測プログラムにより、らい菌遺伝子に新規のオペロン構造を複数見い出した。また、皮膚スメア材料を用いた RT-PCR により、患者によってらい菌の RNA 発現状態が異なることを明らかにしたことから、診断法への応用を検討した。

近年、細胞内脂質蓄積の分子機構として ADRP, perilipin などの役割が明らかになってきたことから、らい菌を貪食したマクロファージにおいてこれらの検討を行った。その結果、らい菌感染マクロファージでは ADRP, perilipin の発現が誘導されること、TLR 刺激により自然免疫系が活性化するとそれが抑制されることなどが判明した。

さらに、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)によって自然免疫系が活性化することを種々の細胞を用いて明らかにし、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・差別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。

メキシコの民族構成の多様性に鑑み、東部及び南部半島域より得たらい菌の遺伝子型の解析を行った。東部および半島からの菌は全て *rpoT* 遺伝子 3 型であった。SNP は type 4 が 2 例見られた。それぞれの地域に定住した異なる民族的由来に随伴したそれぞれの地域でのハンセン病の伝搬経路が推察された。多型性の広い VNTR は community レベルでの伝播解析に適している一方、SNP あるいは多型性が狭い VNTR は global な伝播解析に適している。らい菌の遺伝子型の世界的な分布の把握は過去および現在のハンセン病の伝播の解析に有用である。

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。

ブルーリ潰瘍に臨床が類似する抗酸菌感染症について研究を行った。分子遺伝学的に近縁の *M. shinshuense*（“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”）による9症例が日本国内で報告され、毒性脂質マイコラクトン産生能が確認され、現在 *M. ulcerans* と *M. shinshuense* の異同性を検討中である。

一般検査室で同定不可能な抗酸菌について、同定の検査・研究も実施しており、*M. xenopi* 症例が高い確率で *M. heckeshornense* 症例の誤診であること、*M. marinum* による肺感染症の存在等を明らかにした。

以上、生体防御部は主に生体側の立場からハンセン病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。

平成21年4月1日に生体防御部は病原微生物部と一体となった。新たな研究棟がハンセン病研究センター内に完成し、更なる研究の発展のため、両部を一つにして、効率よく、また機動的な研究体制として「感染制御部」がスタートした。今後、新研究棟の稼働、研究の発展、研究体制の益々の充実を図り、ハンセン病、結核、非結核性抗酸菌症の研究を行っていく。

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、キノロン骨格の7位にスピロ型二環性アミノピロロピリジン基、8位にメトキシ基を導入することで、約11時間と長い血中半減期と優れた組織移行性を持つ新規ニューキノロン系抗菌薬DC-159aの抗らい菌活性を、ヌードマウス足蹠法で検討した。DC-159aは、らい菌(Thai-53株)接種後90日から151日まで週5日間毎日10 mg/kgの経口投与で足蹠内のらい菌の増殖を完全抑制した。DC-159aは、ニューキノロン中で最も強い *in vivo*-抗らい菌活性を示した。DC-159aは、多剤耐性・キノロン耐性らい菌(Zensho-4株)に対し交差耐性を示さないことから多剤耐性･キノロン耐性患者への適用が示唆された。

[儀同政一]

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、ナフタレン環の3位と4位にスピロピペリジル基を導入することで 45 時間と長い血中半減期と優れた組織移行性を持つ新規リファマイシン系抗菌薬 rifabutin(RFB)の抗らい菌(Thai-53 株)活性を、ヌードマウス足蹠法で検討した。RFB は、らい菌接種後 90 日から 151 日まで週 5 日間毎日 2 mg/kg の経口投与で足蹠内のらい菌の増殖を完全抑制した。RFB は、RFP より 2.5 倍強い *in vivo*-抗らい菌活性を認めたことから、治療期間の短縮、多剤併用療法への導入が示唆された。

［儀同政一］

３．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

ニューキノロン系薬(NQs)の抗らい菌活性は、DC-159a＞MFLX≒SPFX＞STFX≒GFLX＞GRNX≒LVFX＞TFLX≒OFLXの順で、キノロン母核の 1 位にシクロプロピル基、3 位にカルボキシル基、4 位にオキシ基、5 位にアミノ基または水素基、6 位にフッ素基、7 位に 5 員環または 6 員環の塩基性環状アミン、8 位にフッ素基、塩素基またはメトキシ基で置換した DC-159a、MFLX、SPFX、STFX、GFLX が強い抗らい菌活性を示す構造相関を明らかにした。

［儀同政一］

II. ハンセン病の神経障害に関する研究

ハンセン病性末梢神経炎発症機構解明の一環として、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い、これまでに各種増殖因子のうち nerve growth factor(NGF)存在下においてミエリン形成の指標である PAS 陽性細胞の頻度が最も増大した事を明らかにし、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。この系において、らい菌およびらい菌由来因子が及ぼす影響について検討中である。　[遠藤真澄]

III. ハンセン病の免疫応答に関する研究

１．らい菌ゲノムに発現する RNA 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。データ解析と予測プログラムにより、らい菌遺伝子に新規のオペロン構造を複数見い出した。また、皮膚スメア材料を用いた RT-PCR により、患者によってらい菌の RNA 発現状態が異なることを明らかにしたことから、診断法への応用を検討した。

[鈴木幸一、赤間　剛、石井則久]

２．らい菌感染マクロファージの脂質蓄積機構に関する研究

L 型ハンセン病組織球のファゴゾーム内で、らい菌は

大量の脂質とともに存在することから、この脂質が菌の増殖に重要であると考えられる。近年、細胞内脂質蓄積の分子機構として ADRP, perilipin などの役割が明らかになってきたことからこの検討を行った。その結果、らい菌感染マクロファージでは ADRP, perilipin の発現が誘導されること、TLR 刺激により自然免疫系が活性化するとそれが抑制されることなどが判明した。

[鈴木幸一、谷川和也、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)によって自然免疫系が活性化することを種々の細胞を用いて明らかにした。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 20 年（2008 年）については、日本人 3 名(男性 2 名、女性 1 名)、在日外国人 4 名（ブラジル人 1 名、フィリピン人 2 名、韓国人 1 名；男性 1 名、女性 3 名）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 10 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。ハンセン病回復者 7 名も講習会に協力をいただいた。

［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。その結果、ハンセン病医療プログラムの一般医療政策へ統合と国民へのハンセン病の啓発が今後の重要な課題であった。回復者・患者への偏見・差別の是正には、彼らの経済的自立、教育水準の向上、identity の確立が必要と考えられ、早期発見・早期治療、障害予防のための医療制度の改革、経済的自立のための microcredit loan や効果的な職業訓練の導入、教育水準を高めるためのファンドの設立と、回復者やその子弟から教師を育成するなどが効果的であった。

[石井則久、森　修一（福島医大）]

４．メキシコから分離されたらい菌の遺伝型の分布

メキシコの西部地域より得たらい菌は、他の中南米の国々から得たらい菌とは異なり、*rpo T* 遺伝子４型が圧倒的多数を占め、東アジアに分布するらい菌と同じであった。同国の民族構成の多様性に鑑み、東部及び南部半島域より得たらい菌の遺伝子型の解析を行った。東部および半島からの菌は全て *rpo T* 遺伝子 3 型であった。SNP は西部地域では見られなかったアフリカが起源と考えられている type 4 が２例見られた。それぞれの地域に定住した異なる民族的由来に随伴したそれぞれの地域でのハンセン病の伝搬経路が推察された。多型性の広い VNTR は community レベルでの伝播解析に適している一方、SNP あるいは多型性が狭い VNTR は global な伝播解析に適している。らい菌の遺伝子型の世界的な分布の把握は過去および現在のハンセン病の伝播の解析に有用である。

[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 9 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、日本では希少の *M. haemophilum*, *M. celatum*, *M. shimoidei*, *M. triplex*, *M.genavense* 等および結核菌と一部交差反応する新種抗酸菌の分離･同定に成功した。また､*M. xenopi* 症例が高い確率で *M. heckeshornense* 症例の誤診であること、*M. marinum* による肺感染症の存在等を明らかにした。

［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。

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。

受賞

日本ハンセン病学会賞［鈴木幸一］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌　上　発　表

1. 欧文発表

1. Ishii N, (Executive Committee of guideline for the diagnosis and treatment of scabies): Guideline for the diagnosis and treatment of scabies. J Dermatol 35: 378-393, 2008.
2. Matsuoka M, Khin SA, Kyaw K, Tan EV, Balagon M V, Saunderson P, Gelber R, Makino M, Nakajima C, Suzuki Y: A novel method for simple detection of mutations conferring drug resistance in *Mycobacterium leprae*, based on a DNA microarray, and its applicability in developing countries. J Med Microbiol 57 1213-1219, 2008.
3. Bang PD, Suzuki K, Ishii N, Khang TH: Leprosy situation in Vietnam - reduced burden of stigma. Jpn J Leprosy 77: 29-36, 2008.
4. En J, Goto M, Nakanaga K, Higashi M, Ishii N, Saito H, Yonezawa S, Hamada H, Small PLC: Mycolactone is responsible for the painlessness of *Mycobacterium ulcerans* infection (Buruli ulcer) in a murine study. Infect Immun 76: 2002-2007, 2008.
5. Kyaw K, Tsoh TM, Swe SYY, Nagaoka Y, Takezaki S, Suzuki K, Ishii N: Clinical analysis of multibacillary leprosy patients after 1-year fixed World Health Organization recommended multidrug therapy at Yangon General Hospital, Myanmar. J Dermatol 35: 264-269, 2008.
6. Tanigawa K, Suzuki K, Nakamura K, Akama T, Kawashima A, Wu H, Hayashi M, Takahashi S, Ikuyama S, Ito T, Ishii N: Expression of adipose differentiation-related protein(ADRP) and perilipin in macrophages infected with *Mycobacterium leprae*. FEMS Microbiol Lett 289: 72-79, 2008.

7. Ishibashi T, Zhao H, Kawabe K, Oono T, Egashira K, Suzuki K, Nawata H, Takayanagi R, Ito T: Blocking of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) activity attenuates the severity of acute pancreatitis in rats. J Gastroenterol 43(1):1435-5922, 2008.
8. Nakao I, Kanaji S, Ohta S, Matsushita H, Arima K, Yuyama N, Yamaya M, Nakayama K, Kubo H, Watanabe M, Sagara H, Sugiyama K, Tanaka H, Toda S, Hayashi H, Nakajima A, Inoue H, Hoshino T, Nakajima A, Inoue M, Suzuki K, Aizawa H, Okinami S, Nagai H, Nagai H, Hasegawa M, Fukuda T, Green ED, Izuhara K: Identification of pendrin as a common mediator for mucus production in bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. J Immunol 180: 6262-6269, 2008.
9. Matsuoka M: Recent advances in the molecular epidemiology of leprosy. Jap J Leprosy 78 67-73, 2009.
10. Maejima H, Ishii N, Aki R, Katsuoka K, Obata S: Borderline lepromatous leprosy presenting as a single cutaneous plaque. Acta Dermato-Venereologica 89: 206-207, 2009.
11. Kasai S, Ishii N, Natsuaki M, Fukutomi H, Komagata O, Kobayashi M, Tomita T: Prevalence of *kdr*-like mutations associated with pyrethroid resistance in human head louse populations in Japan. J Med Entomol 46: 77-82, 2009.
12. Mikita N, Kanazawa N, Ozaki M, Kosaka M, Ishii N, Nishimura H, Furukawa F: No involvement of non-synonymous TLR2 polymorphisms in Japanese leprosy patients. J Dermatol Sci 54: 48-49, 2009.
13. Bang PD, Suzuki K, Phuong LT, Chu TM, IshiiN, Khang TH: Evaluation of polymerase chain reaction-based detection of *Mycobacterium leprae* for the diagnosis of leprosy. J Dermatol 36: 269-276, 2009.
14. Tanigawa K, Suzuki K, Kimura H, Takeshita F, Wu H, Akama T, Kawashima A, Ishii N: Tryptophan aspartate-containing coat protein (CORO1A) suppresses Toll-like receptor signaling in *Mycobacterium leprae* infection. Clin Exp Immunol 156: 495-501, 2009.

2. 和文発表

1. 石井則久、和田康夫：疥癬治療の最新の進歩. 最新皮膚科学大系 2008-2009（玉置邦彦総編集），p225-231, 中山書店（東京），2008.
2. 鈴木幸一、永岡　譲、森　修一、石井則久：2007年に於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 77: 15-23, 2008.
3. 谷川和也、鈴木幸一、川島　晃、三島眞代、Huhehasi Wu、赤間　剛、武下文彦、石井則久：らい菌感染マクロファージにおける細胞内寄生と排除に関わる分子機構. 日本ハンセン病学会雑誌 77: 57-61, 2008.
4. 石井則久：その他の皮膚感染症(後天性免疫不全症候群、白癬、ハンセン病、梅毒）. 皮膚の事典（溝口昌子、他編集），p196-206, 朝倉書店（東京），2008.
5. 石井則久：疥癬診療ガイドラインの誕生. 疥癬対策パーフェクトガイド（南光弘子編集），p64-77, 秀潤社（東京），2008.
6. 石井則久：スミスリン耐性アタマジラミ. 皮膚病診療 30: 476, 2008.
7. 石井則久、川口博史、中嶋　弘、杉本純一：アトピー性皮膚炎患者にみられた連鎖球菌性膿痂疹. 皮膚科の臨床 50(suppl):158-159, 2008.
8. 加藤知子、柳田敦美、松本義也、杉田泰之、石井則久、冨田　靖：ハンセン病. 皮膚科の臨床 50(suppl):192-193, 2008.
9. 石井則久、田村暢子、小茂田昌代：疥癬とその対策. 薬剤師のための感染防御マニュアル第２版（日本病院薬剤師会監修），pp99-105,薬事日報社（東京），2008.
10. 石井則久、中永和枝、朝比奈昭彦：硬結性紅斑に抗結核薬は有効か？ EBM皮膚疾患の治療(宮地良樹、幸野　健編集)，p90-93, 中外医学社(東京)，2008.
11. 岩本朋忠、中永和枝、石井則久、吉田志緒美、斎藤肇：Mycobacterium lentiflavumの菌種内塩基配列変異に関する研究. 結核 83: 417-422, 2008.
12. 石井則久、関根万里、渡辺朋美、朝比奈昭彦：輸入皮膚感染症. 臨床皮膚科 62(増刊号): 22-26, 2008.
13. 朝比奈昭彦、石井則久：性感染症の動向. MB Derma 141:1-7,2008.
14. 石井則久、鈴木幸一：ハンセン病. よくわかる病態生理９皮膚疾患(川田　暁編集)，p187-190, 日本

医事新報社（東京）,2008.
15. 石井則久、朝比奈昭彦：梅毒．よくわかる病態生理９皮膚疾患(川田　暁編集)，p191-194，日本医事新報社（東京）,2008.
16. 石井則久：疥癬診療ガイドライン．医学のあゆみ 226:1075-1076，2008.
17. 石井則久：疥癬に使用する外用剤は？ 現場の疑問に答える皮膚病治療薬（宮地良樹、大谷道輝編集）,151-153,中外医学社（東京），2008.
18. 石井則久：皮膚抗酸菌症テキスト．P1-130,金原出版（東京）,2008.
19. 石井則久：ハンセン病の最近の話題．皮膚の科学 7：416-420，2008.
20. 石井則久：ハンセン病．家庭の医学，p1079，保健同人社（東京）,2008.
21. 今田英明、岸　和彦、岡部　勉、中永和枝、石井則久、斎藤　肇：*Mycobacterium shinshuense* により生じた Buruli 潰瘍に類似した難治性肘頭部潰瘍の 1 例．整形外科 59：1440-1445,2008.
22. 石井則久：疥癬．Aging & Health，17(No 47)：23-24,2008.
23. 牧上久仁子、石井則久、大滝倫子、安村誠司：保育園乳児クラスにおける疥癬集団感染例．皮膚科の臨床 50：1044-1045，2008.
24. 山本晃三、種瀬啓士、原藤 玲、宮川俊一、石井則久、鈴木幸一：らい反応を呈した Hansen 病の 1 例－らい反応治療と免疫再構築症候群の関連を含めて一．臨床皮膚科 62：1012-1015，2008.
25. 石井則久：ハンセン病の将来．日本皮膚科学会雑誌 118：2780-2782，2008.
26. 鈴木幸一、赤間　剛、石井則久：ハンセン病研究の基礎と臨床の架け橋-らい菌ゲノム発現情報の臨床応用-．日本皮膚科学会雑誌 118：2783，2008.
27. 與儀ヤス子、藤村響男、鈴木幸一：ハンセン病動物モデルの歴史と高血圧ヌードラットの特徴.日本ハンセン病学会雑誌　77:197-204，2008.
28. 石井則久、鈴木幸一：地球温暖化に伴う輸入感染症．皮膚科の臨床 51：7-11，2009.
29. 石井則久：ハンセン病．皮膚疾患最新の治療 2009-2010（瀧川雅浩、渡辺晋一編），p161，南江堂（東京），2009.
30. 石井則久：疥癬、ケジラミ症．今日の治療指針 2009（山口　徹、北原光夫、福井次矢総編集),p897-898,医学書院（東京）,2009.
31. 宮本樹里亜、石橋正史、長坂　武、陳　科榮、石井則久：BT 型の皮膚病理組織所見を呈し境界反応を伴ったハンセン病の 1 例．日本皮膚科学会雑誌 119：23-31，2009.
32. 石井則久、森　修一、永岡　譲、鈴木幸一：WHO 第 9 回ハンセン病制圧のための技術勧告’Technical Advisory Group：TAG)会議報告．日本ハンセン病学会雑誌 78：75-88，2009.
33. 鈴木幸一、永岡　譲、森　修一、石井則久：2008 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 78：25-34，2009.
34. 鈴木幸一、中村和昭、谷川和也、川島　晃、Huhehasi Wu、赤間　剛、林　もゆる、関村　慎、Bang PD、石井則久：らい菌ゲノム由来 RNA 発現の網羅的解析とその意味するもの．日本ハンセン病学会雑誌 78：61-65，2009.
35. 赤間　剛、鈴木幸一、谷川和也、川島　晃、Huhehasi Wu、中村和昭、林　もゆる、石井則久：タイリングアレイを用いたらい菌全ゲノムにおける発現部位の検出．日本ハンセン病学会雑誌 78：49-54，2009.
36. 儀同政一：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．日本ハンセン病学会雑誌、78,17-23,2009.
37. 石井則久：非結核性抗酸菌症の皮膚症状．うつる皮膚病最前線（宮地良樹編集），p226-229,メディカルレビュー社（東京），2009.
38. 石井則久：疥癬のガイドラインに基づく標準治療は．うつる皮膚病最前線（宮地良樹編集），p262-265,メディカルレビュー社（東京），2009.
39. 石井則久：地球温暖化に伴う輸入感染症．マルホ皮膚科セミナー 198：16-18，2009.
40. 石井則久：施設での疥癬の集団発生の治療について．皮膚病診療 31：514-515，2009.
41. 石井則久、永岡　譲：ハンセン病の検査法．MB デルマ 151：37-42，2009.
42. 石井則久：ケジラミ症(pediculosis pubis)．1 冊でわかる性感染症(本田まりこ、宮地良樹、清水　宏編集),p187-190，文光堂（東京），2009.
43. 石井則久：疥癬．1 冊でわかる性感染症（本田まりこ、宮地良樹、清水　宏編集),p191-194，文光堂（東京），2009.
44. 石井則久、永岡　譲：ハンセン病．皮膚感染症のすべて（渡辺晋一編集），p174-178,南江堂（東京），2009.
45. 石井則久：知覚異常を愁訴とする皮膚疾患．皮膚疾

患診療実践ガイド第2版(宮地良樹、古川福実編集), p47, 文光堂（東京）, 2009.

46. 石井則久：知覚検査. 皮膚疾患診療実践ガイド第2版(宮地良樹、古川福実編集), p96-97, 文光堂(東京), 2009.
47. 石井則久:細菌検査法. 皮膚疾患診療実践ガイド第2版（宮地良樹、古川福実編集）, pp109-110, 文光堂（東京）, 2009.
48. 石井則久:新しい皮膚科用薬　イベルメクチン. 皮膚疾患診療実践ガイド第2版（宮地良樹、古川福実編集）, pp196-197, 文光堂（東京）, 2009.
49. 石井則久：皮膚結核. 皮膚疾患診療実践ガイド第2版（宮地良樹、古川福実編集）, pp557-558, 文光堂（東京）, 2009.
50. 石井則久:ハンセン病. 皮膚疾患診療実践ガイド第2版（宮地良樹、古川福実編集）, pp558-560, 文光堂（東京）, 2009.
51. 石井則久:非結核性抗酸菌症. 皮膚疾患診療実践ガイド第2版(宮地良樹、古川福実編集), pp560-561, 文光堂（東京）, 2009.
52. 石井則久:ハンセン病. 病東京都感染症マニュアル2009（東京都新たな感染症対策委員会監修),pp370-371, 東京都福祉保健局（東京）, 2009.
53. 北見由季、北見　周、飯島正文、石井則久：ネパール人男性に生じたハンセン病(BL 型)の 1 例. 皮膚科の臨床 51: 483-486,2009.

II. 学　会　発　表

1. 国際学会

1. Kimura H, Landek-Salgado M, Suzuki K, Rose NR, Caturegli P: Over-expression of LMP2 has a critical role in the pathogenesis of Hürthle cell and hypothyroidism: A novel target of therapy for Hashimoto's thyroiditis. Experimental Biology 2008, San Diego, CA, April 2008.
2. Kanazawa N, Mikita N, Nakatani Y, Kosaka M, Ozaki M, Ishii N, Nishimura H, Furukawa F: Genetic involvement of bacterial sensor molecules TLR2, DC-SIGN and NOD2 in Hansen's disease. The 5th Joint Meeting of International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, May 2008.
3. Saito H, Nakanaga K, Ishii N, Iwamoto T: Pulmonary Infection due to *Mycobacterium marinum*. 29th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, Plovdiv, Bulgaria, July 2008.
4. Matsuoka M, Budiawan T, Mukai1 T, Gidoh M, Izumi S: Quantitation and evaluation of *Mycobacterium leprae* viability found in water in a leprosy endemic area. 43rd US-Japan conference on Tuberculosis and leprosy, Baltimore, MD, July 2008.
5. En J, Goto M, Nakanaga K, Ishii N, Saito H, Yonezawa S, Small PLC: Mycolactone is responsible for the painlessness of *Mycobacterium ulcerans* infection (Buruli ulcer). 43rd US-Japan conference on Tuberculosis and leprosy, Baltimore, MD, July 2008.
6. Kimura H, Landek-Salgado M, Suzuki K, Caturegli P: The immunoproteasome-MHC class I pathway modulates thyroid function and morphology. 9th Annual Meeting of the American Thyroid Association, Chicago, IL, August 2008.
7. Matsuoka M: Application of molecular biological methods to monitor the level of drug resistance in leprosy. 17th International Congress of Tropical Diseases and Malaria. Judu, Korea, October 2008.
8. Suzuki K: Innate immune activation and thyroid autoimmunity. Symposium: update in thyroid autoimmunity. Korean Endocrine Society Meeting, Jeju, Korea, November 2008.
9. Matsuoka M: Genotyping of *Mycobacterium leprae* and its application to analysis of leprosy transmission. Second International Symposium on leprosy. Valencia, Spain, January 2009.

2. 国内学会

1. 野口義彦、赤間 剛、龍野一郎、吉村 弘、伊藤公一、鈴木幸一、Leonard D Kohn: サイログロブリンの甲状腺細胞増殖作用. 第 24 回甲状腺病態生理研究会, 東京, 2008 年 1 月.
2. Huhehasi Wu、鈴木さゆり、Donald F. Sellitti、Sonia Q. Doi、赤間 剛、相沢清香、谷川和也、川島 晃、三島眞代、石井則久、加藤良平、鈴木幸一: 新規サイログロブリン遺伝子バリアントのクローニング. 第 24 回甲状腺病態生理研究会, 東京, 2008 年 1 月.
3. 山崎和子、山田恵美子、山田 哲、鈴木幸一、小原孝男、高野加寿恵、佐藤幹二: ヒト甲状腺濾胞浮遊

培養系における interferon-γの甲状腺機能と免疫系に及ぼす作用：慢性甲状腺炎モデルに於ける無機ヨードの作用．第 24 回甲状腺病態生理研究会，東京，2008 年 1 月．

4. 前島英樹、安藝良一、勝岡憲生、石井則久、小幡秀一：日系ブラジル人に生じた境界群ハンセン病の 1 例．日本皮膚科学会第 817 回東京地方会，横浜，2008 年 1 月．
5. 石井則久：地球温暖化に伴う輸入感染症．シンポジウム「知っておきたい現代感染症事情」．日本皮膚科学会第 71 回東京支部総会，東京，2008 年 2 月．
6. 山本晃三、種瀬啓士、原藤　玲、宮川俊一、石井則久：ハンセン病の 1 例．日本皮膚科学会第 71 回東京支部総会，東京，2008 年 2 月．
7. 北見由季、北見　周、飯島正文、石井則久：ネパール人に発症した BL 型ハンセン病の 1 例．日本皮膚科学会第 71 回東京支部総会，東京，2008 年 2 月．
8. 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝、重藤えり子、児玉朱実、安斎栄子：*Mycobacterium triplex* 肺感染症の 2 例－主としてその細菌学的検討．　第 58 回日本結核病学会中国四国支部学会，　岡山，　2008 年 2 月．
9. 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝、江崎孝行、大楠清文、秋山也寸史、原田敬之、小倉名粋、松本英伸、前田伸司、鹿住祐子、早川啓史、長野 誠：肺疾患患者より分離された新抗酸菌－新たに分離された 6 菌株の細菌学的性状．　第 58 回日本結核病学会中国四国支部学会，　岡山，　2008 年 2 月．
10. 斎藤 肇、中永和枝、岩本朋忠、新沼ゆかり、中田尚志：*Mycobacterium marinum* は肺感染症をひきおこす．第 58 回日本結核病学会中国四国支部学会，岡山，　2008 年　2 月．
11. 久本晃子、小崎佐恵子、古元玲子、玉置明彦、三宅俊次嗣、西井研治、作久川亮、中永和枝、斎藤 肇：DDH 法にて *Mycobacterium xenopi* と診断されたが最終的に *Mycobacterium heckeshornense* と同定された 1 例．　第 58 回日本結核病学会中国四国支部学会，　岡山，　2008 年 2 月．
12. 谷川和也、鈴木幸一、武下文彦、石井則久：らい菌感染マクロファージにおける TLR シグナル抑制．第 81 回日本細菌学会総会,ワークショップ WS3 細菌の宿主防御応答からの多様なエスケープ機構，京都，2008 年 3 月．
13. 石井則久：ハンセン病の将来．教育講演 ハンセン病-neglected diseases のコントロールに向けて，第 107 回日本皮膚科学会総会,京都，2008 年 4 月．
14. 鈴木幸一、赤間　剛、石井則久：ハンセン病研究の基礎と臨床の架け橋-らい菌ゲノム発現情報の臨床応用-．教育講演 ハンセン病-neglected diseases のコントロールに向けて，第 107 回日本皮膚科学会総会,京都，2008 年 4 月．
15. 鈴木智子、荒川智佳子、渋谷佳直、清島真理子、浅野裕子、大楠清文、中永和枝、石井則久：*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* による皮膚潰瘍-本邦第 5 例の報告．第 107 回日本皮膚科学会総会,京都，2008 年 4 月．
16. 冨田隆史、石井則久、夏秋　優、福富裕之、小林睦生、葛西真治：アタマジラミのピレスロイド抵抗性遺伝子の保有率．第 60 回日本衛生動物学会総会，栃木，2008 年 4 月．
17. 齋藤　肇、中永和枝、石井則久、岩本朋忠：*Mycobacterium marinum* による肺感染症．第 83 回日本結核病学会総会，東京，2008 年 4 月．
18. 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝、重藤えり子、児玉朱実、安斎栄子：肺疾患患者より分離された *Mycobacterium triplex* の細菌学的検討．第 83 回日本結核病学会総会，東京，2008 年 4 月．
19. 斎藤 肇、岩本朋忠、中永和枝、秋山也寸史、原田敬之、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 83 回日本結核病学会総会，東京，2008 年 4 月．
20. 中永和枝、斎藤 肇、岩本朋忠、吉田志緒美、今田英明、飯沼由嗣、清島真理子、鈴木幸一、谷川和也、石井則久：*Mycobacterium shinshuense* と *M. ulcerans* の異同性に関する分子生物学的検討（2）．第 78 回実験結核研究会，　東京，　2008 年 4 月．
21. 斎藤 肇、中永和枝、石井則久、若林麻記子、藤本徳毅、田中俊宏：同定不能な遅発育暗発色性抗酸菌による全身紅斑性皮膚疾患－主としてその細菌学的方面について．　第 40 回非結核性抗酸菌症研究協議会，東京，　2008 年　4 月．
22. 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：2007 年のハンセン病新規患者発生状況．第 81 回日本ハンセン病学会総会，熊本，2008 年 5 月．
23. 松岡正典、Thomas Gillis、Teky Budiawan、Indropo Agusni、向井　徹、儀同政一、和泉眞藏：生活用水

中のらい菌の感染源としての意義. 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.

24. 向井　徹、和泉眞藏、Teky Budiawan、宮本友司、Cita Rosita、Indropo Agusni、松岡正典、牧野正彦：常温輸送臨床検体の LAMP 法によるらい菌遺伝子検出. 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.
25. 儀同政一、松岡正典：Rifabutin と doxycycline の抗らい菌活性. 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.
26. 赤間　剛、鈴木幸一、谷川和也、川島　晃、Huhehasi Wu、中田　登、松岡正典、儀同政一、石井則久：らい菌ゲノム全域のタイリングアレイによる発現解析と臨床応用. 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.
27. 森　修一、San Shwe、石田　裕、石井則久：ハンセン病回復者への偏見・差別の是正と社会復帰に関する研究. 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.
28. 金澤伸雄、三木田直哉、中谷友美、尾崎元昭、小坂眞紀、石井則久、西村泰行、古川福実：細菌センサー分子 TLR2・DC-SIGN・NOD2 の遺伝子多型のハンセン病発症への関与. 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.
29. 谷川和也、鈴木幸一、赤間　剛、川島 晃、Huhehasi Wu、高橋伸一郎、生山祥一郎、石井則久: ハンセン病における細胞内脂質蓄積機構について～らい菌感染マクロファージにおける ADRP、perilipin の発現誘導～. 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.
30. 坂井哲雄、野間口博子、鈴木幸一、脇坂　晟、藤岡保範、神谷　茂、松尾英一: らい菌人工培養のための研究現況報告. 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.
31. 鈴木幸一: らい菌ゲノム由来 RNA 発現の網羅的解析とその意味するもの(学会賞受賞講演). 第 81 回日本ハンセン病学会総会, 熊本, 2008 年 5 月.
32. 赤間 剛、川島 晃、Huhehasi Wu、谷川和也、鈴木幸一: TSH によって変動し甲状腺内分泌機能を調節する miRNA の同定. 第 81 回日本内分泌学会総会, 青森, 2008 年 5 月.
33. Huhehasi Wu、赤間 剛、相沢清香、川島 晃、谷川和也、吉田明雄、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産物のクローニング　-甲状腺自己免疫と糸球体腎炎とのリンク-. 第 81 回日本内分泌学会総会, 青森, 2008 年 5 月.
34. 川島 晃、赤間 剛、谷川和也、Huhehasi Wu、鈴木幸一: 甲状腺細胞傷害による自然免疫能と獲得免疫能の活性化　-自己免疫発症誘因として-. 第 81 回日本内分泌学会総会, 青森, 2008 年 5 月.
35. 小檜山康司、武下文彦、石井 健、鈴木幸一、奥田研爾: IPS-1 変異体による新規自然免疫活性化メカニズムの解析および免疫調節薬への応用. 第 19 回日本生体防御学会学術総会シンポジウム, 札幌, 2008 年 7 月.
36. 松岡正典：らい菌の遺伝子型別とハンセン病の感染様式解析への応用. 第７５回日本細菌学会北海道支部総会特別講演, 札幌, 2008 年 9 月.
37. 鈴木幸一: 甲状腺濾胞機能と濾胞上皮細胞増殖制御の新しい展開. 第 21 回日本内分泌病理学会シンポジウム, 大宮, 2008 年 9 月.
38. 赤間 剛、三島眞代、谷川和也、川島 晃、Huhehasi Wu、石井 健、武下文彦、石井則久、鈴木幸一: 甲状腺濾胞上皮細胞増殖に２本鎖 DNA 断片が与える影響の解析. 第 21 回日本内分泌病理学会, 大宮, 2008 年 9 月.
39. 林もゆる、野口義彦、赤間 剛、Huhehasi Wu、川島 晃、谷川和也、石井則久、鈴木幸一: 甲状腺細胞増殖に対する thyroglobulin の作用機序. 第 21 回日本内分泌病理学会, 大宮, 2008 年 9 月.
40. Huhehasi Wu、鈴木さゆり、Donald Sellitti、Sonia Doi、相沢清香、赤間 剛、谷川和也、川島 晃、三島眞代、石井則久、加藤良平、吉田明雄、鈴木幸一: メサンジウム細胞に発現する新規サイログロブリンバリアントのクローニング -糸球体腎炎との関連性-. 第 21 回日本内分泌病理学会, 大宮, 2008 年 9 月.
41. 川島 晃、谷川和也、Huhehasi Wu、赤間 剛、林 もゆる、関村 慎、石井則久、武下文彦、鈴木幸一: 細胞傷害によって甲状腺の自然免疫および獲得免疫反応が活性化する。第 21 回日本内分泌病理学会. 第 21 回日本内分泌病理学会, 大宮, 2008 年 9 月.
42. 谷川和也、川島 晃、Huhahesi Wu、三島眞代、赤間剛、武下文彦、石井 健、石井則久、鈴木幸一: 甲状腺自己免疫発症誘因と自然免疫の関与. 第 21 回日本内分泌病理学会, 大宮, 2008 年 9 月.
43. 加藤良平、鈴木幸一、中村暢樹、近藤哲夫、中沢匡男、川崎朋範: 甲状腺転写因子 (Thyroid transcription factor-1: TTF-1)。第 49 回日本組織細胞化学会総会(シンポジウムⅠ 組織細胞化学に於ける転写解析), 長崎, 2008 年 10 月.

44. 谷川和也、赤間 剛、川島 晃、Huhehasi Wu、林 もゆる、関村 慎、Pham Dang Bang、三島眞代、石井則久、生山祥一郎、武下文彦、鈴木幸一: らい菌感染マクロファージに発現が変動する様々な分子群. 第 49 回日本組織細胞化学会総会, 長崎, 2008 年 10 月.
45. 斎藤 肇、中永和枝、石井則久、若林麻記子、藤本徳毅、田中俊宏：未だ記載をみない遅発育性暗発色抗酸菌による紅皮症の 1 例－主としてその細菌学について. 第 39 回結核･非定型抗酸菌症治療研究会, 東京, 2008 年 11 月.
46. Huhehasi Wu、鈴木さゆり、Donald F. Sellitti、Sonia Q. Doi、相沢清香、赤間 剛、谷川和也、川島 晃、三島眞代、石井則久、加藤良平、吉田明雄、鈴木幸一: 新規サイログロブリンバリアントのクローニングによる糸球体腎炎発症要因の考察. 第 51 回甲状腺学会, 宇都宮, 2008 年 11 月.
47. 林 もゆる、野口義彦、赤間 剛、Huhehasi Wu、川島 晃、谷川和也、関村 慎、石井則久、鈴木幸一: サイログロブリンによる甲状腺細胞増殖誘導分子機構の解析. 第 51 回甲状腺学会, 宇都宮, 2008 年 11 月.
48. 川島 晃、谷川和也、Huhehasi Wu、赤間 剛、林 もゆる、関村 慎、石井則久、武下文彦、鈴木幸一: 甲状腺細胞の傷害によって活性化する自然免疫および獲得免疫反応. 第 51 回甲状腺学会, 宇都宮, 2008 年 11 月.
49. 吉田明雄、谷口晋一、松澤和彦、大倉 毅、重政千秋、上条桂一、鈴木幸一: 新しい自己免疫性甲状腺疾患病態マーカー：抗 Pendrin 抗体. 第 51 回甲状腺学会, 宇都宮, 2008 年 11 月.
50. 鈴木幸一: 病理学で人を考える. 帝京科学大学医療科学部理学療法学科(公開講演会), 上野原, 2008 年 12 月.
51. 斎藤 肇、中永和枝、石井則久：紅皮症患者から分離された同定不能の暗発色性遅発育抗酸菌. 第 78 回日本感染症学会西日本地方会総会, 広島, 2008 年 12 月.
52. 川島 晃、谷川和也、Huhehasi Wu、赤間 剛、林 もゆる、石藤雄子、石井則久、武下文彦、平野 久、鈴木幸一: 甲状腺細胞傷害による内因性アジュバンド放出が自己抗原提示の誘因となる可能性. 第 25 回甲状腺病態生理研究会, 東京, 2009 年 1 月.
53. 山崎和子、山田恵美子、山田 哲、鈴木幸一、高野加寿恵, 佐藤幹二: 無機ヨードがヒト甲状腺濾胞細胞の免疫に関連した遺伝子発現に及ぼす効果：Chemokine およびその受容体についての検討. 第 25 回甲状腺病態生理研究会, 東京, 2009 年 1 月.
54. 生長奈緒子、山本瑞穂、白井 明、朝比奈昭彦、三富弘之、中永和枝、石井則久：非結核性抗酸菌症と考えられた 2 例. 日本皮膚科学会第 823 回東京地方会, 横浜, 2009 年 1 月.
55. 石井則久：輸入感染症と皮膚科医. 教育講演. 日本皮膚科学会第 72 回東京支部総会, 東京, 2009 年 2 月.
56. 斎藤 肇、中永和枝、石井則久、若林麻記子、藤本徳毅、田中俊宏：全身性紅皮症患者の皮膚組織から分離された未だ記載をみない暗発色性遅発育抗酸菌. 第 59 回日本結核病学会中国四国支部学会, 高松, 2009 年 2 月.
57. 赤間 剛、鈴木幸一、谷川和也、川島 晃、Huhehasi Wu、林 もゆる、石藤雄子、石井則久: タイリングアレイによるらい菌ゲノム全域の網羅的発現解析. 第 3 回日本ゲノム微生物学会年会, 東京, 2009 年 3 月.